

## **РЕКОНВАЛЕСЦЕНТЫ И ХРОНИЧЕСКИ БОЛЬНЫЕ- ПАСТЕРЕЛЛОНОСИТЕЛИ КАК СТАЦИОНАРНЫЙ ИСТОЧНИК ЭНДОГЕННОЙ ИНФЕКЦИИ С РЕСПИРАТОРНЫМ СИНДРОМОМ**

*P. multocida широко распространена среди телят и поросят на фермах, неблагополучных по респираторным патологиям банального происхождения. Эпизоотические варианты пастерелл отличаются вариабельностью вирулентных свойств и серовариантной принадлежностью.*

### **Постановка проблемы и анализ последних исследований**

Инфекционные патологии с респираторным синдромом банального происхождения у телят и поросят в первые месяцы их жизни являются основной причиной экономических потерь в этот возрастной период. Этиофактором респираторных поражений являются вирус-бактериальные ассоциации, преимущественно убиквитарных микроорганизмов, опосредующих инфекционогенез по факторному типу энзоотического процесса внутри хозяйства [1, 3, 9, 10]. Биологическим основанием факторности инфекционной патологии с респираторным синдромом у молодняка выступает иммунодефицитность макроорганизма (неэффективность иммунного надзора незрелой иммунной системы, некорректность

иммунореактивности физиологических функций организма) и потенциальная патогенность ассоциантов микробиоценозов сообществ комменсалов (микробов-выхода, возбудителей оппортунистических инфекций) покровных тканей, прежде всего слизистых оболочек дыхательных путей [3–5, 9]. Потенциальная патогенность выражается в способности популяции слабо- и авирулентных резидентных клонов бактерий воспринимать трансгенные детерминанты патогенности (ТГС) в процессе генетического межпопуляционного обмена неканоническими патогенами – плазмидами, детерминирующими патогенные потенции возбудителей инфекционной патологии с респираторным синдромом [3, 5, 6].

Одним из наиболее опасных ассоциантов микробиоценозов, индуцирующих респираторный синдром, является *P. multocida*, выступающая в совокупности вирус-бактериальных респираторных возбудителей как мажорный или доминантный патоген, так как последствия инфекционогенеза пастерелл наиболее печальны для макроорганизма и нередко кончаются катастрофически для жизни животного [1, 3, 4, 7–10]. В то же время пастереллы относятся к убиквитарным обитателям слизистых оболочек респираторного тракта, они постоянно присутствуют в верхних дыхательных путях, о чем свидетельствуют перманентные титры нормальных антител (АТ, Ig), регистрируемых в РНГА с капсульными антигенами (К-АГ) и частые бактериологические находки пастерелл у здоровых животных [4, 9, 12].

Поэтому, исходя из вышеизложенного, была поставлена **цель работы**: изучить вирулентность на лабораторных животных эпизоотических культур *P. multocida*, изолированных от здоровых, больных и переболевших тяжелыми формами респираторной патологии (пневмонии), также установить их серовариантную принадлежность и на основании полученных экспериментальных данных выяснить этиологическую значимость циркулирующих клонов возбудителя и их источник.

## Материалы и методы

Культивирование лабораторных субштаммов пастерелл осуществляли по общепринятым методикам на простых питательных средах – МПБ и МПА при 37–38 °С. Первичное выделение бактерий из секционного биоматериала производили рутинными методами, а при бакисследовании слизистых оболочек верхних дыхательных использовали биопробу на белых мышах массой 18–20 г. Стерильными тампонами отбирали пробы носовой слизи (после предварительного туалета места исследования), помещали в пробирку с физраствором (2–3 см<sup>3</sup>) и выдерживали не более 30 мин., затем каждую пробу вводили внутрибрюшинно 2–3 белым мышам по 1,0 см<sup>3</sup>. Через 3–5 дней мышей умертвляли, а из их внутренних органов делали высевы на МПБ и МПА. Наблюдали за посевами 3–5 суток.

Морфо-тинкториальные, культуральные и биохимические свойства изолированных культур пастерелл изучали по общепринятым критериям согласно определителей Берджи [7, 8].

Вирулентность изолированных культур пастерелл изучали на белых мышках массой 16–18 г по методу Спирмена–Кербера в изложении Ашмарина при использовании не менее 4 биообъектов на одно заражение. Мышей заражали подкожно в области спины в объеме 0,3 см<sup>3</sup> суточной бульонной культуры возбудителя. Титрование пастерелл в заражающей дозе перед биопробой проводили на 5 % кровяном агаре и накопление бактерий в суточной бульонной культуре выражали в ЖМК/см<sup>3</sup> [2].

Серомониторинг проводили в РНГА с К-АГ из производственных штаммов *P. multocida* сероваров А, В и D, штаммы № 12, 31 и 3 соответственно, изолированных в юго-восточном регионе Украины. К-Аг готовили по методике G.Carter [11] в модификации A.Iordache [12]. Также по методике Картера по типу К-Аг из эпизоотических культур возбудителя в РНГА с гипериммунными диагсыворотками определяли серовариантную принадлежность изолированных штаммов пастерелл [11, 12]. Серодиагностику респираторных вирозоз (парагриппа-3) проводили в РЗГА с помощью биофабричных диагностикумов согласно прилагаемых наставлений.

### **Результаты исследований**

Клинико-эпизоотологическое наблюдение за энзоотиями инфекционной патологии с респираторным синдромом среди телят и поросят первых месяцев жизни проводили в хозяйствах юга-востока Украины: учхоз Луганского НАУ, учхоз Крымского АТУ и др. В каждом хозяйстве провели выборочное исследование рандомизированных групп животных различного физиологического состояния.

В упомянутых хозяйствах применялись сходные системы содержания животных и наблюдалась однотипная картина эпизоотической ситуации по респираторным заболеваниям молодняка с.-х. животных. Хозяйства небольшие, небогатые, технология ведения животноводства отсталая, экстенсивная. Основная задача в животноводстве – сохранение поголовья и получение некоторой продукции. Фермерские постройки старые, зоогигиенические нормы содержания и нормы рационов кормления не соответствуют физиологическим потребностям организма животных. Ветеринарно-санитарные требования не соблюдаются, ограждения или отсутствуют, или существуют условно. Перемещения животных беспорядочны, не подконтрольны ветперсоналу, распространено разновозрастное содержание животных под одной крышей и их обслуживание одними людьми. Особую тревогу вызывает устаревшая, прочно укоренившаяся и крайне вредная практика передержки хронически больных животных в так называемых станках-изоляторах, обычно

расположенных на входе в телятник, где они не изолируются, а просто выделяются в отдельную группу для удобства наблюдения за ними и содержатся в каком-либо нестандартном маленьком станке, сохраняя полный контакт со всем помещением и являясь постоянным источником инфекции. Дезинфекция проводится формально, эпизоотологические мероприятия направлены против эмерджентных и антропонозных инфекций: ящур, сибирка, лейкоз, туберкулез и т. п., совершенно не учитываются факторные эндогенные инфекции, обусловленные микробами-оппортунистами, обычными обитателями внешней и внутренней среды организма животного и потенциально способными к колонизации такой экологической ниши обитания, как организм телят и поросят при снижении их иммунной резистентности под влиянием неудовлетворительных факторов среды обитания и неблагоприятных эпизоотических обстоятельств микробного окружения.

Первоначально провели выборочные исследования бактериального состава слизистых оболочек носоглотки телят с признаками респираторных поражений и внешне здоровых реконвалесцентов, переболевших пневмоэнтеритами, а так же длительно болеющих телят с вялым течением основного заболевания, легочников-хроников, находящихся в станке-изоляторе. Из 48 телят с признаками респираторного синдрома у 32 диагностировали затяжное подострое течение воспалительного процесса в виде серозно-катарального воспаления верхних дыхательных путей, трахеита и бронхита, одностороннего серозного конъюнктивита, субфебрильной лихорадки. Общее состояние было удовлетворительное. У 16 телят респираторный синдром был опосредован катаральной бронхопневмонией средней тяжести.

У телят с легким течением респираторного процесса баксостав слизистых оболочек верхних дыхательных путей был аналогичен составу здоровых животных, а вот у 6 из 16 телят, больных бронхопневмонией, со слизистой носа изолировали патогенные культуры пастерелл. Изоляты принадлежали к серовару А и суточные бульонные культуры в объеме 0,5 см<sup>3</sup> убивали белых мышей при подкожном введении в течение 24–48 часов, вызывая у них пастереллезный сепсис, LD<sub>50</sub> = 9,2±2,8 ЖМК с доверительным интервалом 7,4 < 9,2 < 48,6 ЖМК при P ≥ 0,05.

У 16 (около 70 %) из 24 телят-реконвалесцентов и у 12 (> 75 %) из 16 телят-хроников при бакисследовании микробного состава слизистой носа также изолировали культуры пастерелл, патогенных для белых мышей. От телят-реконвалесцентов 10 культур (> 60 %) отнесли к серовару А и 6 (< 40 %) – к серовару Д, от телят-хроников 10 культур (> 80 %) идентифицировали как серовар Д и 2 (< 20 %) – как серовар А.

При ретроспективном сероисследовании рандомизированной группы (n = 44) телят в профилактории в 2-х недельном возрасте в их крови обнаружили высокие защитные титры колостральных АТ к вирусу ПГ-3,

$M_g$  складала  $9,24 \pm 0,32 \log_2$  з діапазоном титрів от 1:128 до 1:2048 или 7,0–11,0  $\log_2$ . В місячному візасте титры АТ к вірусу ПГ-3 значительнo уменьшились – до  $M_g$   $6,22 \pm 0,22 \log_2$  з діапазоном 1:16 до 1:512 или 4,0–9,0  $\log_2$ . При этом практически у всех телят профілакторія (> 90 %), вне зависимости от візаста, виявлені АТ к К-АГ *P. multocida* в фонових титрах со значеніе  $M_g$  от 1,8 до 3,4  $\log_2$  з незначительним и статистически недостоверним превалярованием АТ к серовару Д.

Через місяц после перебування телят-молочників в телятніке происходила сероконверсія АТ к вірусу ПГ-3, титры АТ выросли в 4–6 раз;  $M_g$  складала  $10,46 \pm 0,68 \log_2$  з діапазоном титрів 1:128 до 1:4096 или 4,0–12,0  $\log_2$ . При этом апатогенные варианты *P. multocida* серовар Д сменились патогенными с вирулентностью от  $10^0$  до  $10^{-3}$ , а вирулентность *P. multocida* серовар А выросла с  $10^{-3}$  до  $10^{-6}$ . Етіопатогенез інфекційної патології в респіраторном тракті з участіем ВПГ-3 и домінантного патогена – пастерелл – підтверджує гіпотезу о том, что ВПГ-3 являється пусковим механізмом к експоненціальному розмноженію *P. multocida* в легочній ткани.

Для експериментального підтвердження етіофактора пульмональної патології провели діагностический убой 2-х місячного теленка, заболівшого пневмонією после параміксовірусної інфекції. Титр протівовірусних АТ к АГ ВПГ-3 складал 11,0  $\log_2$  или 1:2048; титры АТ к К-АГ *P. multocida* равнялись: к К-АГ серовара А – 1:8, к К-АГ серовара В – 1:8, к К-АГ серовара Д – 1:16, что статистически не отличалось от аналогічних показаній у других телят в групі. На вскрытіи была установлена катарально-фібринозная некротизующая пневмонія. Обширных отеков підкожної клітчаткі и множественных кровоизлияній не было. кровь не свернулаь. Основные патологоанатомические изменения регистрировались в локусах пораженной паренхимы легких. Региональные лимфоузлы были отечны, увеличены и геморрагически воспалены. На перикарде отмечали точечные кровоизлияния и фибринозные наложения. При бакисследовании свежего біоматериала была ізолирована чистая культура *P. multocida* серовар А. Культурально и біохимически ізолят полностью отвечал всем признакам пастерелл. Это были капсульные неподвижные Г-мелкіе коккобактерии, расположенные беспорядочными скоплениями или одиночно; в МПБ вызывали легкую опалесценцію и муаровые волны при встряхивании, а на МПА формировали мелкіе прозрачные росинчатые колонии. На кровяном агаре гемолиз не вызывали и росли в М-формі. Біохимические свойства соответствовали видовым особенностям – бактерии ферментировали глюкозу, галактозу, сахарозу, маннит, сорбит с образованием кислоты без газа, не сбраживали арабінозу, інулін, дульцит, салицин и рамнозу, выделяли орнітіндекарбоксилазу, індол и сероводород в незначительном количестве. Пастереллы были высоковирулентными для белых мышей,

суточная бульонная культура убивала мышей в 6-м десятикратном разведении в течение 3-х суток,  $LD_{50} = 66 \pm 11$  ЖМК с доверительным интервалом  $6,88 < 9,0 < 42,6$  ЖМК при  $P \geq 0,05$ . При этом удалось реизолировать культуру пастерелл из крови сердца агонизирующих мышей с исходной вирулентностью. В мазках-отпечатках из внутренних органов при окраске по Романовскому–Гимза обнаружили большое количество достаточно крупных полиморфных биполяров.

Бакисследование патматериала провели и от одного из 16 обследованных телят-хроников, находящихся в станке-изоляторе для больных животных. Теленок был крайне истощен, более 2-х месяцев болел хронической пневмонией, антибиотикотерапия не приносила положительных результатов, поэтому животное направили на вынужденный убой. На вскрытии констатировали лобарную гнойно-некротическую пневмонию с выраженным общим истощением. Из пораженных участков легких и региональных лимфоузлов выделили смешанную микрофлору с преобладанием гноеродных стафилококков. *P. multocida* не нашли. В крови титр противовирусных АТ к АГ вируса ПГ-3 составил  $7,0 \log_2$  или 1:128, а титры АТ к К-АГ *P. multocida* – по  $3 \log_2$  или 1:8 ко всем трем сероварам.

На свинофермах провели подобное клинико-эпизоотологическое исследование инфекционной патологии. На протяжении всего периода наблюдения перманентно регистрировались спорадические случаи бронхолегочных патологий с клинически выраженной картиной и периодически возникали ограниченные энзоотии респираторных заболеваний различной степени тяжести. У 18-месячных поросят, павших от острого течения крупозной пневмонии, из свежего патматериала (сразу после гибели) выделили из пораженных легких, регионарных лимфоузлов и селезенки *P. multocida* серовар В с вирулентностью для белых мышей  $10^{-8}$ ,  $LD_{50} = 9 \pm 2$  ЖМК с доверительным интервалом  $6,68 < 9,0 < 39,8$  ЖМК при  $P \geq 0,05$ . Все культуры были капсульными, типировались в РНГА с референс-сыворотками в высоких титрах, обладали типичными для вида морфо-тинкториальными и культурально-биохимическими свойствами. В крови павших животных в РНГА с референс-штаммами обнаружили диагностические титры АТ к К-АГ *P. multocida* всех трех сероваров. Трупы поросят были средней упитанности, анемичны, с цианозом кожи брюшной области и ушей, с многочисленными точечными кровоизлияниями в подкожной клетчатке и на серозных оболочках внутренних органов, в легких отмечали тяжелый патологический процесс – лобарную крупозную пневмонию.

Еще 18 поросят были вынужденно умертвлены в 3–4-месячном возрасте из-за некурабельного течения подострых пневмоний. Из обычного патматериала, отобранного сразу после убоя, изолировали 9 культур *P. multocida* серовара А и 8 культур *P. multocida* серовара Д. Все изолированные культуры пастерелл были патогенны для белых мышей; так

культуры серовара А убивали белых мышей в разведении до  $10^{-6}$ ,  $LD_{50} = 12 \pm 3$  ЖМК с доверительным интервалом  $8,68 < 12,2 < 58,8$  ЖМК при  $P \geq 0,05$ ; культуры серовара Д убивали белых мышей в нулевом и первом десятикратном разведении,  $LD_{50} = 18,24 \times 10^6$  ЖМК. Изолированные культуры были капсульными, типировались в РНГА с референс-сыворотками в высоких титрах, обладали типичными для вида морфотинкториальными и культурально-биохимическими свойствами. В крови больных поросят в РНГА с референс-штаммами обнаружили диагностические титры АТ к К-АГ *P. multocida* всех трех сероваров. Трупы поросят были ниже средней упитанности, анемичны, кровоизлияний под кожей не обнаружили, полосчатые крупноточечные кровоизлияния находились только на легочной плевре и предсердиях. У всех поросят на секции в легких регистрировали лобарную крупозную пневмонию.

При серологическом исследовании сыворотки крови 20 % поголовья условно здоровых поросят (без выраженных клинических признаков инфекционной патологии), отобранных методом случайной выборки, в РНГА с референс-штаммами пастерелл регистрировали диагностические титры АТ к К-АГ трех сероваров (В, А и Д) *P. multocida*. Статистических различий между количественными характеристиками титров АТ к К-АГ сероваров пастерелл в крови поросят не выявлено и с высокой вероятностью можно утверждать, что среди поросят циркулируют все три серовара пастерелл, обуславливая возникновение тяжелопротекающих пастереллезных пневмоний полисерологического происхождения.

С помощью механических мышеловок удалось отловить 68 серых мышей, провести бакисследование секционного материала и отобрать кровь для серологического скрининга противопастереллезных АТ в РНГА с референс-штаммами. В 8 % проб из печени отловленных мышей на сывороточных средах получили первичный рост *P. multocida* серовара В с типичными для вида морфотинкториальными и культурально-биохимическими свойствами. Культуры были патогенными для белых мышей в титре  $10^{-8}$ ,  $LD_{50} = 8,2 \pm 2,6$  ЖМК с доверительным интервалом  $5,88 < 8,2 < 32,34$  ЖМК при  $P \geq 0,05$ . В сыворотке крови 66 отловленных серых мышей (92 %) регистрировались АТ к серовару В в титрах 1:16 – 1:128, у 16 мышей титры АТ были сомнительными – 1:2.

Резюмируя вышеизложенное, можно констатировать, что пастереллы широко распространены в очаге респираторной инфекции банального происхождения, но эпизоотические штаммы обладают выраженной неоднородностью биологических свойств. Основным источником вирулентных клонов возбудителя являются больные и переболевшие, особенно передерживаемые хронически больные-пастереллоносители, выступающие как биологический механизм селекции циркулирующих гетерогенных вариантов пастерелл по вирулентности. Последние обладают повышенной способностью приживаться, экспоненциально размножаться

после действия биострессора (вирус ПГ-3) и колонизировать пульмональные ткани молодняка, обуславливая бронхопневмонию. Необходимы меры эпизоотологического характера, направленные на разрыв эпизоотической цепи с использованием средств специфической профилактики и купированием (удалением, обезвреживанием) источника эндогенной респираторной инфекции.

### **Выводы**

1. Эпизоотические штаммы *P. multocida* отличаются вариабельностью биологических свойств: вирулентность на традиционных лабораторных животных, что зависит от серовариантной принадлежности и коррелирует с эпизоотическим состоянием источника выделения бактерий; изоляты возбудителя полученные от реконвалесцентов и хроников-пастереллоносителей, а также животных, больных пастереллезной пневмонией, отличались высокой вирулентностью и наоборот – культуры пастерелл, изолированные со слизистой оболочки носоглотки здоровых животных, были авирулентными (серовар Д) или слабовирулентными (серовар А); серовар В у здоровых животных не встречался, изоляты, выделенные от мышей и больных животных, были высоковирулентными.

2. На основании клинко-эпизоотологических наблюдений, серомониторинга и бактериологических исследований можно утверждать, что *P. multocida* является мажорным патогеном в составе респираторного паразитоценоза и биологически неоднородным видом бактерий (что подтверждается и подвидовой реклассификацией в определителях Берджи 1997, 1999), опосредует инфекционный процесс факторного и классического видов с преобладанием в структуре инфекционной патологии респираторного тракта эндогенного факторного пульмонального пастереллеза, индуцированного сероварами Д и А.

3. Реконвалесценты-пастереллоносители переболевшие и, особенно, хронически больные при их передержке в так называемых станках-изоляторах (где осуществляется только формальное отделение, а не настоящая изоляция), являются наиболее опасными в эпизоотологическом аспекте перманентными источниками вирулентных вариантов пастерелл для постоянно поступающих молодых животных.

### **Перспективы дальнейших исследований**

Дальнейшие исследования необходимо направить на изучение возможности разрыва эпизоотической цепи эндогенных пастереллезных пневмоний факторного типа, необходимо удалять источники вирулентных пастерелл и предохранять восприимчивый молодняк средствами специфической профилактики.

Література

---

1. *Апатенко В.М.* Вирусные инфекции сельскохозяйственных животных. – Харьков, РВВ ХГЗВА, 2003. – С. 36–47.
  2. *Ашмарин И.П., Воробьев А.А.* Статистические методы в микробиологических исследованиях. – Л.: Медгиз, 1962. – 178 с.
  3. *Джушина С.И.* Теория эпизоотического процесса // *Ветеринария*. – 1997. – № 2. – С. 15–19.
  4. *Душук Р.В., Романенко Э.Е., Шапошникова Е.К., Шапошникова Л.М.* Антигенная характеристика *Pasteurella multocida* и этиологическая значимость сероваров // *ЖМЭИ*. – 1998. – № 3. – С. 108–112.
  5. *Макаров В.В., Помазков Ю.И., Панин А.Н., Бучацкий Л.П.* Неканонические патогены: вириды и трансмиссивные генетические детерминанты патогенности // *Вестник РАСХН*. – 1999. – № 6. – С. 24–28.
  6. *Макаров В.В., Гусев А.А., Панин А.Н. и др.* Трансмиссивные генетические детерминанты патогенности // *Ветеринария*. – 2000. – № 3. – С. 16–21.
  7. *Определитель бактерий Берджи: Пер. с англ. / Под ред. Дж.Хоула, Н.Крига, П.Снита, Дж.Стейли, С.Уилльямса.* – М.: Мир, 1997. – Т. 1. – С. 200–203, 281–289.
  8. *Определитель нетривиальных патогенных грамотрицательных бактерий: Пер. с англ. / Р.Вейант, У.Мосс, и др. / Под ред. Дж.Хоулта.* – М.: Мир, 1999. – 700 с.
  9. *Факторні хвороби сільськогосподарських тварин / В.П. Литвин, Л.В. Олійник, Л.Є. Корнієнко та ін.; За ред. В.П. Литвина, Л.Є. Корнієнко.* – Біла Церква, 2002. – С. 275–298.
  10. *Haemorrhagic septicaemia / OIE Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals Fifth Edition.* – 2004. – Vol. 1. – Pp. 537–548.
  11. *Carter G.* A haemagglutination test for the identification of serological types // *Am. Journ. vet. res.* – 1955. – № 16. – Pp. 481–484.
  12. *Iordache A., Ungureanu C., Putsche R und Schimmel D.* Empfenlungen zur Isolierung und Differenzierung von *Pasteurella multocida* // *Arch. Exp. Vet.-med.* – 1980. – Bd. 34. – № 5. – S. 753–758.
-