

УДК 619:616.9:636.4

І. К. АВДОС'ЄВА¹, кандидат ветеринарних наук
О. С. КАЛІНІНА², кандидат ветеринарних наук
В. В. РЕГЕНЧУК¹, М. В. ЮРКЕВИЧ¹

Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів та кормових добавок (м. Львів)

²Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій ім. С.З. Гжицького (м. Львів)

ЕТИОЛОГІЯ ТА ЛАБОРАТОРНА ДІАГНОСТИКА АСОЦІЙОВАНИХ РЕСПІРАТОРНО-КИШКОВИХ ІНФЕКЦІЙ ПОРОСЯТ

Встановлено участь вірусів парагрипу, аденовірусу, ротавірусу та симбіонтної мікрофлори в етіопатогенезі респіраторно-кишкових інфекційних хвороб поросят.

Ключові слова: асоційовані респіраторно-кишкові інфекції поросят, віруси, бактерії, серологічні реакції, антигени, антитіла.

Значних економічних збитків свинарству завдають респіраторно-кишкові інфекційні хвороби поросят, яким властива полі-етіологічна структура. В останні роки часто реєструють асоційовані інфекції, спричинені різними збудниками вірусно-бактеріальної етіології, що утворюють стійкий паразитоценоз [1, 4–7]. Серед важливих факторів, які сприяють захворюванню поросят пневмоентеритами, є висока концентрація мікроорганізмів у повітрі і на внутрішньому обладнанні, загазованість повітря аміаком, низька температура та висока вологість повітря приміщень. Окрім цього, вакцини часто не збігаються з антигенними детермінантами збудників, які циркулюють у господарствах [2, 3].

Кожна конкретна вірусно-бактеріальна асоціація має свої особливості, що залежить від біологічних властивостей патогенів, їхньої сумісності та взаємодії, антигенної спорідненості й відмінностей. При змішаній інфекції можуть не збігатися піки впливу на організм окремих патогенів і значно варіюють тяжкість перебігу захворювання та прояв клінічних ознак. До змішаних інфекцій більш чутливі молоді тварини, що зв'язано, очевидно, з наявністю в дорослих тварин імунітету (після інфекційного або після вакцинного).

Змішані інфекції потребують ретельного вивчення. У зв'язку з цим зростає значення лабораторної діагностики. Серйозні проблеми виникають при ідентифікації збудників асоційованих інфекцій, оскільки непросто зрозуміти, який саме патоген є основним у конкретному випадку. При асоційованих інфекціях не завжди вдається ізолювати віруси, і часто їхня первинна етіологічна роль залишається нез'ясованою внаслідок постановки діагнозу на бактеріальні хвороби. У зв'язку з цим при плануванні протиепізоотичних заходів необхідно проводити комплексні діагностичні дослідження (бактеріологічні, вірусологічні, серологічні) для розшифрування етіологічної структури конкретного спалаху інфекційного захворювання і встановлення ролі кожного інфекційного агента.

Мета роботи – встановити етіологію асоційованих респіраторно-кишкових інфекцій поросят у господарствах Львівської області й дати порівняльну оцінку методам лабораторної діагностики.

Матеріали і методи.

Для бактеріологічного і вірусологічного дослідження від 46 поросят 3–16-тижневого віку, загиблих з ознаками ураження респіраторного і травного трактів, відбирали наступний патологічний матеріал: проби слизової оболонки носа, трахеї та кишечника, паренхіматозні органи, середостінні та брижійні лімфовузли. Для ретроспективної діагностики від 54 поросят-реконвалесцентів відбирали парні сироватки крові з інтервалом 10–14 доби. Одночасно проводили серологічні дослідження сироваток крові від 18 клінічно здорових свиноматок.

Бактеріологічне дослідження патологічного матеріалу здійснювали за такими методами: 1) мікроскопія препаратів (фарбування за Грамом); 2) виділення чистих культур бактерій (посіви на МПА, МПБ, елективні середовища Ендо, Плоскірева, Кеслера, вісмут-сульфітний агар), біохімічна ідентифікація бактерій за допомогою комерційної індивідуальної тест-системи API RapID 20E Biomerieux (Франція) та тест-системи для ідентифікації стрептококів МТС–стреп і стафілококів МТС–С (Росія); 3) серологічна ідентифікація бактерій у РА за допомогою наборів аглютинуючих О-колі і сальмонельозних О-комплексних сироваток; 4) визначення чутливості бактерій до антибіотиків за допомогою диско-дифузного методу; 5) постановка біопроби на білих мишках масою 16–18 г шляхом внутрішньочеревного зараження в дозі 0,5 см³ добової бульйонної культури з концентрацією 500 мікробних клітин.

Експрес-діагностика вірусних інфекцій базувалася на ідентифікації методами РІФ і твердофазного ІФА антигенів вірусів грипу, парагрипу, хвороби Ауескі, аденовірусу, ротавірусу, вірусів епідемічної діареї та інфекційного гастроентериту свиней. Ретроспективна діагностика базувалася на виявленні антитіл у РЗГА та непрямим методом твердофазного ІФА[1]. Серологічні реакції ставили за загальноприйнятими методиками з використанням діагностичних тест-систем виробництва НВО “НАРВАК” та АНО “НДІ ДПХ” (м. Москва, Росія).

Результати дослідження. Епізоотологічне дослідження в 5 господарствах Львівської області показало, що захворюваність серед поросят-сисунів досягала 45,6–72,1 %, летальність – 20,6–28,3 %. У відлучених поросят ці показники становили відповідно 51,2–70,4 % і 12,5–17,8 %, а в підсвинків – 30,4–41,9 % і 4,8–7,6 %. Свиноматки були клінічно здоровими.

Результати бактеріологічного дослідження патматеріалу загиблих поросят подані в таблиці 1.

При бактеріологічному дослідженні патологічного матеріалу загиблих поросят ізолювано 268 культур патогенних та умовно-патогенних бактерій. Найвищий відсоток ізолюваних культур становили: *E. coli* (частіше серогруп О8 і О26, рідше – О111, О138), *S. aureus*, *P. aeruginosa*,

S. epidermidis, *P. vulgaris*. При цьому зазначені бактерії ізолювали з печінки (33,1%), брижійних лімфовузлів (13,2%), легенів (15,8%), селезінки (9,2%), дещо рідше із середостінних лімфовузлів (6,8%) і нирок (5,7%). Крім того, 1,5% культур було представлено неідентифікованою коковою мікрофлорою (диплококи, стрептококи). Фактично, з патологічного матеріалу загиблих поросят виділено симбіонтну мікрофлору, яка трапляється серед клінічно здорових свиней.

**Результати бактеріологічного дослідження патологічного матеріалу
загиблих поросят 3–16-тижневого віку**

Види мікроорганізмів	Кількість тварин n=46	Кількість культур n=268
<i>E. coli</i>	31 (67,4%)	114 (42,5%)
<i>Staphylococcus aureus</i>	25 (54,3%)	41 (15,3%)
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	15 (32,6%)	24 (8,9%)
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	11 (23,9%)	12 (4,5%)
<i>Streptococcus pyogenes</i>	5 (10,9%)	5 (1,9%)
<i>Pasteurella multocida</i>	10 (21,7%)	8 (3,0%)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	21 (45,7%)	30 (11,2%)
<i>Proteus vulgaris</i>	12 (26,1%)	10 (3,8%)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	8 (17,4%)	6 (2,2%)
<i>Clostridium perfringens</i>	12 (26,1%)	9 (3,3%)
<i>Yersinia enterocolitica</i>	7 (15,2%)	5 (1,9%)
Неідентифіковані коки	9 (19,6%)	4 (1,5%)

З виділених мікробних культур патогенними для білих мишей при внутрішньо-черевному зараженні виявилися *E. Coli*, *P. multocida*, *S. pneumoniae*, *S. aureus*, *K. pneumoniae* і *S. pyogenes*. Ізольовані штами бактерій характеризувалися низькою вірулентністю, спричинюючи загибель лабораторних тварин через 72–96 годин після зараження. Проте, як відомо, симбіонтна мікрофлора виступає в ролі патогенного агента в умовах змішаної інфекції на фоні цитодеструктивної дії вірусів та ослабленої резистентності організму [1, 5, 6].

Слід зауважити, що від поросят, незалежно від форми прояву інфекційного процесу, ізолювали в основному однакову мікрофлору. При кишковій формі домінували *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. epidermidis*, *C. perfringens*; при респіраторній формі – *E. coli*, *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *S. epidermidis*; при пневмо-ентеритах – *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *S. Epidermidis*, *C. perfringens*.

Чутливість виділених мікробних культур до антибіотиків була різною залежно від виду мікроба та антибіотика. Величина зони затримки росту коливалася в межах від 14 мм до 26 мм. Найбільш ефективними антибіотиками виявилися ампіцилін, доксицилін, офлоксацин, гентаміцин, енроксіл, енробіофлос, еритроміцин, неоміцин, поліміксин, колістин ,що були рекомендовані для проведення терапевтичних заходів.

Результати дослідження патологічного матеріалу загиблих поросят на наявність вірусних антигенів подані в таблиці 2.

За даними експрес-діагностики вірусних пневмо-ентеритів поросят, у патологічному матеріалі загиблих тварин ідентифіковано антигени вірусів парагрипу (34,8 %), аденовірусу (23,9,5 %) і ротавірусу (41,3 %). Найбільша концентрація вірусних антигенів спостерігалася в пробах слизової оболонки носа (вірус парагрипу та аденовірус) і тонкого кишечнику (ротавірус). У 8 тварин (7,7 %) виявлена асоціація вірусів парагрипу та аденовірусу. Встановлена повна кореляція результатів,

отриманих методами РІФ та ІФА. Антигенів вірусів грипу, хвороби Ауескі, епідемічної діареї та інфекційного гастроентериту свиней не виявлено.

Таблиця 2

Результати ідентифікації вірусних антигенів у патологічному матеріалі загиблих поросят 3–16-тижневого віку, n=46

Назви вірусів	РІФ	ІФА
<i>Вірус грипу</i>	–	–
<i>Вірус парагрипу</i>	16 (34,8%)	16 (34,8%)
<i>Аденовірус</i>	11 (23,9%)	11 (23,9%)
<i>Вірус хвороби Ауескі</i>	–	–
<i>Ротавірус</i>	19 (41,3%)	19 (41,3%)
<i>Вірус епідемічної діареї</i>	–	–
<i>Вірус інфекційного гастроентериту</i>	–	–

Результати серологічних досліджень сироваток крові поросят, що перехворіли з ознаками пневмо-ентериту, подані в таблиці 3.

Таблиця 3

Результати досліджень сироваток крові поросят-реконвалесцентів (M ± m, n=54)

Назви вірусів	Серологічні реакції	Сироватка № 1		Сироватка № 2	
		позитивні	Титр антитіл, log ₂	позитивні	Титр антитіл, log ₂
<i>Грипу</i>	РЗГА	6 (11,1%)	3,7 ± 0,26	6 (11,1%)	3,9 ± 0,32
	ІФА	8 (14,8%)	6,9 ± 0,31	8 (14,8%)	7,0 ± 0,26
<i>Парагрипу</i>	РЗГА	7 (13,0%)	3,6 ± 0,22	29 (53,7%)	6,2 ± 0,22
<i>Аденовірус</i>	РЗГА	5 (9,3%)	3,8 ± 0,25	21 (38,9%)	5,9 ± 0,28
<i>Хвороби Ауескі</i>	ІФА	–	–	–	–
<i>Ротавірус</i>	РЗГА	11 (20,4%)	4,0 ± 0,19	25 (46,3%)	5,9 ± 0,28
	ІФА	14 (25,9%)	6,2 ± 0,23	28 (51,8%)	9,8 ± 0,26
<i>Епідемічної діареї</i>	ІФА	–	–	–	–
<i>Інфекційного гастроентериту</i>	РЗГА	–	–	–	–
	ІФА	–	–	–	–

На початку хвороби у поросят 3–16-тижневого віку виявлені антитіла до вірусів грипу (14,8 %), парагрипу (13,0 %), аденовірусу (9,3 %) і ротавірусу (25,9 %). Ці антитіла молозивного походження, оскільки частина свиноматок була серопозитивною внаслідок раніше перенесеного захворювання або латентного вірусоносійства (табл. 4).

На стадії видужання в поросят відмічали діагностичне зростання титру антитіл до вірусів парагрипу (53,7 %), аденовірусу (38,9 %) і ротавірусу (51,8 %), причому в 13 тварин (24,1 %) встановлено сероконверсію до двох вірусів (вірус парагрипу + аденовірус, аденовірус + ротавірус), а в 3 тварин (5, 6%) – до трьох вірусів (вірус парагрипу + аденовірус + ротавірус). У поросят з асоційованою інфекцією відмічено важчий перебіг хвороби і вища летальність.

Діагностичного зростання титру антитіл до вірусу грипу у перехворілих тварин не виявлено.

Встановлено кореляцію результатів РЗГА та ІФА при серологічній діагностиці грипу і ротавірусної інфекції поросят. Проте показники титру антитіл в ІФА перевищували дані РЗГА відповідно на $3,1-3,4 \log_2$ і $2,2-3,9 \log_2$, а рівень серопозитивності тварин – на 3,7 % і 5,5 %.

Антитіл до вірусів хвороби Ауескі, епідемічної діареї та інфекційного гастроентериту у перехворілих поросят не виявлено.

Встановлено кореляцію результатів серологічного дослідження поросят-реконвалесцентів та клінічно здорових свиноматок (табл. 4).

Таблиця 4

Результати досліджень сироваток крові від клінічно здорових свиноматок, ($M \pm m$, $n=18$)

Назви вірусів	Серологічні реакції	Серопозитивність	Титр антитіл , \log_2
<i>Вірус грипу</i>	РЗГА	5 (27,8%)	$4,8 \pm 0,25$
	ІФА	7 (38,9%)	$7,6 \pm 0,32$
<i>Вірус парагрипу</i>	РЗГА	8 (44,4%)	$5,9 \pm 0,36$
<i>Аденовірус</i>	РЗГА	9 (50,0%)	$6,6 \pm 0,24$
<i>Вірус хвороби Ауескі</i>	ІФА	–	–
	РЗГА	6 (30,0%)	$5,3 \pm 0,28$
<i>Ротавірус</i>	ІФА	7 (38,9%)	$7,4 \pm 0,26$
	РЗГА	–	–
<i>Вірус епідемічної діареї</i>	ІФА	–	–
<i>Вірус інфекційного гастроентериту</i>	РЗГА	–	–
	ІФА	–	–

У клінічно здорових свиноматок виявлені антитіла до вірусів грипу (38,9%), парагрипу (44,4%), аденовірусу (50,0%) та ротавірусу (38,9%), причому в 4 тварин (22,2%) встановлено сероконверсію до двох вірусів (вірус грипу + вірус парагрипу, вірус парагрипу + аденовірус, аденовірус + ротавірус, вірус парагрипу + ротавірус).

Показники титру антитіл до вірусу грипу і ротавірусу в ІФА перевищували дані РЗГА відповідно на $2,8 \log_2$ і $2,1 \log_2$, а рівень серопозитивних тварин – на 11,1% і 8,9%.

Заходи щодо попередження потрапляння збудників у благополучні господарства повинні базуватися на серологічному обстеженні всіх новоприбулих тварин, дотриманні ветеринарно-санітарних і зоогігієнічних вимог. Застосовувати антибіотики можна тільки після встановлення чутливості до них виділених культур бактерій, які циркулюють у господарствах.

Висновки. В етіопатогенезі респіраторно-кишкових інфекційних хвороб поросят у господарствах Львівської області встановлено участь вірусу парагрипу, аденовірусу та ротавірусу в асоціації з патогенною та умовно-патогенною мікрофлорою.

Пропозиції виробництву. З метою профілактики респіраторно-кишкових захворювань при плануванні протиєпізоотичних заходів необхідно проводити комплексні діагностичні дослідження (бактеріологічні, вірусологічні, серологічні) для розшифрування етіологічної структури конкретного спалаху інфекційного захворювання і встановлення ролі кожного інфекційного агента.

Перспективи подальших досліджень. Одержані нами результати досліджень підтверджують про необхідність вивчення етіології респіраторно-кишкових захворювань серед поросят. Це дасть змогу розробити науково-обґрунтовані заходи з профілактики та лікування респіраторно-шлункових захворювань поросят.

1. Вирусные болезни животных / В. Н. Сюрин, А. Я. Самуйленко, Б. В. Соловьёв, Н. В. Фомина. – М.: ВНИТИБП, 1998. – 928 с.

2. *Кліменко С. С.* Етіологія та удосконалення специфічної профілактики пневмоентеритів поросят, спричинених патогенною та умовно патогенною мікрофлорою. – Автореф. дис. канд. вет. наук 16.00.03 / ОДАУ НААН України. – Одеса, 2011. – 20 с.

3. *Кліменко С. С.* Умовно патогенні бактерії в етіології шлунково-кишкових захворювань поросят // Науковий вісник ЛНУВМБТ ім. С.З.Гжицького. – Львів, 2008. – Т. 10, № 2 (37). – С. 113–116.

4. *Міланко Г. О., Авраменко Н. О.* Лабораторна діагностика респіраторних хвороб свиней // Вісник СДАУ. – Суми, 1999. – № 3. – С. 60–63.

5. Паразитоценози сільськогосподарських тварин / А. Ф. Руденко, П. А. Руденко, А. А. Руденко та ін. // Збірник наукових праць ЛНАУ. Ветеринарні науки. – Луганська, 2006. – № 69 (92). – С. 201–210.

6. *Прискока В. А., Собко Ю. А.* Смешанные инфекции у свиней // Сучасна ветеринарна медицина. – 2005. – № 5. – С. 13–16.

7. *Руденко А. Ф., Руденко П. А., Кліменко С. С.* Этиологическое значение условно патогенных микроорганизмов при бактериальных инфекциях в промышленном свиноводстве // Збірник наукових праць ЛНАУ. Ветеринарні науки. – Луганська, 2007. – № 78 (101). – С. 525–529.

ЭТИОЛОГИЯ И ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА АССОЦИИРОВАННЫХ РЕСПИРАТОРНО-КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ ПОРΟΣЯТ/ И. К. Авдосьева, О. С. Калинина, В. В. Регенчук, М. В. Юркевич

Установлено участие вирусов парагриппа, аденовируса, ротавируса и симбионтной микрофлоры в этиопатогенезе респираторно-кишечных инфекционных заболеваний поросят.

Ключевые слова: ассоциированные респираторно-кишечные инфекции поросят, вирусы, бактерии, серологические реакции, антигены, антитела.

ETIOLOGY AND LABORATORY DIAGNOSTIC OF PIGLETS' ASSOCIATED RESPIRATORY INTESTINAL INFECTIONS

(I. K. Avdosjeva, O. S. Kalinina, V. V. Rehenchuk, M. V. Yurkevich)

There was determined participation of parainfluenza viruses, adenoviruses, rotaviruses and symbiont microflora in the ethiopathogenes of piglets' respiratory intestinal infectious disease.

Key words; piglets' associated respiratory intestinal infections, viruses, bacterium, serologic reaction, antigens, antibodies.

Рецензент — кандидат ветеринарных наук А. И. Падовский