

вакцины против ИРТ, ВД, рота- и коронавирусной инфекций КРС [Текст] / П.А. Красочко, И.А. Красочко, С.С. Кабась // Вет. Медицина. – Харьков, 2005. – 85 (1). – С. 620-623. 7. Сюрин, В.Н. Диагностика вирусных болезней [Текст] / В.Н. Сюрин.- М., 1998.- С.116-130. 8. Андреев, Е.В. Инфекционный ринотрахеит – пустулезный вальвовоагинит [Текст] / Е.В. Андреев, В.С. Блоконь, О.О. Кучерявенко. – К.: Урожай, 1975. – 135 с. 9. Этиология и профилактика болезней сельскохозяйственных животных: [Текст] Книга. / Под ред. В. Н. Трефилова. – Пермь, 1979, – 27 с. 10. Инфекционный ринотрахеит – пустулезный вальвовоагинит (баланопостит) крупного рогатого скота: диагностика, профилактика, меры борьбы [Текст] / Е. В. Андреев, Н. П. Четчина, П. П. Фукс и др. – Метод. рекомендации – Х., 1990. – 25 с. 11. Инструкция про заходи з профілактики та боротьби з інфекційним ринотрахеїтом- пустульозним вальвовоагінитом (баланопоститом) великої рогатої худоби [Текст] / Четчинка Н. П., Фукс П. П., Бусол В. О. та інш. – Вет. мед. України, № 4. – 2001. – с. 45-47.

VIRAL AND BACTERIAL INFECTIONS IN PATHOLOGY OF REPRODUCTION OF CATTLE

Chechiotkina N.P., Pavlenko M.P., Makeev V.F., Danilova I.S., Ivanenko V.A.,
Yermolenko A.V., Ribas O.V.

NSC «Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine», Kharkov

Information concerning researches of the last years expounded on spread, diagnostics, prophylaxis and treatment cattle reproduction during the outbreaks of the mixed infections of viral and bacterial etiology (IRT, VD, Chlamydiosis), is presented in the paper.

УДК 619:616-078.33:636

МЕТОД ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ КАК СРЕДСТВО МОНИТОРИНГА И ДИАГНОСТИКИ НАРУШЕНИЙ РЕПРОДУКТИВНОЙ ФУНКЦИИ У ЖИВОТНЫХ

Шабунин С.В., Ефанова Л.И., Пасько Н.В.

Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии,
фармакологии и терапии, г. Воронеж, Россия

В настоящее время молекулярная и молекулярно-генетическая диагностика имеют решающее значение при определении новых типов клеток, их рецепторов, анализа РНК и ДНК, ферментов, гормонов, молекулярных (метаболических) основ болезней, их эволюции, а также разработке проблем биологической безопасности, связанной с фальсификацией и получением генно-модифицированных продуктов питания, их мониторинга. Основной принцип диагностики базируется на том, что метод исследования живых систем (процессов) должен соответствовать природе и уровню организации изучаемого объекта (клеточной, органной, организменной, популяционной) [3, 6]. Особенность объектов исследования, каковыми являются процессы инфекционной патологии (инфекционный, иммунный и эпизоотический), заключается в том, что эти процессы тесно взаимосвязаны, взаимообусловлены, разнонаправлены, характеризуются и определяются комплексом генотипических и паратипических факторов. Чтобы разобраться в сущности этих процессов, необходимо выяснить причины их возникновения и проявления, внутренние противоречия и тенденцию развития [1, 2]. Особенностью инфекций, значительно усложняющих эпизоотологический надзор за ними, является часто хроническое, со стертой клинической картиной или латентное их течение.

Одним из наиболее перспективных методов прямой диагностики инфекций следует считать специфическую амплификацию нуклеиновых кислот *in vitro* и, в частности, наиболее разработанный вариант этой амплификации - метод полимеразной цепной реакции (ПЦР). Полимеразная цепная реакция обладает высокой чувствительностью и в то же время не требует, подобно серологическим методам, наличия иммунного ответа на проникновение возбудителя в организм хозяина, что дает возможность следить за ранними стадиями инфекции и выявлять ее латентное течение. Данный метод дает возможность непрерывного слежения за процессами, которые включают в себя не только контроль за циркуляцией инфекции, но и комплексом природно-климатических и хозяйственно-экономических факторов, способствующих

ших развитию и проявлению болезней (4, 5, 6). Анализ и обобщение накопленной информации, как важный этап мониторинга, должен быть своевременным, полным, достоверным и носить комплексный характер.

Задачей наших исследований было изучение инфицированности спермы хряков, влагалищных смывов больных эндометритом свиноматок и коров, абортированных плодов свиноматок и крупного рогатого скота из 13 свиноводческих и 9 скотоводческих хозяйств России, в которых отмечались нарушения репродуктивной функции у животных.

Материалы и методы. Исследования проведены в лаборатории диагностики инфекционных и инвазионных болезней животных испытательного центра ГНУ ВНИВИПФиТ в 2008-2009 г.г. В мониторинге инфекционных заболеваний животных использовали патологический материал, сперму, влагалищные смывы, абортированные плоды от свиноматок и крупного рогатого скота. Молекулярно-генетическому исследованию подвергнуто 188 проб, в том числе 55 проб спермы хряков, 54 влагалищных смывов свиноматок, 25 влагалищных смывов коров, 44 абортированных плодов свиноматок и 10 абортированных плодов коров. Указанные пробы, взятые от свиней, были исследованы на наличие геномов вирусов РРСС, ЦВС-2, КЧС, коронавируса, листерий, хламидий, микоплазм, кампилобактерий; пробы от крупного рогатого скота - вирусов ИРТ, ВД-БС, ПГ-3, хламидий, лептоспир, микоплазм, листерий, кампилобактерий.

Молекулярно-генетические исследования проводили в соответствии с наставлениями к использованному в работе тест-системам производства ФГУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, г. Москва, НПО НАРВАК, г. Москва. Полимеразная цепная реакция проводилась на амплификаторе «Терцик», производства фирмы «ДНК-технологии».

Результаты и обсуждение. Проведенные исследования показали, что в нарушении репродуктивной функции у свиней принимают участие такие возбудители, как: РРСС, ЦВС-2, хламидии, микоплазмы, кампилобактерии (таб.1); у крупного рогатого скота - вирусы ИРТ, ВД-БС, ПГ-3, хламидии, кампилобактерии (таб.2)

В патматериале от свиней установлена контаминация одновременно двумя-тремя патогенами. Так, в такнях абортплодов ЦВС-2 выявлен в сочетании с вирусом РРСС, микоплазмами; микоплазмами и хламидиями; микоплазмами и кампилобактериями, и лишь в 12,6% самостоятельно. Из спермы хряков ЦВС-2 обнаружен в сочетании с вирусом РРСС и респираторным коронавирусом, а в 27,5% - самостоятельно. Из влагалищных смывов свиноматок геном того или иного патогенна изолирован самостоятельно, однако, в одном хозяйстве от разных животных обнаружены одновременно микоплазмы и хламидии, микоплазмы и вирус РРСС.

Таблица 1 – Характер контаминации спермы хряков, влагалищных смывов и абортплодов свиноматок

№ п/п	Патогены	% положительных проб		
		Абортплоды	Влагалищные смывы	Сперма
1.	Вирус РРСС	29,5	5,6	3,6
2.	Цирковироз свиней-2	48,7	0	34,8
3.	Вирус КЧС	0	н/и*	0
4.	Лептоспиры	0	0	0
5.	Листерии	0	н/и	н/и
6.	Хламидии	6,8	18,4	0
7.	Микоплазмы	10,0	44,4	4,8
8.	Кампилобактерии	2,9	0	0
9.	Вирус ТГС	н/и	н/и	0
10.	Респираторный КВС	н/и	н/и	7,3

Примечание: * – не исследованы.

Таблица 2 – Характер контаминации абортплодов и влагалищных смывов коров

№ п/п	Патогены	% положительных проб	
		Абортплоды	Влагалищные смывы
1.	Вирус ИРТ	20	8
2.	Вирус диареи (ВД-БС)	10*	12
3.	Вирус ПГ-3	10*	0
4.	Лептоспиры	0	0
5.	Листерии	0	н/и
6.	Хламидии	10	36
7.	Микоплазмы	0	0
8.	Кампилобактерии	10	0

Примечание: * – геном возбудителя выделен из тканей мертворожденного теленка.

В целом инфицированность абортплодов установлена в 59 % случаев от числа исследованных. По результатам иммуноферментного анализа (ИФА) сывороток крови хряков, свиноматок выявлена разная степень циркуляции среди животных вирусов РРСС, ЦВС-2 (уровень серопозитивности от 10-15% до 100%).

Увеличение случаев абортов среди свиноматок проходило на фоне поступления в их организм с кормом фузариозных микотоксинов, в том числе зеараленона (от 0,02 мг/кг корма), Т-2 токсина (0,1 мг/кг), либо одновременного присутствия этих и других (ДОН, фумонизин В₁, охратоксин А₁) микотоксинов в меньших концентрациях.

У крупного рогатого скота установлена инфицированность влагалищных смывов больных эндометритом первотелок и (или) абортированных плодов в 4-х из 9 хозяйств. При этом у животных в одном хозяйстве одновременно в течение года выделялись геномы таких возбудителей как хламидии, затем вирусы ИРТ, ВД-БС; в 2-х хозяйствах – геномы вирусов ИРТ и ВД-БС; в одном - геном кампилобактерий и ПГ-3. Указанные патогены выявлены в четырех хозяйствах, в которые были завезены нетели из-за рубежа и среди них в первые 3-4 месяца с момента поступления регистрировалась респираторная патология, аборты, а после отела – эндометриты. Активная циркуляция выявленных патогенов подтверждена результатами серологических исследований сыворотки крови: 80-100 % серопозитивность, высокие титры специфических антител.

Таким образом, полученные результаты молекулярно-генетических исследований патматериала от свиней, крупного рогатого скота при нарушении у них репродуктивной функции указывают на участие в развитии этой патологии, как правило, одновременно нескольких инфекционных агентов. Активизации инфекционного и эпизоотического процессов, обусловленных циркуляцией среди животных выявленных патогенов, способствовало негативное влияние на организм различных неблагоприятных факторов, снижающих естественную резистентность (стрессы, наличие микотоксинов в кормах).

Снижение резистентности организма происходит и в результате патогенного действия самих возбудителей. Сопутствующими развитию болезней факторами являются нарушения обмена веществ, вследствие дисбаланса питательных веществ, витаминов, макро-, микроэлементов в рационе, нарушение гигиены содержания животных и проведения опоросов и отелов.

Список литературы

1. Дмитриев, А.Ф. Особенности патогенеза и мониторинг хронических заболеваний / А.Ф. Дмитриев // Современные проблемы патологической анатомии, патогенеза и диагностики болезней животных. Сборник научных трудов. – Ставрополь, 2007. – С.3-10. 2. Глик, Б., Пастернак, Дж. Молекулярная биотехнология. Принципы и применение. Пер. с англ. / Б. Глик, Дж. Пастернак – М.: Мир, 2002. – 589 с.
3. Жаров, А.В. Проблемы и перспективы развития общей патологии и патологической анатомии животных / А.В. Жаров // Современные проблемы патологической анатомии, патогенеза и диагностики болезней животных. Сборник научных трудов. – Ставрополь, 2007. – С.3-10. 4. Патрушев, Л. И. Искусственные генетические системы / Л.И. Патрушев – М.: Наука, 2005 – В 2 т; 5. Садчикова, С.В. Эпизоотический мониторинг инфекционных болезней животных на основе молекулярно-генетических методов исследования / С.В. Садчикова, Е.Н. Шилова // Ветеринарный доктор – Екатеринбург, 2009, № 4; 6. Щелкунов С. Н. Генетическая инженерия / С.Н. Щелкунов – Новосибирск: Сиб. унив. изд-во, 2004.

POLYMERASE CHAIN REACTION AS AN ASSAY FOR MONITORING AND DIAGNOSTICS OF REPRODUCTIVE FUNCTION DISTURBANCES IN LIVESTOCK

Shabunin S.V., Efanova L.I., Pasko N.V.

Russian Research Veterinary Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy, Voronezh, Russia

Abortion fetuses, sheath's outwashes of sows and heifers, and boars' sperm were examined by polymerase chain reaction. We established that they had been infected simultaneously by several pathogens as a rule. In pigs, the major role in reproductive pathology play SRRS, SCV-2, chlamidia, mycoplasmas and, less often, campilobacteria; in cows there were BHV, VD, chlamidia and, more seldom, PF-3 and campilobacteria.

УДК 619:615.28:665.65

МЕТОДОЛОГІЧНІ ТА МЕТОДИЧНІ АСПЕКТИ ЩОДО СИНТЕЗУ І СКРИНІНГУ ХІМІЧНИХ РЕЧОВИН ПРОТИМІКРОБНОЇ СПРЯМОВАНОСТІ

Шатіло Ю.В., Волянський А.Ю., Воропай А.Ю., Вальчук С.І., Руденко Л.М., Волков А.О., Мізін В.В., Волков Т.О., Кучма І.Ю.

Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова АМН України, м. Харків

Означено сучасні методологічні та методичні підступи щодо направленої синтезу, мікробіологічного, фармакологічного та токсикологічного скринінгу хімічних речовин, на основі яких в найближчій перспективі є можливим конструювання нових, більш ефективних та менш токсичних протимікробних засобів різного походження.

Методологічні аспекти синтезу нових хімічних сполук з протимікробною дією передбачають, перш за все, мікробіологічний скринінг. Не дивлячись на наявність вельми широкого арсеналу протимікробних засобів, потреба в нових, більш ефективних і менш токсичних, очевидна і сьогодні, і в оглядовому майбутньому. Вказане обумовлено цілим рядом вагомих причин, серед яких на першому плані стоїть інтенсивне розповсюдження штамів збудників інфекційних та гнійно-запальних процесів, полірезистентних до хімотерапевтичних засобів, що вже широко використовуються в медичній та ветеринарній практиці. Антибіотики природного походження, які в більшості випадків являють собою препарати вибору по специфічній дії, частіше за інші хімотерапевтичні препарати призводять до формування і дисемінації стійких варіантів інфекцій, які були викликані клінічно та епідеміологічно значущими збудниками [1 - 3].

Розповсюдженням напрямком удосконалення підступів до раціональної хімотерапії є модифікація антибіотиків, які на протязі десятиріч використовувалися в практиці, з метою підвищення природної їх активності та ефективного використання в новій якості. Враховуючи, що стійкість мікробів до них базується на хромосомних мутаціях і/або генетичних змінах плазмідного характеру, в тому чи іншому випадках мова іде про зміну субклітинних молекулярних структур ДНК. Одним з перспективних способів боротьби з поширенням резистентності мікробів є використання ДНК-тропних сполук в якості одного з компонентів (добавки) лікарської форми антибіотику. Вказані ДНК-тропні сполуки (наприклад, похідні хінолону і акридину) з вираженими потенційними можливостями елімінації плазмід резистентності вже достатньо вагомо зарекомендували себе і цей напрямок інтенсивно розробляється ученими далекого та близького зарубіжжя [4]. На превеликий жаль, в Україні зустрічаються лише поодинокі роботи по проблемі компонування лікарських форм антибіотиків з елімінаторами К.-плазмід. Завданням нашого дослідження є заповнення цієї прогалини.

Експериментально доведено можливості похідних акрихіну, акрифлафіну та акридину в низьких дозах попереджувати стійкість до аміноглікозидів, рифампіци-