

Роль вірусних і бактеріальних патогенів у етіології захворювань респіраторної системи ВРХ

➤ **За матеріалами Х.Хартел, С. Нікунен та Е. Ніувонен**

Кафедра клінічних ветеринарних наук, Національний дослідницький університет ветеринарії та продуктів харчування м. Гельсінкі, Фінляндія

У статті йдеться про вивчення спектру патогенів респіраторної системи ВРХ на 18 приватних господарствах Фінляндії. Відбирали по п'ять телят з кожної ферми, тваринам проводили ретельне клінічне обстеження і трахеобронхіальний лаваж. Від визначених телят відбирали зразки крові і ще від 86 тварин – через 3-4 тижні після обстеження. Додатково відбирали по 6-10 проб крові від тварин різного віку з кожного господарства, загальною кількістю 169 проб. У сироватці крові визначали вміст антитіл, специфічних щодо вірусу парагрипу-3 телят (PIV-3), вірусу респіраторно-синцитіальної хвороби (BRSV), коронавірусу ВРХ (BCV), аденовірусу-3 ВРХ (BAV-3) та аденовірусу-7 (BAV-7). Результати тестування на наявність а/т щодо вірусу інфекційної діареї ВРХ (BVDV) виявилися негативними у 30 % проб. Вміст трахеобронхіальних змивів висівали на живильні середовища з послідовним визначенням чутливості виділених мікробних культур до антибіотиків *in vitro*. Результати серологічних досліджень показали, що PIV-3, BAV-7, BAV-3, BCV і BRSV є широко розповсюдженими у Фінляндії збудниками респіраторної патології ВРХ. У хворих телят відзначено значне зростання титрів а/т, специфічних щодо BAV-7 і BAV-3, *Mycoplasma dispar* і *Pasteurella multocida*. Виділені ізоляти *Pasteurella* sp. виявилися чутливими *in vitro* до більшості тестованих антибіотиків. *Mycoplasma bovis* і *Mannheimia haemolytica* у хворих тварин не виявлено.

Вступ

Захворювання системи органів дихання складають актуальну проблему у більшості країн з розвиненим скотарством. Вони зумовлюють суттєві економічні збитки, створюють проблеми для добробуту тварин та викликають відхід молодняку у скотарських господарствах м'ясного і молочного напрямку [15, 13, 35]. Етіологія захворювань мультифакторна, виникнення власне клінічно вираженого захворювання відбувається внаслідок дії збудника на фоні сприятливих факторів, зокрема, зниження загальної резистентності організму, порушення умов утримання і годівлі та стресів [22, 35]. У Фінляндії та інших скандинавських країнах опубліковано невелику кількість статей, які стосуються респіраторної патології ВРХ [6, 10, 18, 21, 24, 28, 30]. Причиною цьому є специфічна епізоотична ситуація – на території Фінляндії не реєструвалося випадків вірусного інфекційного ринотрахеїту ВРХ, не виділялися *Mycoplasma bovis* та збудник вірусної діареї ВРХ (BVD) [1, 28]. Тож у країні не проводяться вакцинації проти інфекційних захворювань системи органів дихання, профілактичні обробки антибіотиками. Антибіотикотерапію призначають індивідуально у випадку захворювання тварини. В той же час, у Фінляндії відбувається трансформація традиційної системи господарювання – ізольовані дрібні ферми укрупнюються, збільшується кількість поголів'я на молочних комплексах, а отже утримання молодняку стає груповим. За нової системи вирощування телят у віці

1-3 тижнів з декількох молочних стад транспортують у приміщення для вирощування, де їх утримують великими групами. Метою даного дослідження було вивчити спектр збудників, причетних до виникнення респіраторної патології телят у Фінляндії та визначити чутливість до антибіотиків ізольованих від хворих тварин мікроорганізмів.

Матеріали і методи

Відбір проб

Дослідження проводили з листопада 1998 по грудень 1999, при цьому було задіяно вісімнадцять стад корів зі східного, південного та західного регіону Фінляндії. Серед поголів'я всіх комплексів періодично виникали спалахи респіраторних хвороб. На десяти фермах утримували бичків молочних порід, які вирощувалися на м'ясо, а вісім ферм працювали у молочному напрямку. Поголів'я на комплексах, де тварин вирощувалися на м'ясо, складало 48-217 (в середньому 107) тварин, а на молочних комплексах 30-130 (в середньому 72) голів. Для більш детального обстеження відбирали по п'ять хворих телят з кожної ферми, загальним числом 90. Проводили ретельне клінічне обстеження та трахеобронхіальний лаваж. Вік хворих телят коливався від 31 до 221 (в середньому 98) днів, а жива маса складала 40-150 (в середньому 88) кг. У всіх телят при аускультції органів дихання виявлено патологічні легеневі шуми, більшість мали один або декілька наступних симптомів: лихоманку >39,5°C,

тахіпное (> 40'/хв.), кашель або витікання з носа. Одне теля загинуло через 5 днів після обстеження, після чого був проведений розтин. Зразки крові для серологічного аналізу відбирали у всіх телят на початку дослідження і у 86 телят через 3-4 тижні (парні зразки сироватки). Також відібрали 6-10 зразків крові у інших тварин різного віку з метою отримання більш повної інформації щодо серологічної ситуації в стаді. Деякі зразки відбирали у телят віком старше 6 місяців, щоб уникнути впливу колостральних антитіл. Трахеобронхіальний лаваж проводили за стандартною методикою з використанням спеціалізованого обладнання для телят [2]. Катетер вводили у трахею через ніс. В якості рідини для лаважу застосовували 30-40 мл фосфатного буферного соляного розчину (PBS, Dulbecco's phosphate-buffered saline, Gibco TM, Invitrogen Corporation, Paisley, Scotland, UK). Трахеобронхіальна рідина відразу ж відбиралася через катетер і розливалася у пробірки з глюкозо-сироватковим бульйоном (GS) для мікоплазм та транспортним середовищем для ізоляції бактерій (Portagerm multi-transport medium BioMerieux, Lyon, France). Кількість відібраної рідини коливалась від 2 до 20 мл і більше.

Ідентифікація збудників

Зразки трахеобронхіального лаважу від 85 телят з 18 стад висівали на кров'яний агар (триптозо-соевий агар, що містить 5% крові корів), культивуючи зразки у аеробних та анаеробних умовах, а також на селективному агарі для *Histophilus somni* (раніше *Haemophilus somnus*) в атмосфері, насиченій CO₂. Більш специфічну ідентифікацію проводили за допомогою визначення біохімічних властивостей. В ході дослідження визначали чутливість різних ізолятів *Pasteurella* sp. до антибактеріальних препаратів: ампіциліну, пеніциліну, триметоприм-сульфаметоксазолу, гентаміцину, тетрацикліну та енрофлоксацину і ципрофлоксацину.

Мікробіологічні дослідження проводили відповідно до стандартної процедури Національного дослідницького університету ветеринарії та продуктів харчування в Гельсінкі. Зразки матеріалів, що містили мікоплазми, до висіву витримували в замороженому вигляді при температурі -70°C. Застосовували стандартні методи висіву, культивування та ідентифікації [27]. Ідентифікація видів здійснювалася за характеристиками росту та селективному застосуванні реакції імунофлуоресценції (PIF); застосовували тільки імунні сироватки проти *Mycoplasma dispar* 462/2, *Mycoplasma bovirhinis* PG 43 та *M. bovis* Donetta PG 45.

Визначення антитіл, специфічних щодо збудників вірусних інфекцій

Дослідили 345 зразків сироватки від 259 різних тварин. 90 зразків були відібрані від хворих телят, 86 зразків – це парні зразки сироватки від тих же тварин, а 169 проб були взяті від інших телят того ж стада. З кожної ферми 7 - 8 зразків були від телят, а 5-8 зразків – від

тварин віком старше 6 місяців. Зразки сироватки заморожили при температурі -20°C. Сироватки досліджували на наявність антитіл проти вірусу парагрипу-3 телят (PIV-3), вірусу респіраторно-синцитіальної хвороби (BRSV), коронавірусу BPX (BCV), аденовірусу-3 BPX (BAV-3) та аденовірусу-7 BPX(BAV-7). Окрім цього, 123 зразки від 94 тварин перевірили на наявність антитіл проти вірусу інфекційної діареї BPX (BVDV). Для виявлення антитіл, специфічних щодо PIV-3, BRSV, BCV та BVDV застосовували метод ІФА (ELISA). Тест вірус-нейтралізації застосовували для BAV-3 та BAV-7. Тестові набори ELISA (SVANOVA Biotech, Uppsala, Sweden) застосовували згідно з інструкціями виробника. Якщо титри антитіл підвищувалися в чотири рази в тесті вірус-нейтралізації або аналіз ELISA був серонегативним для першого зразка і серопозитивним для другого зразка, то теля вважалося таким, що має підвищені титри і є нещодавно зараженим відповідним вірусом.

Результати

Результати ретроспективної діагностики наведено в таблиці 1. Антитіла проти PIV-3 та BAV-7 були виявлені у всіх 18 стадах. Антитіла проти BCV та BAV-3 спостерігались у тварин 16 з 18 (89%) та у 15 з 18 (83%) стад відповідно. Антитіла проти BRSV реєструвалися у тварин 12 з 18 стад (67%) та у всіх молочних стадах. Антитіла проти BVDV не були виявлені в жодному з 7 стад. Високі рівні антитіл проти BAV-7 у більше ніж 2 зразках з одного стада спостерігались на 14 фермах (титр нейтралізації перевищував 1:512). У парних зразках сироватки підвищені титри спостерігались у 33 з 86 телят (33%) на 15 фермах. Сероконверсія щодо BAV-7, BAV-3, BCV та PIV-3 була на 10/18, 5/18, 3/18 та 2/18 ферм відповідно. Підвищення титрів для BAV-7 найчастіше спостерігались на фермах м'ясного напрямку (8 стад), а підвищення титрів для BAV-3 переважало на молочних фермах (3 стада). Сероконверсія щодо BRSV не відмічалася на жодній фермі. Зниження титрів антитіл (тест нейтралізації) або зміна від серопозитивного у першому зразку до серонегативного в парних зразках сироватки (тест ELISA) спостерігались у 44 телят (51%) на 15 фермах.

У обстежених 18 стадах та у 93% телят (79/85) були виявлені мікоплазми. *M. dispar* реєструвалася у 17 стадах (94%) в 77 зразках (91%), інші види мікоплазм – в 16 стадах (89%) у 52 зразках (61%). На 15 фермах (83%) та у 50 зразках (59%), *M. dispar* була зареєстрована разом з іншими видами мікоплазм. Всі класичні колонії, перевірені тестом PIF містили *M. bovirhinis*. *M. bovis* не було виявлено.

Ріст інших мікроорганізмів спостерігався в матеріалах з 9 стад (50%) в 18 зразках (21% телят). Найчастіше відмічали *Pasteurella* sp., яка спостерігалася в 14 зразках (78% позитивних зразків) у 8 стадах (44% стада та 17% телят). Ізоляти *Pasteurella* sp. були ідентифіковані як *P. multocida* в 7 випадках та *P. multocida* (індол-негативні) в 6 випадках. Частіше всього *Pas-*

Таблиця 1. Результати визначення антитіл у сироватці крові телят

Показник	Кількість телят (стад)	PIV3	BCV	BRSV	BAV3	BAV7
Кількість позитивних у стаді	18	18	16	12	15	18
Процент позитивних стад	100	100	89	67	83	100
Кількість хворих телят, ¹ перший відбір зразків	90 (18)	66 (18)	35 (15)	8 (6)	46 (13)	65 (17)
		73% ²	38%	9%	51%	72%
Кількість хворих телят, ¹ другий відбір зразків	86 (18)	58 (17)	30 (15)	5 (5)	44 (11)	72 (17)
		67%	35%	6%	51%	84%
Кількість інших тварин ¹	169 (18)	150 (18)	57 (14)	18 (9)	107 (15)	143 (18)
		89%	34%	11%	63%	85%
Підвищення титрів ¹	86 (18)	3 (2)	4 (3)	0 (0)	11 (5)	20 (10)
		3,5%	4,7%	0%	12,8%	23,3%
Зниження титрів ¹	86 (18)	9 (7)	8 (6)	3 (2)	23 (10)	20 (8)
		10,5%	9,3%	3,5%	26,7%	23,3%

¹Кількість стад (вказано в дужках).²Процент телят

teurella sp. виявляли індивідуально, проте, двічі разом з *Fusobacterium necrophorum* та один раз з *Arcanobacterium pyogenes*.

F. necrophorum окремо спостерігалась в 3 зразках з 3 стад, а *A. pyogenes* окремо виявили тільки в одного теляти.

Відзначалися мікст-інфекції: *M. dispar* та *P. multocida* разом виділяли з 13 зразків з 7 стад. Шість з цих 13 телят демонстрували сероконверсію щодо вірусів: чотири щодо BAV-3, один щодо BAV-7 та один щодо BCV та BAV-7 одночасно. При розтині теляти, що загинуло, виявили ознаки хронічної фібринозно-гнійної бронхопневмонії.

H. somni, на відміну від *P. multocida* (індол-негативної), наявність якої відмічали у трахеобронхіальних змивах, частіше виділяли з тканини легень. Всі 14 штамів *Pasteurella sp. in vitro* виявилися чутливими до всіх тестованих антибактеріальних препаратів (ампіциліну, пеніциліну, триметоприм-сульфаметоксазолу, гентаміцину, тетрацикліну, енрофлоксацину або ципрофлоксацину).

Обговорення

Відповідно до результатів серологічних досліджень PIV-3, BAV-7, BAV-3, BCV та навіть BRSV виявилися найбільш розповсюдженими у Фінляндії збудниками респіраторних інфекцій BPX. На території Фінляндії не зустрічається IBR, а BVD – дуже рідко [1]. Обидва віруси в інших випадках вважаються важливими патогенами [35, 8, 20, 19]. Отримані результати підтверджують, що зв'язку між BVDV та респіраторною патологією у Фінляндії немає.

Серотипи аденовірусу BPX поділяються на 2 підгрупи. Типи 1-3 належать до групи А, а типи 4-9 – до групи В [14]. Для дослідження обрали типи 3 і 7. Результати

дослідження співпадають з даними J.H.B. Roy [24], які стверджують, що BAV-1, -2 та -3 поширені серед BPX у південно-західній частині Фінляндії. Спалахи BAV-7 у Фінляндії раніше не досліджувалися. Однак слід відзначити, що сероконверсія щодо BAV-7 була найбільш вираженою, а на другому місці – сероконверсія щодо BAV-3. Багато тварин старшого віку, особливо на фермах м'ясного напрямку, мали високі титри BAV-7, що може свідчити про появу гострої інфекції, викликаній цим вірусом.

Антитіла проти PIV-3 спостерігались на кожній перевіреній фермі, і майже 80% усіх відібраних зразків були позитивні щодо даного збудника. Це відповідає природі вірусу, його широкому розповсюдженню по всьому світі [4, 8]. Однак, PIV-3 не позиціонувався як безпосередній причинний фактор.

BCV лише нещодавно набув актуальності як складова комплексу респіраторних хвороб, зокрема і у Фінляндії [25, 11, 26]. Антитіла проти BRSV відмічаються у 67% стад по всій країні та у всіх стадах молочного напрямку. Однак, BRSV ніколи не спричиняв клінічного захворювання у телят. Можливо, ситуація змінилася після спалаху респіраторних хвороб у Фінляндії весною 2000 року; вважалось, що серед збудників, які призвели до спалаху, були BRSV та BCV [21].

Незважаючи на високі титри антитіл та мікст-інфекції, відносно рідко відмічали сероконверсію щодо збудників у клінічно хворих телят. Ймовірно, це пов'язано з молодим віком телят та присутністю материнських антитіл, які можуть пригнічувати продукцію власних антитіл. Так, за даними Tegtmeir C., Jensen N.P.B. та Blom J.Y., у молодих телят з пневмонією часто зустрічаються

проблеми з сероконверсією відносно агентів, присутніх у дихальних шляхах, через супресію материнськими антитілами [31, 32]. Те, що в процесі досліджень не вдалося виявити сероконверсію, також може бути пов'язано з пропущенням гострої фази хвороби.

Сероконверсія щодо аденовірусів спостерігалася приблизно у половини тварин, в пробах лаважу від яких також відзначається ріст *M. dispar* та *P. multocida*. Можливо існують якісь інші сприятливі фактори, окрім досліджуваних вірусів. Пояснити значення вірусної інфекції в даному випадку було досить проблематично, адже не було можливості використовувати пряме виявлення вірусів у трахеобронхіальних змивах та було сформовано контрольної групи з клінічно здорових телят.

Мікоплазма вважається одним з патогенів, що викликає захворювання системи органів дихання. При цьому перебіг досить м'який, але частіше її виділяють у комплексі з іншим патогеном [34, 12, 33]. Найбільш розповсюдженим серед ізолятів, які вдалося виділити із трахеальних змивів від хворих телят, була *M. dispar*. Переважала комбінація *M. dispar* та *P. multocida*, причому, між цими збудниками спостерігався синергізм [31]. Не виявлено жодного випадку інфекції *M. bovis*, очевидно в цій країні патоген взагалі не зустрічається, на відміну від інших країн Європи, де *M. bovis* набуває все більшого значення [3, 9, 5].

Storz J., Lin X., Purdy C.W. описали значне домінування мікоплазм у назальних та транстрахеальних пробах, а також швидке розповсюдження інфекції в популяції молодих телят [28]. У даному дослідженні інші мікроорганізми були виявлені лише у 21 % трахеобронхіальних зразків.

Інший розповсюджений патоген, який відіграє важливу роль у виникненні захворювань системи органів дихання, особливо у господарства молочного напрямку, – *P. multocida* [31, 16]. При дослідженні біохімічних властивостей ізолятів *Pasteurella* sp. виявлено відмінності від типового *P. multocida*, зокрема, це стосується продукції індоли (ізоляти виявилися негативними). Культури *Pasteurella* були чутливими до всіх антибактеріальних препаратів, які типово застосовуються для лікування телят у Фінляндії.

Невелика кількість виділених мікроорганізмів (окрім мікоплазм) пов'язана з технікою виконання лаважу та відносно незначною кількістю використаної рідини. З іншого боку, ймовірно, що саме в момент дослідження в трахеобронхіальній зоні було мало патогенів.

Виявлення *H. somni* лише під час розтину свідчить про те, що деякі бактерії важко виявити у трахеобронхіальній зоні. Однак, теля могло інфікуватися *H. somni* після лаважу та інфекції *P. multocida*. Tanskanen R. і ін. описали *H. somni* як бактерію, яку часто знаходять при розтині телят з респіраторними патологіями в Данії, тоді як у Фінляндії цей збудник мало поширений [17, 29].

Виділення *A. pyogenes* та *F. necrophorum* без наявності інших бактерій вважалося випадковим або контамінацією.

Висновки

Відповідно до результатів серологічних досліджень BAV-7, PIV-3, BAV-3, BCoV та BRSV є поширеними збудниками захворювань системи органів дихання серед поголів'я ВРХ у Фінляндії. Найчастіше відзначається сероконверсія щодо BAV-7 та BAV-3. Ці результати підтверджують активну роль аденовірусів, зокрема BAV-7, у респіраторних хворобах ВРХ. Антитіла проти BRSV були виявлені в основному у старших тварин без ознак респіраторних хвороб. Найбільш поширеними мікроорганізмами були *P. multocida* та *M. dispar*, що підтверджує їхнє значення в етіології захворювань дихальних шляхів. Стосовно взаємодії цих двох збудників між собою та вірусними патогенами, потрібне більш детальне вивчення. *M. haemolytica* та *M. bovis* не були виявлені, а *H. somni* відзначали лише при розтині в легенях теляти.

Нова система вирощування телят, коли їх утримують великими групами в умовах значної скупченості, може суттєво підвищити ризик появи хвороб дихальних шляхів ВРХ. Тому слід забезпечити проведення глобальних досліджень, які б дозволили отримати більш повну інформацію про захворювання органів дихання та роль різних патогенів.

ВЕТЕРИНАРНІ ПРЕПАРАТИ

від «Київського вітамінного заводу»

Якість без компромісів!
запрошуємо до співпраці!

8(044) 468-68-65, 8(044) 468-31-96

ЗАТ «КИЇВСЬКИЙ ВІТАМІННИЙ ЗАВОД»
www.vitamin.com.ua