

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

A handwritten signature in black ink, slanted upwards from left to right, reading "Лобанова".

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 12³⁰ 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

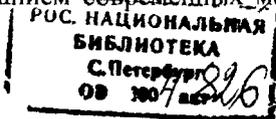
Актуальность темы. На современном этапе развития агропромышленного комплекса перед работниками ветеринарной службы ставятся ответственные задачи - а именно профилактика и борьба с болезнями инфекционной этиологии и тем самым обеспечение выпуска высококачественной продукции, безопасной в санитарном отношении. 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>	3	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.тУмл 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.тУмл, 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.тУмл 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.тУмл, 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).

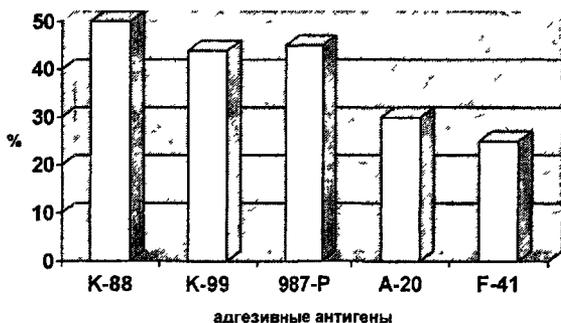


Рис. 1. Антигенная структура *E. coli*, выделенных из биоматериала от больных и павших телят.

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).

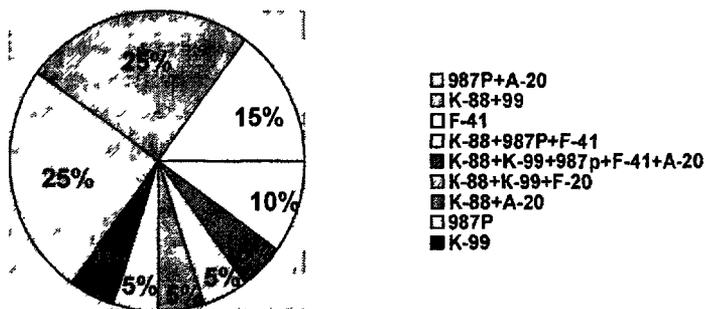


Рис.2 Сочетания адгезивных антигенов *E. coli*, выделенных из биоматериала от телят.

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