

**ОДЕСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

**АКУЛОВА ТЕТЯНА АНАТОЛІВНА**

УДК 619:616.32.579.822.П.636.2

**ХЛАМІДІОЗ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ  
( СЕРОЛОГІЧНИЙ МОНІТОРИНГ, ВИДІЛЕННЯ, ІДЕНТИФІКАЦІЯ І  
ВИВЧЕННЯ БІОЛОГІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ЗБУДНИКА)**

16.00.03 – ветеринарна мікробіологія та вірусологія

**АВТОРЕФЕРАТ**

дисертації на здобуття наукового ступеня  
кандидата ветеринарних наук

Одеса – 2005

Дисертацією є рукопис

Робота виконана на кафедрі мікробіології і вірусології Кримського державного агротехнологічного університету

**Науковий керівник:** доктор ветеринарних наук, професор, заслужений діяч науки і техніки Автономної Республіки Крим Ковальов Василь Львович — завідувач кафедри епізоотології, паразитології та ветсанекспертизи Південного філіалу “Кримський агротехнологічний університет” Національного аграрного університету.

**Офіційні опоненти:** доктор ветеринарних наук  
**Бабкін Анатолій Федорович,**  
інститут експериментальної і клінічної  
ветеринарної медицини УААН,  
завідувач лабораторії вивчення хвороб рогатої  
худоби

доктор ветеринарних наук, професор  
**Івченко Василь Мусійович,**  
Білоцерківський державний аграрний університет,  
завідувач кафедри лабораторної діагностики  
інфекційних захворювань сільськогосподарських  
тварин

**Провідна установа:** Харківська державна зооветеринарна академія,  
кафедра мікробіології, вірусології та імунології, м. Харків.

Захист відбудеться “25” березня 2005р. о 10 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради К 41.372.01 в Одеському державному аграрному університеті за адресою: 65039, м. Одеса, вул. Канатна, 99, ауд. 225.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Одеського державного аграрного університету за адресою: 65039, м. Одеса, вул. Канатна, 99, ауд. 120.

Автореферат розісланий “23” лютого 2005р.

Вчений секретар спеціалізованої вченої  
ради, кандидат ветеринарних наук

\_\_\_\_\_ Масленікова С.І.

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Актуальність теми.** У здійсненні задач по збільшенню чисельності поголів'я великої рогатої худоби, намічених “Програмою розвитку агропромислового комплексу Автономної Республіки Крим до 2010 року”, важлива роль приділяється ветеринарному обслуговуванню тваринництва. При цьому першочерговою задачею є розробка і впровадження нових систем ветеринарно-санітарних і профілактичних заходів, що забезпечують стійке благополуччя з інфекційних хвороб тварин.

Сьогодні серед інфекційних хвороб, що знижують ефективність тваринництва в багатьох регіонах України, зокрема АР Крим, значне місце займає хламідіоз великої рогатої худоби. У залежності від серовару і вірулентності штаму, ендо- і екзогенних факторів, хламідії спричинюють різні форми захворювань або безсимптомне хламідієносієство. У биків хламідії спричинюють уретрит, орхіт, баланопостит, везикуліт, у корів - аборт, народження мертвого чи слабкого потомства, цервіцит, вагініт, ендометрит, безплідність, мастит, у телят - пневмоентерит, гастроентероколіт, поліартрит, бронхопневмонію, кератокон'юнктивіт, енцефаломієліт (McNutt, 1940; Schoop і Kauker, 1956; Storz J., 1971; Митрофанов П.П., 1980; 2001; Гаффаров Х.З., 1969; Ковальов В.Л., 1975; 1976; 1997; 2003; Богданос И.И., 1975; Бортничук В.А., 1979; 1998; Атамась В.А., 1989; Хамадєєв Р.Х., 1990; Хусаїнов Ф.М., 1992; Люткавичене В.Й., 1992; Павленко Н.С., 1996; Лук'янчук В.А., 1995; Яцишин А.И., Бортничук В.А., Павленко Н.С., 1994; Фомченко И.В., 2002; Ушаков В.М., 2002; Морозов М.Г., 2003). Нерідко хламідіоз великої рогатої худоби перебігає в асоціації з збудниками ПГ-3, інфекційного ринотрахеїту, аденовірусною інфекцією, вірусною діареєю, сальмонельозом, пастерельозом, мікоплазмозом, бруцельозом (Атамась В.А., 1989; Амирбеков М., 1993; Белоусов В.Н., 1997; Єфімова М.А., 1999; Митрофанов П.М. і ін., 2001; Гуренко И.А., 2002; Заболотна В.П., 2002; Фомченко И.В., 2002; Морозов Н.Г., 2003), що в значній мірі загострює інфекційний процес і ускладнює діагностичні, лікувальні і профілактичні заходи.

Незважаючи на те, що в Україні ця проблема у значній мірі вивчена окремими авторами, виникає нагальна потреба у подальшому вивченні клініко-епізоотологічних особливостей перебігу і прояву хламідіозу у великої рогатої худоби, виділенні, ідентифікації і вивченні біологічних властивостей збудника хвороби, удосконаленні методів лабораторної діагностики і розробки науково обґрунтованих заходів боротьби з цим захворюванням.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційна робота виконана згідно науково-дослідних робіт Кримського державного агротехнологічного університету, держреєстрація № 0199U004288 “Науково-обґрунтована система ведення сільського господарства в Криму в період переходу до ринку” (1995-2000рр.), і держреєстрація № 0102U000128 “Наукове забезпечення галузей АПК Криму,

розробка й удосконалювання технологій виробництва і переробки сільськогосподарської продукції в нових умовах господарювання” (2001-2005рр.), а також договору про науково-технічне співробітництво між організаціями Російської Федерації - ВНДТБП і Україною - Кримським ДАТУ (1996-2000рр., 2001-2003рр.).

**Мета і задачі досліджень.** Провести серологічний моніторинг, вивчити симптоматику захворювання, виділити, ідентифікувати і визначити біологічні властивості збудника, удосконалити існуючі методи імунологічної діагностики і терапії хламідіоза великої рогатої худоби. Для досягнення мети були поставлені наступні задачі:

- провести серологічний моніторинг і вивчити симптоматику захворювання;
- провести дослідження патологічного матеріалу від корів, що абортували на хламідіоз;
- вивчити культурально-морфологічні, тінкторіальні і серологічні властивості ізолята хламідій, визначити його патогенність для лабораторних тварин і здатність розмножуватися в культурах клітин;
- випробувати “Набір для серологічної діагностики хламідіоза великої рогатої худоби і свиней методом імуноферментного аналізу” (спільний проект ВНДТБП і КДАТУ);
- вивчити ефективність лікарської форми препарату оксиветина при лікуванні молодняка великої рогатої худоби, хворого на хламідіоз.

**Об’єкт дослідження.** Корови, нетелі, телята червоної степової і гольштино-фризської порід із тваринницьких господарств АР Крим.

**Предмет дослідження:** статистичні матеріали державних підприємств ветеринарної медицини; культурально-морфологічні, тінкторіальні, серологічні, патогенні властивості хламідій (ізолят І098), “Набір для серологічної діагностики хламідіоза великої рогатої худоби і свиней методом імуноферментного аналізу”, лікарська форма оксиветина.

**Методи дослідження.** При виконанні роботи використовувалися бактеріологічні, серологічні, вірусологічні, гематологічні, біохімічні, епізоотологічні, клінічні, зоогігієнічні і статистичні методи досліджень.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Уперше на прикладі тваринницьких господарств АР Крим був проведений серологічний моніторинг хламідіоза великої рогатої худоби і встановлена роль хламідій у етіології абортів і мертвонароджень у корів і нетелів, виділений і ідентифікований збудник захворювання (ізолят хламідій І098), вивчені його культурально-морфологічні, тінкторіальні, серологічні і патогенні властивості, удосконалені існуючі методи діагностики з використанням ІФА і терапії хламідіоза великої рогатої худоби.

**Практичне значення одержаних результатів.** Результати досліджень дозволили з’ясувати хламідійну природу абортів у корів і нетелів, встановити вплив умов утримання і годівлі тварин, різних стресових факторів, а також рівня ветеринарного обслуговування на виникнення і

характер прояву хвороби, удосконалити існуючі методи діагностики і терапії хламідіоза великої рогатої худоби.

Окремі результати досліджень використані при складанні нормативно-технічної документації на “Набір для серологічної діагностики хламідіоза великої рогатої худоби і свиней методом імуноферментного аналізу” (спільна розробка ВНДТІБП і КДАТУ), при розробці “Інструкції щодо заходів з діагностики, профілактики та боротьби з хламідіозом сільськогосподарських тварин” поданої для затвердження в Державний департамент ветеринарної медицини Міністерства аграрної політики України і при розробці “Практичних рекомендацій: Як зберегти новонароджених телят”, затверджених Управлінням ветеринарної медицини в АР Крим 30 липня 2004 року.

Матеріали дисертаційної роботи впроваджені у виробництво і використовуються в навчальному процесі факультетів ветеринарної медицини Кримського державного агротехнологічного університету і Луганського національного аграрного університету.

**Особистий внесок здобувача.** Автором дисертаційної роботи самостійно виконаний, проаналізований і узагальнений весь обсяг експериментальних досліджень. Діагностичні дослідження патологічного матеріалу від великої рогатої худоби на хламідіоз, ПГ-3 виконані у вірусологічному відділі Республіканської державної лабораторії ветеринарної медицини АР Крим (філія кафедри мікробіології і вірусології КДАТУ).

**Апробація результатів дисертації.** Основні матеріали дисертаційної роботи доповідались й обговорювались на наукових конференціях професорсько-викладацького складу, наукових співробітників і аспірантів Кримського державного агротехнологічного університету в 1997-1999 рр.; на науково-практичній конференції ветеринарної служби АР Крим (п.-ф. “Южная”, 2000р.), на Міжнародній конференції молодих вчених “Наукові основи технології виробництва ветеринарних препаратів” (Щелково, ВНДТІБП 5-6 червня 2001р.); на Міжнародній науково-практичній конференції з проблем епізоотології й інфекційних захворювань (Одеса, 28-30 травня 2003р.); на II Міжнародній конференції по науково-прикладних проблемах паразитології (Луганськ, 24-28 вересня 2003р.); на Міжнародній науково-практичній конференції “Ветеринарна медицина - 2004: сучасні аспекти розробки, маркетингу і виробництва ветеринарних препаратів” (24-31 травня 2004р., м. Феодосія), на Міжнародній науково-практичній конференції по проблемі “Забезпечення ветеринарно-санітарного благополуччя тваринництва, якості і безпеки продукції” (27-29 жовтня, 2004р., м. Одеса).

**Публікації.** За матеріалами дисертації опубліковано п’ять наукових статей, в тому числі п’ять у фахових виданнях, а саме: дві статті у збірнику наукових праць Луганського національного аграрного університету; дві статті у збірнику наукових праць “Аграрний вісник Причорномор’я” Одеського державного аграрного університету; одна стаття у збірнику наукових праць “Актуальні проблеми ветеринарної медицини” Кримського

державного агротехнологічного університету; практичні рекомендації, Мін. Агропром. АР Крим.

**Структура й обсяг дисертації.** Дисертаційна робота викладена на 152 сторінках комп'ютерного тексту, ілюстрована 2 рисунками і 24 таблицями і включає: вступ, огляд літератури, матеріали і методи досліджень, результати власних досліджень, аналіз і узагальнення результатів дослідження, висновки, практичні пропозиції виробництву, список використаних літературних джерел, якій включає 283 джерела, з них 122 далекого зарубіжжя

## **МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ**

Дисертаційна робота виконувалась протягом 1996-2004 рр. на кафедрі мікробіології і вірусології Кримського державного агротехнологічного університету, у відділі вірусології Республіканської державної лабораторії ветеринарної медицини АР Крим (філія кафедри) і в базових тваринницьких господарствах з різною формою власності АР Крим.

Базою даних із епізоотичної ситуації і клінічної характеристики хламідіозу великої рогатої худоби слугували матеріали ветеринарної звітності Управління ветеринарної медицини АР Крим, Республіканської державної лабораторії ветеринарної медицини АРК, районних лабораторій ветеринарної медицини і власні дослідження, проведені згідно “Методичним вказівкам по епізоотологічному обстеженню” (И.А. Бакулов і співпрац., 1982) і “Методів епізоотологічного дослідження і теорії епізоотичного процесу” (С.И. Джупина, 1991).

Виділення, ідентифікацію хламідій, вивчення основних біологічних властивостей ізолятів проводили відповідно до “Методичних вказівок до лабораторних досліджень на хламідійні інфекції сільськогосподарських тварин” (1986) і “Методичних рекомендацій з лабораторної діагностики хламідіозів сільськогосподарських тварин” (1999) з використанням діагностичних наборів біофабричного виробництва для діагностики хламідійних інфекцій сільськогосподарських тварин.

Матеріалами для виділення хламідій служили окремі ділянки плаценти і паренхіматозні органи плоду корів, що абортували, з яких готували 10% суспензію на розчині середовища Ігла (рН 7,2-7,4) з наступним очищенням і додаванням у встановленому порядку антибіотиків. Після чого отриману суспензію вводили в дозі 0,3 см<sup>3</sup> у жовтковий мішок 6-7-добових курячих ембріонів. Заражені ембріони поміщали в термостат і інкубували при температурі 37,5 ± 0,5°C і відносній вологості 75%. Загибель ембріонів протягом перших 3 діб вважали неспецифічною. В подальшому ембріони овоскопірували, тих що загинули – розтинали, витягали оболонку жовткового мішка, невеликий шматочок якої ретельно відмивали фізіологічним розчином і готували по два мазки-відбитки для проведення морфологічних досліджень. Іншу частину жовткової оболонки поміщали в пеніцилінові флакони і зберігали при температурі -25 ± 2°C. Нову партію ембріонів (серійні пасажі) інфікували хламідіоутримуючою суспензією

оболонки жовткових мішків загинули курячих ембріонів не пізніше ніж через 24 години після їхнього розтину. Досліджуваний матеріал контролювали на стерильність шляхом висіву на МПА, МПБ, середовища Сабуро і Кітт-Тароцці. Забруднений матеріал знищували у встановленому порядку. Летальну дозу (ЕЛД<sub>50/0,3см<sup>3</sup></sub>) для курячих ембріонів визначали за методом Ріда і Менча.

Імунні сироватки до ізолятів хламідій одержували шляхом гіперімунізації морських свинок, вільних від спонтанних хламідійних антитіл. Тварин імунізували очищеною суспензією хламідій внутрішньочеревно чотирьохкратно з 7-добовим інтервалом в дозі 1-2 см<sup>3</sup>.

Патогенність хламідій, виділених з патматеріалу (плацентарна тканина) корови (інв. № І098), що абортувала, вивчали на курячих ембріонах, білих мишах, білих пацюках, морських свинках, вагітних морських свинках і в культурі клітин. Курячі ембріони 6-7-добового віку заражали в жовткову порожнину в дозах від 0,2 до 0,3 см<sup>3</sup> загальноприйнятим методом. Білих мишей, масою 16-18 г, і білих пацюків, масою 34-36 г заражали суспензією жовткових мішків інфікованих курячих ембріонів з титром 10<sup>-4,0</sup> ЕЛД<sub>50/0,3см<sup>3</sup></sub> інтраназально, підшкірно, внутрішньом'язово і внутрішньочеревно в дозах від 0,1 до 0,5 см<sup>3</sup>. Морських свинок, масою 250-300 г, заражали внутрішньом'язово, підшкірно і внутрішньочеревно, а вагітних морських свинок, масою 400-450г - внутрішньочеревно суспензією хламідій у дозі від 0,5 до 1,0 см<sup>3</sup>. Загинулих і вимушено забитих тварин розтинали, з паренхіматозних органів і перитонеальної рідини готували мазки-відбитки і досліджували їх методами світлової мікроскопії. При цьому мазки-відбитки фарбували азур-еозином за методом Романовського-Гімза і карбол-фуксином модифікованим методом Стемпа. При застосуванні загальноприйнятої техніки клітинних культур використовували перещеплювальну лінію, НЕК, люб'язно надану професором Л.П. Дьяконовим (лабораторія клітинної біотехнології і живильних середовищ ВІЕВ).

Вивчення ефективності набору для серологічної діагностики хламідіозу великої рогатої худоби методом імуноферментного аналізу (спільний проект ВНДТБП і КДАТУ) проводили в порівнянні з наборами для серологічної діагностики хламідіозів сільськогосподарських тварин у РЗК і РТЗК біофабричного виробництва (Херсонської біофабрики, виробничого відділу ВНДТБП), дослідженню піддавалися проби сироваток крові корів і ялівок, у яких результат вагітності і післяпологових ускладнень характеризувалися абортами, народженням мертвого і нежиттєздатного приплоду, затримкою посліду, ендометритами, маститами, а також сироватки крові телят, з клінічним проявом хвороби діареєю, бронхопневмонією, артритами, кон'юнктивітом.

З метою вивчення ефективності лікування і профілактики хламідіозу у молодняка великої рогатої худоби використовували комплексний антимікробний препарат пролонгованої дії – оксиветин. Досліди проведені на телятах 2-3 місячного віку, що народилися від хворих на хламідіоз корів і у

яких виявлялись ознаки бронхопневмонії. У процесі дослідів у крові телят, стабілізованій цитратом Na, визначали вміст гемоглобіну гемоглобін-цианідним методом (з ацетонциангідрином), а також кількість еритроцитів і лейкоцитів, а в сироватці крові телят - кількість загального білка рефрактометричним методом. Біохімічне бронхо-легеневе тестування проводили за методом І.Н. Кондрахіна (1996) при бронхопневмонії телят. Економічну ефективність заходів, проведених в умовах виробництва, розраховували згідно "Методики визначення економічної ефективності ветеринарних заходів" (1982).

Статистичну обробку експериментальних даних проводили за методикою Н.П. Ашмаріна (1962).

### **Результати власних досліджень**

#### **Вивчення епізоотичної ситуації щодо хламідіозу великої рогатої худоби у тваринницьких господарствах АР Крим**

Аналіз показників відтворення стада великої рогатої худоби в господарствах АР Крим свідчать про те, що хламідії як самостійні облигатні мікроорганізми-паразити, так і в асоціації з іншими збудниками відіграють значну роль в інфекційній патології вагітності тварин, спричинюючи в них аборти, мертвонародження, народження слабких і нежиттєздатних телят, розвиток післяпологових ендометритів, вагінітів, безплідність, мастити. Так, за період спостереження (1997-2003 р.) кількість абортів і мертвонароджених серед корів і ялівок тваринницьких господарств Криму склала від 0,6% до 2,5%, народження слабких і нежиттєздатних телят - від 1,6% до 3,3%, кількість безплідних корів - від 2,5% до 6,2%, недоодержання приплоду - від 4,7% до 10,7%.

Аналіз матеріалів звітності Управління ветеринарної медицини у АР Крим, Республіканської державної лабораторії ветеринарної медицини, їхніх територіальних органів, а також результати власних досліджень показали, що в господарствах АР Криму хламідіоз великої рогатої худоби довгий час не діагностувався, про те в ряді господарств у корів відмічали аборти, післяпологові ускладнення, народження слабких і нежиттєздатних телят, респіраторні і шлунково-кишкові хвороби молодняку, у биків – уретрити, орхіти, баланопостіти.

На початку 90-х років минулого сторіччя хламідіоз великої рогатої худоби на півострові реєструвався у виді спорадичних випадків, що було пов'язано з недостатньою вивченістю питань епізоотології, відсутністю надійних методів діагностики. Аборти у корів, післяпологові ускладнення, загибель і вимушений забій тварин класифікувалися фахівцями як наслідок порушення зоогігієнічних і ветеринарно-санітарних правил годівлі і утримання тварин. Про те, проведені нами дослідження вказують на етіологічний зв'язок цих хвороб з облигатними паразитами-хламідіями. Нерідко в цих же господарствах у корів і ялівок народжувалися телята з ознаками гіпотрофії, з характерними для хламідіозу великої рогатої худоби проявами клінічних форм бронхопневмоній, гастроентеритів, артритів,



кератокон'юнктивітів при відсутності в окремих випадках збудників бактеріальної інфекції.

Незважаючи на те, що в багатьох господарствах умови утримання і годівля великої рогатої худоби, були майже однаковими, в технології утримання тварин нами виявлені істотні недоліки, які деякою мірою впливали на збереженість поголів'я і стан його здоров'я. Це відсутність теренкурів, де можна було б проводити повноцінний моціон корів, силосно-сенажний тип годівлі з обмеженою часткою концентратів і кормодобавок, малі санітарні розриви при підготовці приміщень, рециркуляція вентиляційного повітря, недостатнє освітлення приміщень, підвищена концентрація аміаку і вуглекислого газу, підвищене бактеріальне забруднення пологових приміщень. При такому веденні галузі молочного і м'ясного скотарства виникають значні труднощі в забезпеченні охорони тварин від збудників інфекційних захворювань і в тому числі хвороб, до етіології яких причетні хламідії.

З метою вивчення поширення хламідіозу серед різних груп великої рогатої худоби проведено вибіркове дослідження проб сироватки крові в РЗК на присутність специфічних антитіл до хламідійного антигену. З досліджених проб сироваток крові корів, биків-виробників і телят різних вікових груп позитивно реагували з хламідійним антигеном 194 проби (18,7%). Серед поголів'я тварин серопозитивність до хламідійного антигену великої рогатої худоби була не однакою. У корів вона складає 30,7%, у биків-виробників - 12,0% і в телят - 16,0%. При аналізі титрів установлена пряма залежність між рівнем специфічних антитіл і відсотком інфікованості великої рогатої худоби. Паралельно проведено дослідження проб сироваток крові великої рогатої худоби на наявність специфічних антитіл до вірусу парагрипа-3, з використанням діагностичних наборів виробництва Херсонської біофабрики. В результаті проведених досліджень у реагуючих тварин виявлені асоціації хламідій і вірусу парагрипа-3. При цьому реєстрували 2-4- кратне збільшення титру специфічних антитіл до антигену вірусу ПГ-3, а з патологічного матеріалу від хворих телят був виділений збудник парагрипа-3 (експертиза 73-36), що підтвердило наявність асоціації збудників хламідіозу і парагрипа-3 у великої рогатої худоби в окремих тваринницьких господарствах АР Крим.

### **Клініко-епізоотологічна характеристика хламідіозу великої рогатої худоби**

При вивченні епізоотологічних особливостей, клінічних ознак і патоморфологічних змін при хламідіозі великої рогатої худоби в господарствах АР Крим нами встановлено, що основним джерелом збудника інфекції є хворі тварини і тварини хламідіоносії, що виділяють, особливо, в період отелення в навколишнє середовище хламідії з вагінальними витіками, абортіваними плодами, плодовими оболонками. У хворих хламідіозом корів, особливо в первісток, дуже часто зараження плоду відбувається внутрішньоутробно.

Спостереження, проведені нами за 1999–2003 роки, показують, що захворювання хламідіозом у великої рогатої худоби частіше проявляється в зимовий період, ніж у літній, а в телят найбільший відсоток захворюваності, вимушеного забою і загибелі реєструється з третьої декади грудня до третьої декади березня. Значне число неблагополучних пунктів з хламідіозу великої рогатої худоби зареєстровано в господарствах в зонах інтенсивно розвиненого молочного і м'ясного скотарства. З 53 господарств 14 районів, що займаються молочним і м'ясним скотарством, 28 господарств були неблагополучні щодо цього захворювання. За п'ять років спостережень захворювання хламідіозом у господарствах цих районів реєструвались з частотою від одного до п'яти разів. Індекс епізоотичності коливався від 0,2 до 1,0 і в середньому по АР Крим склав 0,7. Показник частки неблагополучних пунктів у цих випадках був мінімальний - 0,25, максимальний - 1,0 і середній - 0,52; показник напруженості епізоотичності ситуації коливався від 0,1 до 1,0 і в середньому склав - 0,36.

Таким чином, наведенні дані є констатацією факту присутності хламідійної інфекції на тваринницьких фермах господарств АР Крим і орієнтують на перспективність розробки заходів боротьби і профілактики хламідіозу великої рогатої худоби з урахуванням епізоотичної ситуації.

В обстежених нами господарствах хламідіоз великої рогатої худоби клінічно проявлявся в різних формах. У корів захворювання проявлялось абортми в другій половині вагітності. У первісток частіше, ніж у корів спостерігали: короткочасне підвищення температури тіла до 40,0<sup>0</sup>С - 40,5<sup>0</sup>С, аборти, народження мертвого плоду або нежиттєздатних нащадків, затримку посліду, запальні процеси статевих органів (ендометрити, вагініти), подовження сервіс періоду, тривалу яловість. Молочна продуктивність тварин, що абортували, знижувалась, у частини з них з'являлися мастити. Основні клінічні ознаки захворювання хламідіозом великої рогатої худоби характеризувалися абортми (27,0%), мертвонародженнями (9,1%), народженням нежиттєздатних нащадків (18,6%), а післяпологові ускладнення - затримкою посліду (5,4%), ендометритами (20,3%), вагінітами (21,5%), маститами (8,6%).

У телят хламідійна інфекція проявлялася у виді пневмоентеритної форми. У новонароджених телят від 15-ти денного віку п/ф "Южная" спостерігали ознаки поліартриту: припухлість і болючість, переважно колінних і ліктьових суглобів, скутість руху, кульгавість. В цілому по господарствах нами зареєстровані основні форми прояву хвороби: ентеритна - 36,5%, легенева - 47,2%, артритна - 9,8% і кон'юнктивальна - 6,4%.

Після переводу телят із профілакторію в загальний телятник досить часто реєстрували прояв ураження органів дихання з клінічними ознаками від легких ринітів до важкої форми пневмонії. У початковій стадії хвороби відмічали підвищення температури тіла до 40,0 - 40,9<sup>0</sup>С, пригнічення, зниження апетиту, серозно-слизисті виділення з носової порожнини, рідкий кашель. Пізніше з'являлися задишка, частий сухий кашель, вологі хрипи в легенях, переміжна лихоманка, втрата ваги, відставання у рості і розвитку.

Кількість загинувших і вимушено забитих тварин зростала особливо в тих випадках, коли хвороба ускладнювалася збудниками асоціації. У тварин, що загинули у перші дні життя або були вимушено забиті з метою експерименту, на розтині трупів виявляли зміни, які характеризувалися гострим катаральним гастроентеритом, а у телят старшого віку - катаральною бронхопневмонією, паренхіматозним гепатитом.

При хламідійній моноінфекції (на прикладі МТФ п/ф “Южная”) у телят на фоні захворювання органів травлення й органів дихання відзначали ураження очей (фолікулярні кон’юнктивіти, кератити), патологічні зміни в суглобах (поліартрити). На відміну від телят, у корів хламідійна інфекція проявлялася внутрішньоутробним ураженням плоду, абортами, народженням нежиттєздатних телят, затримкою посліду, ендометритами, вагінітами, маститами. Плодові оболонки у більшості випадків були набряклі, котіледони інфільтровані з великою кількістю некротичних вогнищ з мозаїчним малюнком. Характерні зміни спостерігали в органах і тканинах абортованих плодів, що характеризувалися набряком підшкірної клітковини в області голови, шиї, черева, а також скупченням у черевній і грудній порожнинах значної кількості рідини солом’яного кольору.

#### **Виділення, ідентифікація, біологічні властивості збудника хламідіозу великої рогатої худоби**

При вивченні різних форм хламідіозу великої рогатої худоби у більшості випадків в мазках-відбитках з патологічного матеріалу, при мікроскопії виявляли морфологічні структури хламідій. Із плацентарної тканини і паренхіматозних органів плоду корови (інв. № 1098), яка абортувала, виділено ізолят хламідій.

При морфологічній ідентифікації ізолята 1098 виявлена його ідентичність з референтним штамом хламідій ТНІВІ - збудником абарту корів.

Метод серологічної ідентифікації показав, що групоспецифічний антиген отриманий з ізолята 1098 в РЗК виявляв специфічні антитіла в стандартних імунних сироватках і в гомологічній сироватці в цих же титрах, що і стандартні хламідійні антигени. Отримані дані свідчать про те, що ізолят хламідій відноситься до порядку Chlamydiales, родини Chlamydiaceae, роду Chlamydomphila, виду Chlamydia abortus.

Результати проведених дослідів показали, що виділений збудник хламідіозу великої рогатої худоби розмножувався і культивувався в 6–7-добових курячих ембріонах при зараженні в жовтковий мішок з рясним нагромадженням елементарних тілець, був патогенним для білих мишей і морських свинок.

При підшкірному зараженні білих мишей летальність наступала на 9–15 добу у 37,5% випадків, при внутрішньочеревному - на 5–10 добу у 87,5%, а при інтраназальному - на 4–8 добу у 75% випадків. У морських свинок, у тому числі у вагітних, через 48 годин після зараження відмічали підвищення температури тіла ( $40^{\circ}$  –  $40,5^{\circ}$ C), малорухливість, втрату голосу й апетиту. При підшкірному зараженні смерть тварин реєстрували на 15–18 добу у

33,3% випадків, при внутрішньом'язовому - на 5–15 добу у 83,3% випадків і при внутрішньочеревному - на 5–15 добу у 66,6% випадків. У вагітних морських свинок ізолят хламідій 1098 при внутрішньочеревному зараженні спричинював аборти і мертвонародження в 33,3%. Білі пацюки, заражені цим же ізолятом хламідій, виявилися менше чутливими. Так, при підшкірному зараженні летальність білих пацюків не відмічали, а при внутрішньом'язовому і внутрішньочеревному зараженні він був на п'ять порядків нижче, ніж у білих мишей і морських свинок. При зараженні культури клітин нирок ембріона корови, досліджуваний штам хламідій 1098 не володів вираженою цитопатогенною дією.

### **Удосконалення методів серологічної діагностики і терапії хламідіозу великої рогатої худоби**

Різноманітність клінічних проявів хламідійних інфекцій сільськогосподарських тварин, в тому числі, великої рогатої худоби орієнтує на необхідність пошуків удосконалення методів лабораторної діагностики захворювання і ефективних лікарських препаратів для їх лікування і профілактики.

З лабораторних методів діагностики хламідійних інфекцій людини і тварин найбільш доступним вважається РЗК, проте вона не завжди результативна, особливо при діагностиці хламідіозу великої рогатої худоби і свиней. Це пояснюється тим, що сироватки деяких тварин і птахів містять "неповні антитіла", тому утворення специфічного комплексу антиген-антитіло не зв'язує комплемент (С.П. Мартинов, Г.В. Попов, 1981).

У зв'язку з цим, виникає необхідність пошуку більш ефективних методів видової диференціації штамів хламідій і виявлення специфічних антитіл при діагностиці збудників хламідійних інфекцій великої рогатої худоби і свиней. Сьогодні таким методом є імуноферментний аналіз, що володіє високою специфічністю і чутливістю.

Кримському ДАУ в 1995 році було запропоновано разом із ВНДТІБП виконання проекту по створенню діагностичного набору ІФА для серологічної діагностики хламідіозу великої рогатої худоби і свиней. З цією метою відпрацьовувалися методики культивування, очищення і концентрації хламідій; одержання позитивних хламідійних сироваток; приготування кон'югатів антитіл з пероксидазою; відпрацьовування оптимальних умов постановки ІФА.

Нашим завданням, яке впливало з програми НДР, було визначення ефективності методу імуноферментної діагностики хламідіозу великої рогатої худоби у порівнянні із широко використовуваною у ветеринарній практиці РЗК при діагностиці хламідійних інфекцій сільськогосподарських тварин. При цьому паралельно досліджували методом ретроспективної діагностики парні проби сироваток крові тварин із трьох базових господарств (n=149) з метою виявлення титрів антитіл у РЗК і імуноферментним методом. Із 149 досліджуваних сироваток крові корів і телят трьох неблагополучних щодо хламідіозу великої рогатої худоби господарств у РЗК реагували 42 тварини (28,1%), а в ІФА - 64 (42,9%). Таким чином, за допомогою реакції

ІФА виявлено хворих хламідіозом тварин на 14,8% більше, ніж у РЗК. Характерно те, що сироватки крові, що позитивно реагували із хламідійним антигеном у РЗК, як правило, у 100% випадків давали позитивну реакцію ІФА.

Порівняльна діагностика хламідіозу великої рогатої худоби з використанням методів РЗК і ІФА, проведена нами у виробничих умовах, показала, що ІФА на 14,8% ефективніше і успішно може замінити трудомістку РЗК.

З метою лікування і профілактики хламідіозу великої рогатої худоби нами була випробувана лікарська форма препарату оксиветину, до складу якого входять: окситетрацикліна гідрохлориду -10,0 г; новокаїну -1,0 г; аскорбінової кислоти - 0,1 г; трилону Б - 0,1 г; 1,2-пропиленгліколю - до 100см<sup>3</sup>. Ця форма препарату характеризується тим, що вона має широкий спектр антимікробної дії у відношенні до більшості грампозитивних і грамнегативних мікроорганізмів, а також має пролонговані властивості до збудника хламідіозу при парентеральному введенні тварині, стимулює зменшення запального процесу. Після однократного внутрішньом'язового введення оксиветину діючі компоненти препарату у бактеріостатичній концентрації утримуються в крові й органах тварин протягом 72-96 годин.

Для вирішення цього завдання були відібрані дві групи телят, що народилися від корів з ознаками післяпологових ускладнень і наявністю в сироватках крові специфічних антитіл до хламідійного антигену, а в мазках-відбитках із плаценти і плодових оболонок корів-матерів були виявленні – елементарні тільця хламідій.

Дослідна і контрольна групи тварин формувалися з числа телят, у яких відмічали підвищення температури тіла, ознаки ураження суглобів (набрякання, болючість, кульгавість), органів дихання (слизово-гнійні виділення з носу, кашель), органів травлення (діарея і наявність у сироватках крові специфічних антитіл до хламідійного антигену в РЗК).

Телятам першої дослідної групи з восьми голів оксиветин вводили внутрішньом'язово в дозі 1 мл на 10 кг живої маси, 3 рази з інтервалом 3 доби. Телята другої групи з восьми голів були контрольними тваринами і лікуванню не піддавалися.

Ефективність лікарської форми препарату оксиветину оцінювали за показниками клінічного статусу (зниження до норми температури тіла, відсутність кон'юнктивітів, кульгавості і набрякання суглобів, слизово-гнійних виділень з носу, сухого або вологого кашлю, крепитуючих хрипів), а також збереження телят у дослідній групі і поліпшення загального стану. Після проведеного курсу лікування у телят дослідної групи помітно покращився загальний стан, були відсутні клінічні ознаки захворювання, нормалізувалися гематологічні і біохімічні показники. Двоє телят контрольної групи загинуло, живими залишилися шість, з яких двоє – з ознаками ураження суглобів і чотири – з ознаками пневмоентеритів. Протягом усього дослідження в окремих телят, що не піддавалися лікуванню, відзначали лихоманку ремітуючого типу, діарею, послаблення дихання,

сухий кашель, риніт, кон'юнктивіти. Після прогону хворих телят кашель підсилювався, дихання ставало важким.

На розтині у вимушено забитих телят, що не піддавалися лікуванню, з ознаками ураження суглобів знаходили зміни, характерні для серозно-фібринозного артриту. При цьому синовіальна оболонка гіперемійована, періартикулярна тканина набрякла, інфільтрована серозно-геморагічним ексудатом. В інших випадках слизова оболонка носової перегородки, гортані і трахеї була набрякла з дифузними крововиливами. Легені темно-червоного кольору, щільної консистенції, з ознаками вогнищевої інтерстиціальної пневмонії. Просвіт бронхів заповнений слизистим або слизисто-гнійним ексудатом. У шлунково-кишковому тракті знаходили зміни в кінцевій частині клубової кишки (крапкові крововиливи, ерозії на слизовій). Бронхіальні і брижові лімфатичні вузли збільшені в об'ємі, набряклі, у синусах спостерігаються крововиливи. Печінка кровонаповнена, вишнево-глинистого кольору, в'ялої консистенції. З метою виявлення патологоморфологічних змін було забите теля дослідної групи. Результати досліджень показали, що у нього виражених змін, таких як у тварин контрольної групи, не виявлено.

Результати проведених досліджень свідчать про доцільність застосування препарату оксиветину для лікування і профілактики хворих телят, отриманих від корів, хворих хламідіозом, і дає підставу рекомендувати його для лікування телят, інфікованих збудником хламідіозу.

## ВИСНОВКИ

1. У дисертаційній роботі викладені теоретичне узагальнення і рішення наукової задачі, які дозволили на прикладі тваринницьких господарств АР Крим провести серологічний моніторинг і охарактеризувати симптоматику захворювання, установити роль хламідій у етіології абортів і мертвонароджень у корів і нетелів, виділити й ідентифікувати збудника (ізолят хламідій 1098) й вивчити його біологічні властивості, удосконалити існуючі методи серологічної діагностики і терапії хламідіоза великої рогатої худоби.

2. Проведення комплексних досліджень дозволило установити епізоотичну ситуацію і етіологічну структуру хламідіозу великої рогатої худоби, вивчити особливості епізоотичного процесу і клінічного прояву хвороби, виділити збудника захворювання (*Chlamydia abortus bovis*) і ідентифікувати його серологічно як мікроорганізм порядку *Chlamydiales* родини *Chlamydiaceae*, і як представника роду *Chlamydomphila*.

3. Після адаптації до оболонок жовткових мішків 6-7-добових курячих ембріонів ізолят 1098 добре розмножується в них і накопичується в концентрації  $10^{-5,3}$  ЭЛД<sub>50/мл</sub><sup>3</sup> з рясним накопиченням елементарних тілець хламідій, репродукується в лінії клітин НЕК без прояву цитопатичної дії, є патогенним для білих мишей, морських свинок, вагітних морських свинок і менш патогенним для білих пацюків.

4. За морфологічними, тінкторіальними, серологічними і патогенними властивостями ізолят 1098 не відрізняється від штамів хламідій, що знаходяться в колекції ТНДВІ і ВНДТІБП.

5. Симптокомплекс хламідіоза у корів і нетелів при природному перебігу хвороби характеризується рецидивуючою лихоманкою, абортами, народженням мертвих і слаборозвинених телят, затримкою посліду, катаральним запаленням геніталій, у телят – пневмоентеритами, артритами, кон'юнктивітами як у виді моноінфекції, так і в асоціативній формі зі збудником парагриппа-3.

6. Наявність джерела збудника інфекції і стаціонарність хвороби на молочно-товарних фермах обумовлює хламідіоносійство серопозитивними теличками і биками-виробниками що в значній мірі сприяє поширенню захворювання серед маточного поголів'я тварин.

7. Порівняльна діагностика хламідіозу великої рогатої худоби з використанням РЗК і ІФА, показала, що ІФА на 14,8% ефективніше РЗК і може з успіхом замінити її при лабораторній діагностиці хламідійних інфекцій. При цьому в сироватках крові досліджуваних тварин специфічні антитіла, виявлені в РЗК, у 100% випадків виявляються методом ІФА.

8. У виробничих умовах тваринницьких господарствах АР Крим встановлена профілактична і терапевтична ефективність препарату пролонгованої дії оксиветина, що дозволяє рекомендувати його для лікування і профілактики хламідіоза великої рогатої худоби .

## **ПРАКТИЧНІ ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ**

1. За результатами досліджень, отриманих при спільному виконанні програми НДР за період 1995-2000 і 2001-2003 рр. (договору про науково-технологічне співробітництво між Всеросійським науково-дослідним і технологічним інститутом біологічної промисловості і Кримським державної агротехнологічним університетом, затвердженим 12.02.1995р. і 29.01.2001р.), розроблено “Набір для серологічної діагностики хламідіозу великої рогатої худоби і свиней методом імуноферментного аналізу”, який рекомендується використовувати в умовах виробництва.

2. З появою ознак гострих респіраторних хвороб телят, до етіології яких причетні хламідії, їх ізолюють і піддають лікуванню; для цього рекомендуємо у тваринницьких приміщеннях обладнати ізолятори і карантинні приміщення, у яких варто створювати оптимальний мікроклімат, не допускати протягів, вогкості, підвищеної вологості, збільшення вмісту аміаку. Поряд з застосуванням специфічних противірусних і антимікробних засобів, вітамінотерапії, підвищенням резистентності організму і створення оптимальних умов утримання і годівлі телят, рекомендуємо застосовувати лікарську форму препарату пролонгованої дії оксиветина для лікування і профілактики хламідіозу молодняка великої рогатої худоби. Препарат вводиться внутрішньом'язово в дозі 1 см<sup>3</sup> на 10 кг живої маси 2-3 рази з інтервалом 3 доби в залежності від перебігу хвороби.

3. Отримані дані по удосконаленню існуючих методів серологічної діагностики і терапії хламідіозу великої рогатої худоби ввійшли в підготовлений проект “Інструкції що до заходів з діагностики, профілактики та боротьби з хламідіозом сільськогосподарських тварин”, поданий для твердження в Державний департамент ветеринарної медицини Міністерства аграрної політики України.

4. Матеріали дисертації ввійшли до рекомендацій “Як зберегти новонароджених телят”, затверджених Управлінням ветеринарної медицини в Автономній Республіці Крим “30” липня 2004 року і рекомендованих для використання в суспільному тваринництві, так і в господарствах з різною формою власності.

### **Список праць опублікованих за темою дисертації**

1. Акулова Т.А. К этиологии респираторных болезней телят в животноводческих хозяйствах Крыма //Сборник научных трудов ЛНАУ, - № 27/39, - Луганськ, - 2003, - С. 7-9.

2. Акулова Т.А., Ковалев В.Л. Хламидийные аборт коров // Сборник научных трудов, № 21,-Причорномор'я. - Одеса, 2003, - С. 158-160.

*(Дисертант відібрала матеріал провела його дослідження і узагальнила результати).*

3. Акулова Т. А., Ковалев В.Л., Гуренко И.А. Хламидиоз крупного рогатого скота // Сборник научных трудов ЛНАУ. - № 31/43, - Луганск,- 2003, -С. 158-278.

*(Дисертант провела аналіз епізоотичної ситуації, провела мікробіологічні і імунологічні дослідження, узагальнила результат).*

4. Акулова Т.А., Ковалев В.Л., Гуренко И.А. Хламидиоз крупного рогатого скота в этиологическом ассоциате с вирусами и бактериями // Актуальні проблеми ветеринарної медицини. - Ветеринарні науки, Випуск 79, Наукові праці КДАТУ, - Сімферополь, 2003, - С. 53-63.

*(Дисертант вивчила етіологічну структуру асоціативних факторів захворювання великої рогатої худоби і узагальнила результат).*

5. Акулова Т.А. Этиотропная терапия хламидиоза телят лекарственной формой препарата оксиветина //Аграрний вісник Причорномор'я. – Одеса, 2004. – Випуск 25,- С. 127-131.

6. Как сохранить новорожденных телят. Практические рекомендации. – В.Л. Ковалев, Т.А. Акулова, И.А. Гуренко – Мин. Агропром. АР Крым, – Симферополь – 2004, 19 с.

**Акулова Т.А. Хламідіоз великої рогатої худоби (серологічний моніторинг, виділення, ідентифікація і вивчення біологічних властивостей збудника) – Рукопис.**

*Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата ветеринарних наук за спеціальністю 16.00.03 - ветеринарна мікробіологія і вірусологія. Кримський державний агротехнологічний університет. Сімферополь, 2004.*



У дисертації викладені матеріали з вивчення хламидіозу великої рогатої худоби у тваринницьких господарствах АР Крим. Вивчені епізоотична ситуація і клінічний прояв хламидіозу цього виду тварин у етіологічній асоціації хламідій з вірусами. Виділено культуру хламідій від великої рогатої худоби, проведена її ідентифікація в порівняльному аспекті з референтним штамом хламідій. Вивчено спектр патогенності виділеного штаму хламідій для курячих ембріонів, що розвиваються, білих мишей, білих пацюків, морських свинок, вагітних морських свинок, здатність розмножуватися в клітинних культурах. Дано порівняльну оцінку ефективності РЗК і реакції ІФА при серологічній діагностиці хламидіозу великої рогатої худоби. Приведено результати етіотропної терапії хламидіозу телят при застосуванні препарату оксиветина, показана її ефективність.

Ключові слова: хламідії, хламидіоз, серологічний моніторинг, виділення збудника, ідентифікація, спектр патогенності, діагностика, етіотропна терапія.

**Акулова Т.А. Хламидиоз крупного рогатого скота (серологический мониторинг, выделение, идентификация и изучение биологических свойств возбудителя) – Рукопись.**

*Диссертация на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук по специальности 16.00.03 – ветеринарная микробиология и вирусология. Крымский государственный агротехнологический университет. Симферополь, 2004.*

В диссертации изложены материалы по изучению хламидиоза крупного рогатого скота в животноводческих хозяйствах АР Крым. По результатам клинико-эпизоотологических, патологоанатомических, серологических исследований установлено более широкое распространение хламидийной инфекции среди этого вида животных в сравнении с данными ветеринарной отчетности. Из исследованных 1037 проб сывороток крови коров, быков-производителей и телят разных возрастных групп положительно реагировали с хламидийным антигеном 194 пробы (18,7%) со средним титром антител  $3,3 \pm 0,24$ . У различных групп животных серопозитивность к хламидийному антигену крупного рогатого скота не одинакова. У коров она составляет 30,7%, у быков-производителей – 12,0% и у телят-16,0%. При анализе титров установлена прямая зависимость между уровнем специфических КС антител и процентом инфицированности крупного рогатого скота: у коров средние арифметические титры специфических антител составили  $3,7 \pm 0,41 \log_2$ , у быков-производителей –  $2,3 \pm 0,27 \log_2$  и у телят –  $3,1 \pm 0,36 \log_2$ . Чаше аборт у коров и нетелей возникают на последних месяцах стельности. При этом у абортировавших животных наблюдается задержание последа, катаральное и катарально-гнойное воспаление генитальных органов, приводящее отдельных животных к бесплодию и снижению продуктивности. У телят хламидийная инфекция проявляется пневмоэнтеритами, артритами, кератоконъюнктивитами. В целом по хозяйствам нами были зарегистрированы основные формы болезни:

энтеритная – 36,5%, легочная – 47,2%, артритная – 9,8% и конъюнктивальная – 6,4%. В отдельных хозяйствах хламидиоз крупного рогатого скота протекал в виде моноинфекции и в ассоциативной форме в сочетании с вирусами, хламидиями и условно патогенной микрофлорой.

От абортировавшей коровы 1098 выделена и идентифицирована культура хламидий. Изучен спектр ее патогенности для развивающихся 6-7-дневных куриных эмбрионах, белых мышей, белых крыс, морских свинок, беременных морских свинок, способность размножаться в клеточных культурах.

В производственных условиях проведена сравнительная оценка эффективности РСК и ИФА при диагностики хламидиоза крупного рогатого скота, которая показала, что ИФА на 14,8% эффективнее РСК и может с успехом заменить трудоемкую РСК, до сих пор применяемую в диагностических лабораториях ветеринарной медицины.

Изучено терапевтическое действие лекарственной формы препарата оксиветина при хламидиозе молодняка крупного рогатого скота. Полученные обнадеживающие данные на двух группах телят (производственный опыт) свидетельствуют о перспективности применения препарата оксиветина при лечении и профилактике хламидиоза крупного рогатого скота.

Ключевые слова: хламидии, хламидиоз, серологический мониторинг, выделение возбудителя, идентификация, спектр патогенности, диагностика, этиотропная терапия.

**Akulova T.A. Chlamydiosis of large horned livestock (seromonitoring, allocation, identification and studying of biological properties of the activator) – Manuscript.**

The dissertation on competition of a scientific degree of the candidate of veterinary sciences on a speciality 16.00.03 - veterinary microbiology and virology. Crimean state agrotechnological university. Simferopol, 2004.

In the dissertation materials on studying a chlamydiosis of large horned livestock in cattle-breeding facilities AR Crimea are stated. The situation and clinical display of a chlamydiosis of this kind of animals in reason union with viruses and chlamidias are investigated distribution. The culture chlamidias from large horned livestock is allocated, its identification in comparative aspect with control stamm chlamidias is lead. The spectrum of pathogenicity allocated stamm chlamidias for developing chicken embryos, white mice, white rats, porpoises, pregnant porpoises, ability to be made multiple copies in cellular cultures is investigated. The comparative estimation of efficiency RLC and is given to reaction IEA at reactions serologicae to diagnostics of a chlamydiosis of large horned livestock. Results reason therapies of a chlamydiosis young large horned livestock are resulted at studying action of the medicinal form of a preparation oxivetina, efficiency of its application in conditions of manufacture is shown.

Key words: chlamidias, chlamydiosis, seromonitoring, allocation of the activator, identification, a spectrum of pathogenicity, diagnostics, reason therapy.