

**ЛОБАНОВА НАТАЛЬЯ ВИКТОРОВНА**

**МИКРОПАРАЗИТОЦЕНОЗЫ ПРИ АССОЦИАТИВНЫХ  
ИНФЕКЦИОННЫХ БОЛЕЗНЯХ ТЕЛЯТ**

16.00.03. - ветеринарная микробиология, вирусология,  
эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата ветеринарных наук



**ОМСК 2004**

Работа выполнена на кафедре эпизоотологии и инфекционных болезней животных института ветеринарной медицины Федерального государственного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Омский государственный аграрный университет».

**Научный руководитель:** доктор ветеринарных наук,  
профессор Красиков Александр Пантелеевич

**Официальные оппоненты:** доктор ветеринарных наук,  
профессор Новицкий Алексей Алексеевич  
доктор ветеринарных наук,  
профессор Шкиль Николай Алексеевич

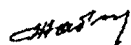
**Ведущее учреждение:** ФГОУ ВПО Казанская государственная  
академия ветеринарной медицины  
им. Н.Э. Баумана

Защита диссертации состоится 23 ноября 2004г в 12<sup>30</sup> часов на заседании диссертационного совета Д 220.050.03 при ФГОУ ВПО «Омский государственный аграрный университет» (644122, г. Омск-122, ул. Октябрьская, 92, тел/факс 24-15-35; 25-05-49).

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке института ветеринарной медицины ОмГАУ.

Автореферат разослан 23 октября 2004 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,  
доцент

 Н. П. Жабин

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

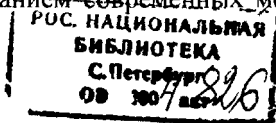
*Актуальность темы.* На современном этапе развития агропромышленного комплекса перед работниками ветеринарной службы ставятся ответственные задачи - а именно профилактика и борьба с болезнями инфекционной этиологии и тем самым обеспечение выпуска высококачественной продукции, безопасной в санитарном отношении. Среди множества инфекционных болезней, которыми поражаются сельскохозяйственные животные, особое место занимают болезни молодняка, многие из которых до настоящего времени изучены недостаточно (G.H.Woode, 1982; D.R. Snodgrass et al., 1984; Н.Н. Крюков с соавт., 1984).

Большую опасность для животноводства представляют так называемые ассоциативные или смешанные инфекции, которые в настоящее время составляют большую часть среди болезней инфекционной природы. Смешанные инфекции — явление постоянное и установление другого заболевания следует рассматривать как естественную ассоциацию с предшествующим паразитоносительством с учетом возможного его обострения (Д.И. Панасюк, 1984; И.Д. Колесниченко и В.П. Иванов, 1987, А.П. Маркевич и В.М. Апатенко, 1995; В.Ф. Никитин, 1997).

Факт обилия паразитирующих форм показывает высокую степень вероятности сочетания нескольких паразитов в одном макроорганизме. Эта вероятность возрастает в свете новых данных о доступности макроорганизма для проникновения различных микробов, которые попав в организм не всегда обуславливают возникновение заболевания, но они могут включаться в состав паразитоценоза. (Смирнов В.В., 1994, Апатенко В.М., 1997).

В некоторых хозяйствах Омской области в последние годы гибнет до 60 - 70% молодняка крупного рогатого скота. При этом, по данным научных сотрудников ИВМ ОмГАУ и ВНИИБТЖ, основными ассоциантами являются микоплазмы, хламидии, пастереллы, клостридии, грибы, условно-патогенные энтеробактерии, вирусы инфекционного ринотрахеита, парагриппа-3, парво- и коронавирусы и, возможно, другие, пока не диагностируемые микроорганизмы (Красиков А.П. с соавт., 1998, Петрова М.И. с соавт., 2000).

Исследования микропаразитоценозов при ассоциативных инфекциях должны носить комплексный, всесторонний анализирующе-объясняющий характер с использованием современных методик со-



ответствующих профилей, так как поверхностные исследования, фиксирующие лишь отклонения в клиническом и патоморфологическом проявлении, не дают полной информации о заболевании (В.М. Апатенко, 1985).

Разработка новых методов диагностики, профилактики и борьбы с ассоциативными инфекциями сельскохозяйственных животных и зооантропонозными болезнями будет способствовать повышению сохранности поголовья скота, получению дополнительной продукции животного происхождения, а также позволит снизить риск заболеваемости среди людей.

*Цель и задачи исследований:* изучить микропаразитоценозы при ассоциативных инфекционных болезнях телят.

Для реализации поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

- Определить роль патогенных и условно-патогенных микроорганизмов и их ассоциаций при спонтанных инфекционных болезнях у молодняка КРС в хозяйствах Омской области.
- Изучить основные биологические свойства, устойчивость к химиотерапевтическим средствам микроорганизмов, выделенных из патологического материала от телят, а также характер их взаимоотношений внутри бактериальной ассоциации.
- Установить возможность использования серологических тестов РПИФ и РНИФ для индикации и идентификации микроорганизмов и их антигенов при ассоциативных инфекционных болезнях телят.

*Научная новизна работы.* Установлено, что в хозяйствах Омской области в структуре инфекционных болезней молодняка основное место принадлежит ассоциативным инфекциям респираторного и желудочно-кишечного тракта.

Изучены микропаразитоценозы у спонтанно инфицированных телят. В экспериментальных условиях *in vitro* и *in vivo* выявлен синергистический и антагонистический характер взаимоотношений между некоторыми сочленами ассоциаций микроорганизмов, участвующих в инфекционном процессе.

Предложены антигены и антитела для экспресс-метода диагностики ассоциативных инфекционных болезней с помощью прямого и непрямого методов РИФ.

*Теоретическая и практическая значимость работы.* Материалы диссертации дополняют концепцию об искусственной регуля-

ции паразито-хозяйинных отношений, а также вносят определенный вклад в развитие науки паразитологии об ассоциативных инфекционных процессах. Результаты исследований являются основой для дальнейшего детального изучения микропаразитоценозов отдельных биотопов (систем пищеварения, дыхания, урогенитального тракта и т.д.).

Применение разработанных методов диагностики позволит ветеринарным специалистам иметь развернутый диагноз и разрабатывать меры борьбы с учетом всех эпизоотически значимых сочленов ассоциации, участвующих в инфекционном процессе.

*Апробация работы.* Материалы исследований доложены и обсуждены на научных конференциях профессорско-преподавательского состава и аспирантов ИВМ ОмГАУ 1998 - 2001гг. (Омск), «Актуальные проблемы инфекционных, паразитарных и незаразных болезней домашних животных и меры борьбы с ними» (Омск, 1998г), учредительной конференции международной ассоциации паразитологов (Витебск, 1999г), Межрегиональной научно-практической конференции «Роль инноваций в развитии регионов» в рамках промышленно-инновационного форума «ПромТЕХЭКСПО-99» «Диагностика, лечение и профилактика болезней животных» (Омск, 1999г), «Вклад ученых и специалистов в развитие животноводства и ветеринарии» (Омск, 2001г.); межрегиональной научно-практической конференции «Эпизоотология, патология и ветеринарно-санитарные мероприятия при инфекционных болезнях животных» (Омск, 2004г, СО РАСХН - ВНИИБТЖ).

*Внедрение результатов исследований.* Результаты научных исследований использованы при подготовке методических рекомендаций: «Диагностика микропаразитоценозов при ассоциативных инфекционных болезнях телят» (утверждены Ученым Советом ИВМ ОмГАУ, протокол № 1 от 29.09.2004г и секцией животноводства Центра научного обеспечения АПК Министерства сельского хозяйства и продовольствия Омской области от 8.10.2004г, протокол № 5).

Материалы диссертации используются в учебном процессе кафедр эпизоотологии и микробиологии, вирусологии и иммунологии Института ветеринарной медицины и Института повышения квалификации руководителей и специалистов АПК ОмГАУ, а также в курсе лекций Тюменского института переподготовки кадров агробизнеса.

### ***Основные положения, выносимые на защиту:***

1. Роль патогенных и условно-патогенных микроорганизмов и их различных сочетаний в этиологии и распространении ассоциативных инфекционных болезней у телят в хозяйствах Омской области.

2. Основные биологические свойства, устойчивость к химиотерапевтическим препаратам, характер взаимоотношений внутри бактериальных ассоциаций, выделенных от больных телят.

3. Применение предложенных антигенов и антител для серологических экспресс-методов (РПИФ и РНИФ) диагностики для индикации и идентификации микроорганизмов и их антигенов при ассоциативных инфекционных болезнях телят.

***Публикации.*** По теме диссертации опубликовано 6 статей и методические рекомендации «Диагностика микропаразитоценозов при ассоциативных инфекционных болезнях телят».

***Объем и структура работы.*** Диссертация изложена на 143 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов собственных исследований, выводов, практических предложений, списка литературы. Работа иллюстрирована 15 таблицами, 16 рисунками. Список литературы включает в себя 143 источника, из них 32 зарубежных авторов.

## **СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ**

### ***Материалы и методы***

Тема диссертационной работы является самостоятельным разделом комплексной государственной программы «Профилактика (диагностика) и меры борьбы с ассоциативными инфекционными и инвазионными болезнями животных и птиц» (№ государственной регистрации 01.2.001100602).

Объектом исследований являлись телята с клиническими признаками поражения респираторного и желудочно-кишечного тракта из различных хозяйств Омской области, неблагополучных по инфекционным болезням молодняка.

Из общих методов исследования использовали осмотр, пальпацию, термометрию, подсчет пульса и количества дыхательных движений.

Для посмертных исследований использовали патологический материал, полученный от павших и вынужденно убитых животных. Отбор патологического материала проводили согласно общепринятым методикам.

В лабораторных опытах использовали морских свинок, кроликов и культуры микроорганизмов, выделенные из патологического материала.

Изучение морфологических, тинкториальных, культуральных и биохимических свойств выделенных микроорганизмов осуществляли согласно общепринятым в бактериологической практике методикам. Микроскопирование проводили при помощи светового микроскопа «Ломо» (х 900).

Серологическую типизацию микроорганизмов проводили агглютинирующими люминесцентными сальмонеллезными сыворотками (типов А, В, D) в реакции прямой иммунофлуоресценции (РПИФ) и эшерихиозными монорецепторными сыворотками энтеротоксигенных *E. coli* (К-88, К-99, А-20, F-41, 987Р) в реакции непрямой иммунофлуоресценции (РНИФ).

Чувствительность выделенных культур микроорганизмов к химиотерапевтическим средствам изучали дискодиффузионным методом.

Вирулентные свойства выделенных культур, а также характер взаимоотношений микроорганизмов в ассоциации определяли в двух опытах на морских свинках, которым внутрибрюшинно вводили по 2 мл взвеси суточной культуры микроорганизмов в концентрации  $1,0 \times 10^9$  м.т./мл и  $2,0 \times 10^9$  м.т./мл. Животным контрольной (интактной) группы вводили по 2 мл физиологического раствора. Для проведения опытов сформировали 32 группы животных по три головы в каждой. Наблюдение проводили в течение 30 дней. Животных, оставшихся в живых, по истечении срока наблюдения девитализировали с помощью эфира.

Изучение межвидовых взаимосвязей у выделенных микроорганизмов осуществляли на плотной питательной среде методом перпендикулярных штрихов и методом внесения на газонную культуру микроорганизмов культуры предполагаемых антагонистов. В случае если среди испытуемых микроорганизмов имеется штамм-антагонист, то на границе между посевами должен отсутствовать рост микробов. Зона задержки роста может быть различной, но при выра-

женном антагонистическом действии она может достигать величины 20 мм.

Для прижизненной диагностики ассоциативных инфекционных болезней органов дыхания и пищеварения от больных телят брали пробы биоматериала из бронхов и легких методом бронхоальвеолярного лаважа и соскобы со слизистой прямой кишки для исследования в РИФ.

Пробы патологического материала, обработанные антикриолической люминесцентной сывороткой, просматривали под люминесцентным микроскопом ЛЮМ Р-8 при увеличении в 900 раз.

Изучение возможности использования РИФ для диагностики ассоциативных инфекционных болезней телят проводили с помощью стандартных диагностических агглютинирующих антигенов и сывороток и сывороток, полученных нами после гипериммунизации кроликов.

Статистическую обработку полученных данных проводили на ПК с помощью программы Microsoft Excel 97.

Отдельные исследования выполнены совместно с доцентом кафедры патологической анатомии животных ИВМ ОмГАУ Гичевым Ю.М. и на кафедре микробиологии и вирусологии ИВМ ОмГАУ (зав. каф., д.в.н., проф. Плешакова В.И.).

## ***РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ***

### **Значение микроорганизмов и их ассоциаций в этиологии ассоциативных инфекционных болезней телят**

Для изучения распространения ассоциативных инфекций среди молодняка крупного рогатого скота в Омской области провели оценку эпизоотической ситуации по инфекционным болезням в хозяйствах, в которых падеж молодняка по данным отчетности Главного управления ветеринарии Омской области составил более 50% от падежа крупного рогатого скота. Наибольшим этот показатель был в ЗАО «Звонаревкутское» Азовского района - 95,2%, ЗАО «Новоазовское» Азовского района - 84,2%, ФГПУ племучхозе «Камышовский» Любинского района - 88,3%, СПК «Восход» Горьковского района - 86,1%.

В отдельных хозяйствах области в 2000-2002гг. падеж молодняка



ка составил 100% от всего количества павшего крупного рогатого скота. При этом в хозяйствах Азовского района этот показатель оставался на данном уровне в течение ряда лет, а за период 2000-2003 гг. в среднем он составил 98,4%. В ЗАО «Новоазовское» и ЗАО «Звонаревкутское» одноименного района падеж молодняка достигал 89,7% от количества павшего скота.

С целью определения микробного пейзажа было исследовано 467 проб биоматериала от павших и вынужденно убитых, а также от больных респираторными и желудочно-кишечными инфекциями телят в возрасте от двух дней до семи месяцев.

В результате проведенного бактериологического исследования патологического материала от телят микроорганизмы были выделены в виде ассоциаций в 3,1 раза чаще, чем в монокультурах (табл. 1).

**Таблица 1**

**Частота выделения микроорганизмов от телят в хозяйствах Омской области**

	ХОЗЯЙСТВО	Выделено культур микроорганизмов	
		В монокультурах	В виде ассоциаций
1	АО «Береговое»	16	83
2	АО «Великорусское»	19	102
3	АО «Заря»	18	30
4	АОЗТ «Цветочное»	35	69
5	ЗАО «Любимовское»	15	29
6	ЗАО «Новоазовское»	16	69
7	«Им. Розы Люксембург»	10	49
8	к/х «им. Карла Маркса»	6	33
9	ТОО «Паутовское»	13	42
10	УОХ «Камышловское»	23	93
	всего	171	599

При ассоциативных инфекционных болезнях телят наиболее часто выделяли *E. coli* - 56 монокультур и 156 культур в ассоциации (12% и 33,4% соответственно). Наибольшую разницу между выделением в монокультуре и в виде ассоциаций регистрировали у микроорганизмов родов *Proteus* - 17 (3,7%) в монокультуре и 102 (21,9%) в ассоциации и у *Citrobacter* семь (1,5%) и 81 (17,3%) соответственно. Другие микроорганизмы также чаще выделяли в виде ассоциаций, за

исключением представителей рода *Pasteurella* — в монокультурах их выделили семь (1,5%), а в виде ассоциаций - пять (1%) культур (табл. 2).

**Таблица 2**

**Количественное соотношение культур микроорганизмов, выделенных при смешанных инфекциях телят**

микроорганизмы	В монокультуре		В ассоциациях	
	количество	%	количество	%
<i>E. coli</i>	56	12	156	33,4
<i>Salmonella sp.</i>	46	9,9	118	25,3
<i>Streptococcus sp.</i>	20	4,3	44	9,4
<i>Proteus sp.</i>	17	3,7	102	21,9
<i>Klebsiella sp.</i>	12	2,6	42	9
<i>Staphylococcus sp.</i>	8	1,7	33	7,0
<i>Citrobacter sp.</i>	7	1,5	81	17,3
<i>Pasteurella sp.</i>	7	1,5	5	1
<i>Enterobacter sp.</i>	6	1,3	27	5,8
<i>Pseudomonas sp.</i>	<b>3</b>	0,6	8	1,7

Наиболее часто от телят изолировали ассоциацию *E. coli*+*Salmonella*+*Proteus* - 30 (6,7%) случаев от всех выделенных ассоциаций микроорганизмов.

В 23 (5,3%) случаев выделяли ассоциацию *E. coli*+*Salmonella*. Из монокультур чаще других изолировали *E. coli* - 56 (12,8%) случаев индикации.

Проведенные исследования показали, что состав бактериальных ассоциаций, выделенных из респираторного и желудочно-кишечного трактов идентичен, но из желудочно-кишечного тракта чаще изолировали ассоциации энтеробактерий, а из респираторного - ассоциации, состоящие из кокков, пастерелл и синегнойной палочки.

***Устойчивость выделенных культур микроорганизмов к химиотерапевтическим препаратам***

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что практически все выделенные культуры микроорганизмов чувствительны к спектаму и цефалперазону. Большинство энтеробактерий

были высокочувствительны к левотетрасульфину и левомицетину. В то же время представители родов *Salmonella*, *Klebsiella* и *Proteus* в 40-60% случаев были устойчивы к действию этих препаратов.

Стрептококки и стафилококки в 90% случаев имели высокую чувствительность к гентамицину, офлоксацину, левотетрасульфину и спектаму, а к мономицину и линкомицину проявили резистентность.

Пастереллы проявили чувствительность к ветофлоку, спектаму и цефазолину и в 30 - 60% случаев к остальным антибактериальным веществам.

Псевдомоны обладали устойчивостью к стрептомицину, эритромицину, мономицину, левомицетину, гентамицину, канамицину и чувствительностью к ветофлоку, левотетрасульфину, спектаму, цефазолину и цефаперазону.

#### *Изучение межвидового взаимодействия выделенных микроорганизмов в опытах in vitro*

Для выяснения типа взаимоотношений между микроорганизмами в условиях ассоциаций провели ряд опытов на плотных питательных средах.

В качестве испытуемых использовали культуры, наиболее часто выделяемые из патологического материала в виде ассоциаций.

На чашке Петри в центр газонной культуры *E. coli* нанесли одну каплю взвеси культуры *S. dublin*. Через 24 часа культивирования по поверхности среды наблюдали сплошной рост микроорганизмов, в центре чашки обнаружился рост второй культуры. Зона просветления на границе посевов отсутствовала. Аналогичные результаты получены при культивировании *E. coli* совместно с *P. aeruginosa*, *E. coli* и *K. pneumoniae*.

При культивировании культуры *Proteus mirabilis* на газонной культуре *S. dublin* через 24 часа инкубирования отметили сплошной, роящийся рост протей по поверхности среды. При бактериологическом исследовании выросших культур в посевах преобладала культура *Proteus mirabilis*.

Исходя из того, что в опыте с газонными культурами явного антагонизма между микроорганизмами не выявили, провели опыт с применением метода перпендикулярных штрихов. По диаметру чашки Петри нанесли культуру *E. coli*, перпендикулярно к ней культуры

*S. dublin*, *P. aeruginosa* и *K. pneumoniae*. Результаты исследования показали, что микроорганизмы не оказывали влияния на ростовые качества друг друга, выраженного антагонистического действия не наблюдали.

*Изучение патогенности некоторых возбудителей инфекционных болезней и их ассоциаций, выделенных из патологического материала от телят*

Для изучения патогенности выделенных культур и выяснения характера поведения микроорганизмов в ассоциации провели два опыта по моделированию моно- и ассоциативной инфекционной болезни на морских свинках.

В первом опыте животных заразили монокультурами выделенных микроорганизмов. В ходе опыта установили, что все выделенные культуры обладали патогенностью для морских свинок. Культуры *E. coli*, *S. dublin*, *K. pneumoniae* в концентрации 2 млрд.м.т/мл вызвали 100% летальность подопытных животных, а культуры *Staphylococcus aureus*, *Proteus mirabilis* и *Streptococcus pneumoniae*- у 66,7% животных.

Во втором опыте морских свинок заразили различными ассоциациями микроорганизмов. Животным первой группы внутривенно ввели смесь культур *E. coli* (К-88) и *S. dublin* в концентрации 2,0 млрд.м.т/мл, второй группы - эту же смесь культур в концентрации 1,0 млрд.м.т./мл. В обеих группах зарегистрировали гибель 100% животных в течение трех суток.

Животных третьей и четвертой групп заразили взвесью культур *E. coli* и *P. mirabilis* в концентрации 1 млрд.м.т./мл и 2 млрд.м.т/мл соответственно. В третьей группе погибло 66,7%, а в четвертой 100% подопытных животных.

Заражение морских свинок смесью *E. coli*, *S. dublin* и *P. mirabilis* в концентрациях 1 млрд.м.т/мл и 2млрд.м.т./мл вызвало 100% гибель животных в течение четырех суток.

Животные, зараженные взвесью культур *K. pneumoniae* и *P. mirabilis* в концентрации 2,0 млрд.м.т/мл, погибли через восемь дней после заражения, а в концентрации 1,0 млрд.м.т./мл - в течение 14 дней после заражения. В группе морских свинок, зараженных смесью культур *S. pneumoniae* и *S. aureus* в концентрации 2,0 млрд. м.т./мл на шестой день после заражения погибло одно животное и два - в тече-

ние 10 суток. При заражении животных смесью вышеназванных культур в концентрации 1,0 млрд.м.т./мл гибель животных не регистрировали.

Морские свинки, зараженные взвесью культур *S. pneumoniae*, *S. aureus* и *P. aeruginosa* в концентрации 2,0 млрд.м.т./мл погибли в течение 13 дней после заражения. Из группы животных, зараженных взвесью данных культур в концентрации 1,0 млрд.м.т./мл, на 10 день после заражения пало одно животное.

При заражении свинок ассоциацией культур *S. pneumoniae*, *E.coli* и *K. pneumoniae* в концентрации 2,0 млрд.м.т./мл и 1,0 млрд.м.т./мл зарегистрировали 100% гибель животных обеих групп.

Заражение морских свинок взвесью культур *P. mirabilis* и *S. dublin* в концентрации 2,0 млрд.м.т./мл вызвало гибель 100% животных на четвертый-шестой день после заражения. При заражении взвесью культур в концентрации 1,0 млрд.м.т./мл на 15 день после заражения погибло одно животное.

Животные, зараженные взвесью культур *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *S. pneumoniae*, *S. aureus*, *P. mirabilis* в концентрации 1,0 млрд.м.т./мл и 2,0 млрд.м.т./мл, погибли в течение трех суток после заражения.

Патологоанатомическая картина при вскрытии павших животных в целом была схожа и характеризовалась мелкими кровоизлияниями в селезенке, почках, под легочной плеврой, на эндокарде, увеличением печени с множественными некротическими участками, острым расширением сердца, увеличением селезенки, кровоизлияниями в кишечнике, подкожной клетчатке и иногда в стенке мочевого пузыря.

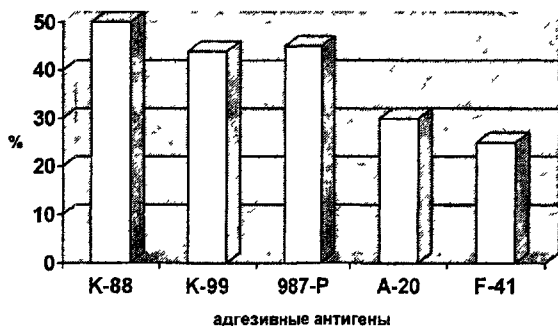
Результаты проведенных опытов свидетельствуют о том, что при заражении лабораторных животных ассоциациями микроорганизмов в концентрации 2 млрд.м.т./мл летальность выше, чем при заражении монокультурами. Однако при заражении животных ассоциацией культур *S. pneumoniae* и *S. aureus* в концентрации 2 млрд.м.т./мл гибель животных не регистрировали, в то время как при заражении культурой *S. pneumoniae* погибло одно животное. Концентрация взвеси микроорганизмов в 2 млрд.м.т./мл вызвала летальность 66,7% лабораторных животных. Такая же летальность определена при заражении монокультурами этих возбудителей.

При заражении лабораторных животных культурой *S. dublin* в концентрации 1 млрд.м.т./мл летальность составила 66,7%, а культу-

рой *P. mirabilis* - 0%, в то время как заражение ассоциацией этих культур вызвало гибель 33,3%-

*Применение серологических экспресс-методов диагностики для индикации и идентификации микроорганизмов при ассоциативных инфекционных болезнях телят*

Из 212 выделенных культур эшерихий, чаще всего изолировали штаммы *E. coli* с адгезивными антигенами К-88, К-99 и 987-Р, реже - с антигеном А-20 и F-41 (рис. 1).



**Рис. 1. Антигенная структура *E. coli*, выделенных из биоматериала от больных и павших телят.**

В большинстве случаев из патологического или нативного материала одновременно изолировали несколько адгезивных антигенов *E. coli*. В 15% случаев культуры *E. coli* выделяли только с адгезивным антигеном F-41, а с антигеном К-88 чаще в сочетании с другими антигенами. Сочетание в пробе биоматериала одновременно пяти адгезивных антигенов К-88+К-99+987Р+F-41+А-20 зарегистрировано в 5% случаев, сочетание двух антигенов - 987Р и А-20 в 25% случаев. Столько же приходится на одновременное сочетание штаммов К-88 и К-99. В 10% случаев отмечено совместное сочетание антигенов К-88+987Р+F-41 и в 5% случаев-К-88+К-99+F-41 (рис.2).

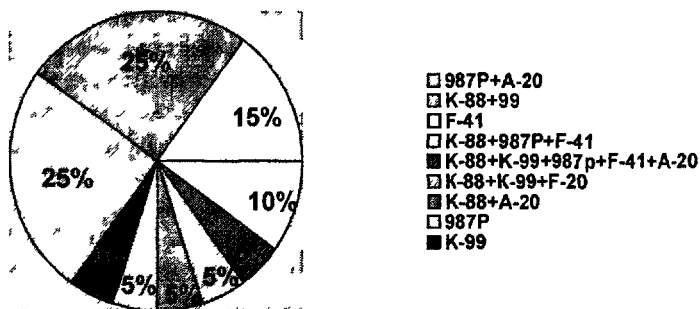


Рис.2 Сочетания адгезивных антигенов *E. coli*, выделенных из биоматериала от телят.

Чаще всего из биологического материала от больных и павших телят изолировали культуры *Salmonella* типа D - 90% случаев от всех выделенных культур. На культуры сальмонелл типа А и типа В пришлось по 5% случаев индикации.

Для изучения возможности применения экспресс-методов диагностики ассоциативных инфекционных болезней телят параллельно с бактериологическими исследованиями проводили РИФ в прямом и непрямом вариантах.

Для постановки РИФ были получены диагностические сыворотки. Для этого провели гипериммунизацию кроликов выделенными от телят культурами микроорганизмов и вакцинами. Кроликов иммунизировали культурами *S pneumoniae* и *S aureus* в различных дозах 4-хкратно с интервалом 3 дня, а также вакциной против «Диплококковой септицемии телят, ягнят и поросят», «Эмульсин - вакциной против хламидиоза КРС из штамма К-8-К» и сухой живой вакциной ВИЭВ против «ИРТ-ПВ». Иммунизацию осуществляли 3-хкратно с интервалом 3 дня, четвертый раз - через 20 дней. С каждым последующим введением дозу антигена постепенно увеличивали.

Через 7-10 дней после последнего введения антигенов осуществляли взятие крови для приготовления агглютинирующих сывороток.

Стрептококковая антисыворотка, полученная путем гипериммунизации кроликов стрептококками, выделенными от павших и больных телят, в титре 1/5 давала перекрестную реакцию со стафилококками и диплококками, а в титрах 1/10, 1/20 и 1/320 была строго специфична к стрептококкам. Наибольшей активностью в РНИФ обладали стафилококковая и стрептококковая сыворотки, которые агглюти-

нировали гомологичные антигены в титре 1:640 и 1:320 соответственно. Диплококковая, хламидиозная и ИРТ-сыворотки обладали достаточной агглютинирующей активностью в разведениях 1:160 и 1:40 соответственно.

Таким образом, можно сделать заключение о том, что антисыворотки, полученные при гипериммунизации кроликов, обладают строгой специфичностью к гомологичным возбудителям в титре 1:10 и выше.

При сравнении бактериологического метода и РИФ в большинстве случаев данные РИФ были коррелятивными с данными бактериологического исследования, а в ряде случаев этот метод оказался даже более чувствительным. Кроме этого, в РИФ получены положительные результаты при диагностике вирусных инфекций. Так, при исследовании 158 проб биоматериала на хламидиоз положительный результат получен в 48 пробах, при исследовании на ИРТ - в 41 пробах, на ПГ-3 в четырех пробах.

## ВЫВОДЫ

1. Инфекционные болезни телят ассоциативной этиологии широко распространены в хозяйствах Омской области. Основными сочленами бактериальных ассоциаций являются *E. coli*, *Salmonella sp.*, *Streptococcus sp.*, *Proteus sp.*, *Klebsiella sp.*, *Staphylococcus sp.*, *Citrobacter sp.*, *Pasteurella sp.*, *Enterobacter sp.*, *Pseudomonas sp.* В ассоциации микроорганизмы выделяли в 3,1 раза чаще, чем в монокультуре. Наиболее часто среди ассоциантов изолировали *E. coli*-33,4%, *Salmonella sp.* - 25,3%, *Proteus sp.* - 21,9% и *Citrobacter sp.* - 17,3%

2. Из 212 выделенных культур *E. coli* преобладали эшерихии с адгезивным антигеном К-88 - 50%, К-99 и 987Р- 45%, на долю А-20 приходилось 30% и на F-41 - 25% микроорганизмов. От двух до пяти адгезивных антигенов *E. coli* выявляли в 5-25% случаев, с антигеном F-41 - в 15% и в 5% - с антигенами 987Р и К-99.

Из 164 выделенных культур рода *Salmonella* 90% возбудителей отнесены к типу D, по 5% отнесены к типам А и В.

3. Все выделенные культуры микроорганизмов обладали патогенностью для лабораторных животных, при этом их вирулентность варьировала от 33,3% до 100% в зависимости от дозы и вида возбудителя.



4. Из химиотерапевтических препаратов наибольшую чувствительность микроорганизмы имели к цефоперазону, спектаму и ветофлоку.

5. Установлено явление синергизма при моделировании ассоциативного инфекционного процесса на морских свинках между *E. coli* и *S. dublin*, выраженное в увеличении летальности на 33,3% в сравнении с моноинфицированием. При заражении морских свинок ассоциацией микроорганизмов *P. mirabilis* и *K. pneumoniae* в концентрации 2 млрд.м.т./мл летальность увеличилась на 100% по сравнению с заражением их монокультурами. Между *S. aureus* и *P. mirabilis* установлено явление антагонизма, которое привело к снижению летальности у подопытных животных на 33,3% по сравнению с моноинфицированием. В то же время в опытах *in vitro* при совместном посеве культур на чашках Петри явного антагонизма не наблюдали.

6. Серологический экспресс-метод диагностики (РПИФ и РНИФ) по простоте и скорости постановки диагноза (15-20 мин в РПИФ и 60 мин для РНИФ на одну пробу), а также возможности прижизненной диагностики и изучения микропаразитоценозов превосходит бактериологический метод, для диагностики вирусных болезней РИФ является одним из перспективных методов.

### ***ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ***

1. Разработаны методические рекомендации «Диагностика микропаразитоценозов при ассоциативных инфекционных болезнях телят», утверждены на заседании секции животноводства Центра научного обеспечения АПК Министерства сельского хозяйства и продовольствия Омской области, протокол №5 от 8.10.2004г.

2. Материалы диссертации могут быть использованы:

- в учебном процессе при чтении лекций и проведении лабораторно-практических занятий по микробиологии, эпизоотологии;
- в научно-исследовательских учреждениях ветеринарной медицины при решении вопросов диагностики, профилактики и лечения инфекционных болезней телят.

*СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ  
ДИССЕРТАЦИИ*

1. Лобанова, Н.В. Паразитоценозы при микст-инфекциях телят / Н.В. Лобанова, А.П. Красиков // Актуальные проблемы инфекционных, паразитарных и незаразных болезней домашних животных и меры борьбы с ними : материалы юбил. науч.-произв. конф. сотр. и аспирантов ИВМ ОмГАУ. - Омск, 1998. - С.205-209.
2. Красиков, А.П. Изучение микробного пейзажа в патологическом материале от павших телят в хозяйствах Омской области с различной эпизоотической ситуацией по инфекционным болезням / А.П. Красиков, Н.В. Лобанова : тез. докл. Учредит, конф. междунар. ассоциации паразитоценологов. - Витебск, 1999. - С. 198.
3. Проблема ассоциативных инфекций телят в хозяйствах Омской области / А.П. Красиков, О.Н. Иванова, Н.В. Лобанова и др.// Диагностика, лечение и профилактика болезней животных : сб. науч. тр. ИВМ ОмГАУ. - Омск, 1999. - С.59-63.
4. Красиков, А.П. Профилактика и меры борьбы с ассоциативными инфекционными и инвазионными болезнями животных / А.П. Красиков, Н.В. Лобанова // сб. реф. НИР и ОКР : отчет о НИР. - Сельское и лесное хозяйство, 2001. - №5. - Серия 25. - С. 59.
5. Лобанова, Н.В. Этиологическая структура инфекционных болезней молодняка в хозяйствах Омской области / Н.В. Лобанова, В.Н. Барановский // Вклад ученых и специалистов в развитие животноводства и ветеринарии : материалы науч. конф. ППС и аспирантов ИВМ ОмГАУ. - Омск, 2001. - С. 57-59
6. Лобанова, Н.В. Моделирование ассоциативных инфекционных процессов / Н.В. Лобанова, В.Э. Малошевич // Эпизоотология, патология и ветеринарно-санитарные мероприятия при инфекционных болезнях животных : сб. науч. тр. ВНИИБТЖ. - Омск, 2004. - С. 155-160

Лицензия Р № 5970 от 12.05.94г.  
Подписано в печать 20 10 2004  
Формат 60x84/16  
Бумага ксероксная  
П.л.- 1,00  
Способ печати - оперативный  
Тираж 100 экз.  
Полиграфический центр «БАВ»  
644118, г. Омск, ул. 5-я Кордная, 24, к.104

№20640