

## АССОЦИАЦИЯ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ПНЕВМОЭНТЕРИТОВ И ЛАТЕНТНОЙ ТУБЕРКУЛЕЗНОЙ ИНФЕКЦИИ У НОВОРОЖДЕННЫХ ТЕЛЯТ

\*Притыченко А.Н., \*Лысенко А.П., \*Высоцкий А.Э., \*Красникова Е.Л., \*Тяпша Ю.И., \*Дубаневич О.В., \*\*Кучвальский М.В., \*\*\*Притыченко А.В.  
\*РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского»,  
г. Минск, Республика Беларусь

\*\*Белорусский государственный университет, г. Минск, Республика Беларусь

\*\*\*УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

*В биологическом материале 7-14-дневных телят обнаружен геном моно- и ассоциаций вирусов диареи, рота-, коронавирусной инфекции, парагриппа-3, инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота, P. multocida типа A, M. haemolytica, причем наиболее часто (42,9 %) встречался геном ротавируса. В 77,8 % случаев из биологического материала были выделены микобактерии туберкулеза с дефектной клеточной стенкой, причём в 28,6 % случаях геном других возбудителей не был обнаружен. Полученные результаты свидетельствуют о значительном распространении латентной туберкулезной инфекции, трансплацентарной передаче и указывают на необходимость изучения её влияния на состояние здоровья приплода и использование методов выявления измененных форм микобактерий туберкулеза, для формирования неинфицированных стад. **Ключевые слова:** микобактерии туберкулеза с дефектной клеточной стенкой, CWD формы микобактерий, телята, диагностика туберкулеза, латентная туберкулезная инфекция.*

## ASSOCIATION OF PATHOGENS OF PNEUMOENTERITIS AND LATENT TUBERCULOSIS INFECTION IN NEWBORN CALVES

\*Pritychenko A.N., \*Lysenko A.P., \*Vysotsky A.E., \*Krasnikova E.L., \*Tyapsha Yu.I., \*Dubanevich O.V., \*\*Kuchvalsky M.V., \*\*\*Pritychenko A.V.  
\*Institute of Experimental Veterinary Medicine named after S.N. Vyshellesski,  
Minsk, Republic of Belarus

\*\*Belarusian State University, Minsk, Republic of Belarus

\*\*\*Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, Vitebsk, Republic of Belarus

*The genome of mono viruses and associations of viruses of diarrhea, rotaviruses, coronaviruses, parainfluenza 3, infectious rhinotracheitis, P. multocida type A, M. haemolytica were found in the pathological material of the fallen 7-14-day-old calves. The rotavirus genome was the most common (42,9 %). In 77,8 % of cases cell wall deficient (CWD) mycobacteria tuberculosis was detected, and in more than 28,6 % of cases the genome of other pathogens was not detected. The results obtained indicate a significant spread of latent tuberculosis infection. Its transplacental transmission indicate the need to study its effect on the health of the offsprings and the use of methods for*

(CWD) *Mycobacteria tuberculosis* detection for the formation of uninfected herds.  
**Keywords:** *Mycobacterium tuberculosis* with a defective cell wall, CWD forms of *Mycobacteria*, calves, diagnosis of tuberculosis, latent tuberculosis infection.

**Введение.** Серьезной проблемой промышленного скотоводства является распространение вирусных и бактериальных инфекций, связанное с высокой концентрацией поголовья и сложностью обеспечения зооигиенических условий содержания [1, 2]. Считается, что возбудители вирусной диареи (ВД), ротавирусной инфекции (РВИ), инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота (ИРТ), парагриппа-3 (ПГЗ), коронавирусной инфекции (КВИ), респираторно-синцитиальной инфекции (РСИ), *Chlamydia spp.*, *P. multocida* тип А, D, E, *Mannheimia haemolytica*, *Salmonella (dublin, choleraesuis, typhimurium)* могут вызывать 10-100 % заболеваемость и 10-90% летальность новорожденных телят [1]. На обнаружение и эрадикацию возбудителей этих заболеваний направлена диагностика и вакцинопрофилактика [1, 3]. Тем не менее несмотря на то, что современные вакцины обеспечивают накопление у иммунизированных коров «защитных» уровней иммуноглобулинов, выпойка молозива от таких животных не гарантирует формирования у телят эффективного пассивного иммунитета [2, 3]. Следовательно, нельзя исключать роль других факторов, не принятых нами во внимание, которые могут влиять, в том числе в комплексе с известными инфекционными агентами, на состояние здоровья новорожденных телят.

Таким «скрытым» инфекционным агентом являются микобактерии туберкулеза. С одной стороны, противотуберкулезные мероприятия, осуществляемые на территории Беларуси уже более 60 лет, привели к исчезновению активного туберкулеза крупного рогатого скота. С другой стороны, несмотря на то, что все белорусские хозяйства благополучны по туберкулезу, ежегодно выявляют до 0,7 % крупного рогатого скота с реакциями на туберкулин. Причиной появления и выявления туберкулин-позитивных животных является скрытая туберкулезная инфекция. Она возникает при персистенции в организме измененных форм микобактерий туберкулеза, которые могут проходить трансплацентарный барьер, выделяться с молоком и трансформироваться в классические формы. Более того, животное может быть источником латентной туберкулезной инфекции при отсутствии реакции на туберкулин, даже у новорожденных животных.

Целью работы было выявление причины гибели телят 7-14-дневного возраста из благополучных по туберкулезу хозяйств.

**Материалы и методы исследований.** Биологический материал (фрагменты печени, почек, легких, селезенки, сердце (целиком), трубчатая кость, участок тонкого кишечника) от 9 телят 7-14 дневного возраста, родившихся в 4 благополучных по туберкулезу хозяйствах, исследовали в ПЦР на присутствие генома возбудителей ВД, РВИ, ИРТ, ПГ-3, КВИ, РСИ, *Chlamydia spp.*, *P. multocida* тип А, D, E, *Mannheimia haemolytica*, *Salmonella (dublin, choleraesuis, typhimurium)*.

Для проведения микробиологических исследований ткани гомогенизировали в 6% щавелевой кислоте и центрифугировали (3600 g, 10 мин). К осадкам добавляли по 5 мл стимулятора роста ВКГ («Hansa») [4] смеси выдерживали 24 ч при 37 °С и высевали на среду МусСел DW [5]. Посевы инкубировали при 37 °С. При отсутствии роста через 1-2 суток проводили «слепые» пассажи.

Изоляты идентифицировали в ПЦР в реальном времени (ПЦР-RT). Амплификацию проводили на CFX96™ Real-Time System (BioRad) с праймерами «Праймтех» к локусам IS 6110. ДНК части изолятов исследовали в ПЦР с праймерами к локусам гена синтеза 16S RNA, МРВ 64, МРВ 70 («Праймтех») с электрофоретической детекцией продуктов амплификации в 2 % агарозном геле.

Также, для выявления маркеров туберкулезной инфекции препараты-отпечатки тканей и препараты-мазки изолятов окрашивали по Kinyoun. Микроскопию проводили на Olimpus B51X.

Соникаты бактериальной массы получали дезинтеграцией на Bandelin Sonopuls 2400 (8х, 4 цикла по 5 мин). Контролями служили соникаты штаммов CWD *M. tuberculosis* H<sub>37</sub>Rv, CWD *M. bovis* и *M. avium* 1603 из коллекции РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского» и экспериментально полученного штамма CWD МБТ “Is Hela is 6” [7].

Полипептидный состав изолятов изучали в электрофорезе в 10% ПААГ-ДСН по Laemmli (1970), а антигенный состав в РИД и в ракетном иммуноэлектрофорезе (РИЭФ, Axelsen et.al 1977) с антисыворотками к CWD МБТ “Br 2/17” [6], к CWD МБТ “Is Hela 3 kD” [7] и к типичному штамму *M. avium* 1603.

**Результаты исследований.** В 7 из 9 посеянных проб тканей (77,8 %) выявлен рост некислотоустойчивых (НКУ) и частично кислотоустойчивых (ЧКУ) полиморфных палочковидных форм типичных для микобактерий туберкулеза (МБТ) с дефектной клеточной стенкой (cell wall deficient – CWD), что подтвердили результаты ПЦР с праймерами для выявления генома МБТ (таблица 1).

В 7 пробах одновременно с геномом МБТ нами обнаружен:

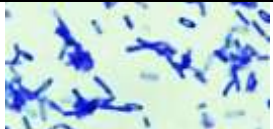
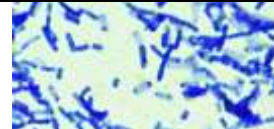




- геном: ВД и РВИ - в 1 пробе (11,1 %);
- геном РВИ и КВИ в 1 пробе (11,1 %);
- геном РВИ и *M. haemolytica* в 1 пробе (11,1 %);
- геном КВИ, *P. multocida* A, *M. haemolytica* – в 1 пробе (11,1 %).

Только геном ИРТ, ПГ-3, *M. haemolytica* выявлен в 1 случае (11,1 %).

Наиболее часто выявлялся геном РВИ (в 3 из 7 случаев – 42,9 %), геном КВИ и *M. haemolytica* в 2 случаях из 7 (28,6 %).

Причем, изоляты CWD МБТ были идентифицированы в ПЦР (таблица 1) в 2-х случаях (22,22 %). В 1-м случае не обнаружен геном ВД, РВИ, ИРТ, ПГ-3, КВИ, РСИ, *Chlamydia spp.*, *P. multocida*, *Mannheimia haemolytica*, *Salmonella spp.*

**Таблица 1 – Результаты исследования биологического материала павших телят**

№, возраст, результат ПЦР с материалом и с ДНК изолятом	Морфология изолятов, выросших на среде МусСел DW и ее изменение при пересевах		
№9/2 пн, 14 дней, ВД+, РВИ+ ДНК изолята МРВ 70+, МРВ 64±			
№9/1 пн, 14 дней, РВИ+, КВИ+ ДНК изолята 16S RNA+, МРВ 64±			

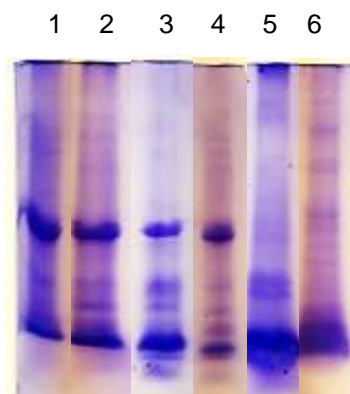
№8 мо, 14 дней, отрицательно,  ДНК изолята МРВ 64+			
№725 мо, 10 дней, М. <i>haemolytica</i> ,  ДНК изолята МРВ 64±			
№1 мо, 14 дней, ИРТ+  ДНК изолята МРВ 64±			
«Ст 2», 7 дней, ПГ-3+  ДНК изолята IS 6110+			
«Хо 3», 14 дней, РВИ+, <i>Mannheimia haemolytica</i>  ДНК изолята IS 6110+			

При микроскопии препаратов-отпечатков тканей и препаратов-мазков выросших культур не было обнаружено типичных форм МБТ.

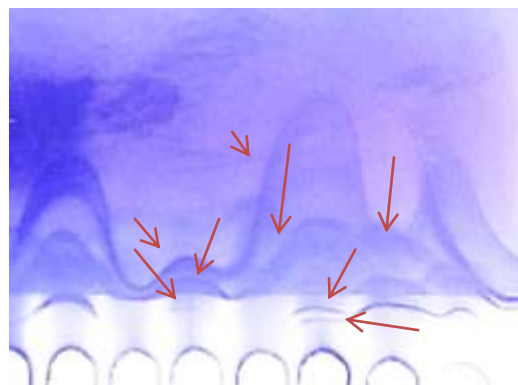
Учитывая то, что некоторые изоляты дали в ПЦР с праймерами для выявления генома МБТ слабоположительные результаты ( $\pm$ ), провели исследование их полипептидного и антигенного состава. Оказалось, что изоляты 9/2 пн (МРВ 70+, МРВ 64+), 725 мо (МРВ 64 $\pm$ ), 1 мо (МРВ 64 $\pm$ ) имели одинаковый полипептидный спектр, близкий к спектру эталонного CWD штамма *M. bovis* 8 (рисунок 1).

Следовательно, изоляты, реагировавшие в ПЦР ( $\pm$ ) явно относились к CWD МБТ. Вместе с тем, полипептидные спектры изолятов 8 мо (МРВ 64 $\pm$ ) и 9/1 пн (16S RNA+, МРВ 64 $\pm$ ) отличались (рисунок 1), но в РИЭФ их антигенный состав был практически такой как у штамма CWD *M. bovis* 8 и CWD *M. tuberculosis* H<sub>37</sub>Rv dm (рисунок 2).

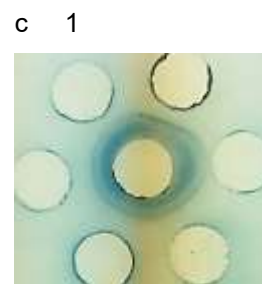
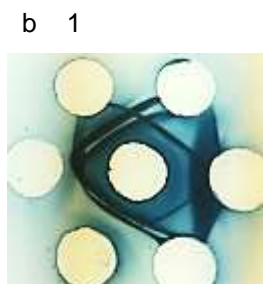
У изолятов «Ст 2» и «Хо 3» антигенный состав также не отличался от состава CWD *M. bovis* 8 и CWD *M. tuberculosis* H<sub>37</sub>Rv. Варьировала только концентрация отдельных антигенов (рисунки 2, 3). Интересно, что в РИД с антисывороткой к типичному штамму *M. avium* 1603 изоляты формировали плавно сливающиеся преципитаты (рисунок 3).



**Рисунок 1 – ЭФ в 12% ПААГ-ДСН:** 1. CWD *M. bovis* 8 dm, 2 – изолят №9/2 пн (MPB 70+, MPB 64+), 3 – изолят №725 мо (MPB 64±), 4 – изолят №1 мо (MPB 64±), 5 – изолят №9/1 пн (16S RNA+, MPB 64±), 6 – изолят №8 мо (MPB 64±)



**Рисунок 2 – РИЭФ соникатов:** 1 – CWD *M. bovis* 8 dm, 2 – изолята №8 мо (1:4), 3 – изолята №8 мо (1:1), 4 – изолята №9/1 пн, 5 – изолята №725 мо, 6 – CWD *M. tuberculosis* H<sub>37</sub>Rv dm, 7 – CWD МБТ “Br 2/17 (стрелки преципитаты общих антигенов с CWD *M. bovis* 8 dm и CWD *M. tuberculosis* H<sub>37</sub>Rv dm). В геле агарозы антисыворотка к CWD МБТ “Br 2/17



**Рисунок 3 – РИД антисывороток (в центре):** а – к CWD МБТ «Br 2/17», б – к CWD МБТ “Is Hela 3 kD”, с – к *M. avium* 1603 и соникатов: 1 – CWD *M. tuberculosis* H<sub>37</sub>Rv, 2 – «Ст 2», 3 – CWD *M. bovis* 8 dm, 4 – «Хо 3», 5 – CWD *M. bovis* Ne, 6 – CWD МБТ “Hela is 6”

**Заключение.** В биологическом материале павших 7-14-дневных телят обнаружены моно- и ассоциации 5 видов вирусов и 2 видов бактерий, причем наиболее часто (42,9 %) встречался геном ротавируса, но в 77,8 % случаев из материала были выделены CWD МБТ, в том числе в 28,6 % случаях, когда не был обнаружен геном других возбудителей. Так как, при микроскопии тканей не было обнаружено типичных МБТ, предположено, что они персистировали в вирусоподобной или CWD формах.

Полученные результаты свидетельствуют о значительном распространении скрытой туберкулезной инфекции, учитывая возраст павших животных, ее трансплацентарной передаче и указывают на необходимость изучения влияния трансформированных форм МБТ на состояние здоровья приплода, использование методов выявления измененных форм МБТ для формирования неинфицированных стад.

**Литература.** 1. Справочник по наиболее распространенным болезням крупного рогатого скота и свиней / П. А. Красочко [и др.]. – Смоленск, 2003. – 828 с. 2. Колостральный иммунитет как аналитический фактор прогнозирования развития острых респираторных вирусных инфекций у телят / Е. Н. Шилова [и др.] //

Ветеринария сегодня. – 2021. – № 1 – С. 29-32. 3. Козлова, С. В. Формирование иммунитета у телят голштинской породы / С. В. Козлова // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2021. – № 5 (91). – С. 227-231. 4. Власенко, В. В. Туберкулез в фокусе проблем современности / В. В. Власенко // Винница : Наука, 1998. – 350 с. 5. Феномен изменчивости микобактерий туберкулеза и его использование для обнаружения туберкулезной инфекции / А. П. Лысенко [и др.] // Туберкулез - глобальная катастрофа человечества : материалы I Международной заочной научно-практической конференции, 24 марта 2014 г. – Ростов-на-Дону, 2014. – С. 176-198. 6. CWD Tuberculosis Found in Spongiform Disease Formely Attributed to Prions: Its Implication towards Mad Cow Disease, Scrapie and Alzheimer's / A. P. Lysenko [et all.]. // Journal of Molecular Pathological Epidemiology. – 2017. – № 3. – P. 1-13. 7. Возможная роль туберкулезной инфекции в возникновении опухолей / А. П. Лысенко [и др.] // Экология и животный мир. – 2020. – № 1. – С. 53-69.

УДК 619:616.98-091-053.2

### **ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ОРГАНАХ ТЕЛЯТ РАННЕГО ВОЗРАСТА ПРИ АССОЦИАТИВНОМ ТЕЧЕНИИ РОТА-, КОРОНА-, АДЕНОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ, ИНФЕКЦИОННОГО РИНОТРАХЕИТА И ЭШЕРИХИОЗА**

**Прудников В.С., Герман С.П.**

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

*Вирусные болезни телят имеют широкое распространение и часто протекают в ассоциациях. Патоморфологические изменения в органах и тканях при вирусных инфекциях позволяют поставить предварительный нозологический диагноз и разработать лечебно-профилактические мероприятия по ликвидации болезней. **Ключевые слова:** вирусные болезни, телята, патоморфология, диагностика, профилактика.*

### **PATHOMORPHOLOGICAL CHANGES IN THE ORGANS OF EARLY CALVES DURING THE ASSOCIATIVE COURSE OF ROTA-, CORONA-, ADENOVIRUS INFECTION, INFECTIOUS RHINOTRACHEITIS AND ESCHERICHIOSIS**

**Prudnikov V.S., German S.P.**

Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, Vitebsk, Republic of Belarus

*Viral diseases of calves are widespread and often occur in associations. Pathomorphological changes in organs and tissues during viral infections allow making a preliminary nosological diagnosis and develop therapeutic and preventive measures to eliminate diseases. **Keywords:** viral diseases, calves, pathomorphology, diagnostics, prevention.*

**Введение.** Несмотря на проводимую вакцинацию коров и первотелок в период сухостоя, вирусные болезни телят раннего возраста по-прежнему имеют широкое распространение и наносят значительный экономический ущерб животноводству. При этом заражение телят часто происходит внутриутробно, что подтверждается клиническими признаками и характерными для вирусных инфекций патоморфологическими изменениями в органах и тканях павшего новорожденного молодняка.