

УДК 636.7:619

МИКОПЛАЗМЕННО-СТАФИЛОКОККОВАЯ ИНФЕКЦИЯ У СОБАК (КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ)

Метлева Анастасия Сергеевна*кандидат ветеринарных наук, Кузбасская государственная сельскохозяйственная академия, г. Кемерово, Россия, zveryiski@mail.ru***Ротова Анисья Юрьевна***аспирант, Кузбасская государственная сельскохозяйственная академия, г. Кемерово, Россия, Anisyaschukina@yandex.ru***Мга Дарья Вячеславовна***студент, Кузбасская государственная сельскохозяйственная академия, г. Кемерово, Россия, mgaIdariya@gmail.com*

Аннотация. В настоящее время воспалительные процессы урогенитального тракта собак, возбудителями которых является облигатный внутриклеточный паразит рода *Mycoplasma* spp. и условно-патогенный микроорганизм рода *Staphylococcus* spp., имеют широкое распространение. *Mycoplasma* spp. может передаваться от больных животных с бессимптомным или атипичным протеканием инфекции, активно используемых в разведении собак. Патологический процесс микоплазмоза проявляется в воздействии на иммунную систему и снижении резистентности организма животного к другим инфекционным агентам. Таким образом, данная инфекция в чистом виде находится только на ранних сроках заболевания. Затем к микоплазменной инфекции часто присоединяется стафилококковая инфекция, проявляющая повышенные вирулентные свойства, что приводит к осложнениям течения болезни и даже летальным исходам.

Микоплазменная инфекция, в сочетании со стафилококковой, передается от ценной суки потомству, вызывая внутриутробное инфицирование щенков, выражающееся рождением больного, мертвого потомства или вызывает высокую смертность в первые дни жизни щенков. Патологоанатомическая картина при вскрытии потомства указывает на септические процессы во внутренних органах: печень, селезёнка, почки, миокард в состоянии дистрофии, головной мозг отечный с кровенаполненными сосудами. Патологоанатомическая картина обусловлена токсинами, продуцируемыми микроорганизмами *Staphylococcus aureus* и *Enterococcus* spp. Лабораторными методами установлено наличие токсинов: гемолизин и лецитинвитаза. ПЦР-диагностика установила наличие *Mycoplasma* spp.

Осуществляя лабораторную диагностику заболеваний репродуктивного тракта у сук и выясняя причины падежа щенков, необходимо прибегать не только к бактериологическим методам, но так же использовать ПЦР-диагностику на скрытые инфекции. Подобный подход обеспечит объективность диагностики, выявление основных, сопутствующих и фоновых заболеваний; целенаправленное лечение и принятие своевременных превентивных мер.

Ключевые слова: микоплазмоз, урогенитальная инфекция, собака, эндометрит, моноинфекции, стафилококкоз, энтерококки, ПЦР, микробиологический метод, ДНК.

MYCOPLASMIC-STAPHYLOCOCCUS INFECTION IN DOGS (CLINICAL CASE)

Metleva Anastasia Sergeevna*Candidate of Veterinary Sciences, Kuzbass State Agricultural Academy, zveryiski@mail.ru***Rotova Anisya Yurievna***Graduate student, Kuzbass State Agricultural Academy, Anisyaschukina@yandex.ru*

Mga Daria Vyacheslavovna

Student, Kuzbass State Agricultural Academy, mgaIdariya@gmail.com

Abstract. Currently, inflammatory processes of the urogenital tract of dogs, the causative agents of which are the obligate intracellular parasite of the genus *Mycoplasma* spp. and opportunistic microorganism of the genus *Staphylococcus* spp. are widespread. *Mycoplasma* spp. can be transmitted from sick animals with an asymptomatic or atypical course of infection, actively used in dog breeding. The pathological process of mycoplasmosis is manifested in the effect on the immune system and a decrease in the resistance of the animal's body to other infectious agents. Thus, this infection in its pure form is found only in the early stages of the disease. Then, staphylococcal infection is often associated with mycoplasmic infection, exhibiting increased virulence, leading to complications of the disease and even fatalities.

Mycoplasma infection, in combination with staphylococcal, is transmitted from a puppy to the offspring, causing intrauterine infection of puppies, expressed in the birth of sick, dead offspring, or causes high mortality in the first days of puppies' life. The pathoanatomical picture during the autopsy of the offspring indicates septic processes in the internal organs: liver, spleen, kidneys, myocardium in a state of dystrophy, edematous brain with blood vessels filling. The pathoanatomical picture is attributed to toxins produced by the microorganisms *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus* spp. Laboratory methods have determined the presence of toxins: hemolysin and lecithinase. PCR diagnostics have found *Mycoplasma* spp.

In performing laboratory diagnosis of diseases of the reproductive tract in bitches and in investigating causes of death of puppies, it is necessary to use not only bacteriological methods, but also PCR diagnostics for hidden infections. This approach would ensure objective diagnosis, detection of major, associated and background diseases; targeted treatment; and timely preventive measures.

Keywords: mycoplasmosis, urogenital infection, dog, endometritis, monoinfections, staphylococcosis, enterococci, PCR, microbiological method, DNA.

Введение. Представитель рода *Mycoplasma* spp. стала часто диагностироваться у собак с повсеместным введением в лабораторную практику ПЦР-диагностики. Она считается условно-патогенным микроорганизмом, входящим в микрофлору дыхательных и половых путей собак. Основным источником инфекции на протяжении долгого времени являются собаки, активно использующиеся в разведении. Основная проблема данного заболевания заключается в затруднённой своевременной диагностике, так как зачастую инфекция в организме животного протекает бессимптомно [1]. Этиология и патогенез микоплазменной инфекции половых путей тесно ассоциирована с активизацией персистирующих в макроорганизме потенциально патогенных бактерий, входящих в состав естественных микробиоценозов тела животных, что определяет эндогенную природу данных заболеваний [1]. В таком случае возрастает потенциальная способность микроорганизмов-ассоциантов вызывать клинические течения инфекционного процесса со стертой симптоматикой.

Наиболее распространенные бактериальные популяции микробов-ассоциантов в половых путях у собак представлены такими патогенами как: *E. coli*, *Staphylococcus* spp., *Enterococcus* spp., *Mycoplasma* spp. [6, 7]. При

заболевании, с участием указанных возбудителей инфекций, патология репродуктивных органов трудно поддается лечению [2].

Наиболее часто клиническое проявление смешанной хламидийно — микоплазменной инфекции со стафилококками выражается: ринитом (89,2%), отеком синдрома (с отеком век и крыльев носа) (91,9%), циститами (59,5%), уретритами и простатитами у самцов (91,9%), вульвовагинитами и эндометритами (89,2%). У заболевших плотоядных наблюдаются также общеклинические симптомы — угнетение (62,2%), снижение и извращение аппетита (54,1%), жажда (18,9%), учащенное дыхание (16,2%), гипертермия, кашель (10,8%). В 35,1% случаев имело место прерывание беременности, самопроизвольные абортирование, мертворождение, высокая неонатальная смертность щенков в первые дни жизни [2] в 8,1% — полиартриты, отиты [8]. У щенков первых дней жизни течения стафилококковой инфекции молниеносное с признаками диареи и быстрым обезвоживанием и гибели животных [7].

В свою очередь стафилококковые моноинфекции у собак очень актуальны [7]. Это связано с тем, что поверхностные белки у стафилококков, не только обладают аутоантифагоцитарными свойствами, но и подавляют фагоцитоз других патогенных и условно-патогенных бактерий, что открывает возможность для возникновения смешанных инфекций [4]. Стафилококкозом чаще всего болеют собаки породы боксер 25% и неаполитанский мастиф 15% в возрасте от 1 до 6 лет, так от 1 до 3 лет (30%), от 3 до 6 лет (29%). Стафилококкоз собак зачастую проявляется отитом и воспалением слизистых оболочек половых органов, при которых наблюдаются гнойные, реже катаральные вагиниты, эндометриты, реже пиометра с жидкими, бурыми или светло-желтыми истечениями из половых органов [3]. Отит у собак, вызванный *S. aureus* чаще встречается у немецких овчарок особенно в состоянии иммуносупрессии [2].

При стафилококковой инфекции для развития яркой клинической картины мало наличия возбудителя в организме животного, необходимы дополнительные факторы: иммунодефицитное состояние, нарушение равновесия в микробиоценозе, субклинические и клинические формы нарушения обмена веществ, паразитарные заболевания кожи, диагностические и косметические манипуляции, которые приводят к нарушению целостности кожи и слизистых оболочек. [3].

Поэтому приступая к диагностике инфекций необходимо учитывать различные факторы, влияющие на организм животного. В т. ч. следует прибегать к ПЦР-диагностике скрытых инфекций (микоплазмы, хламидии, вирусные заболевания).

Материал и методика исследования. Объектами исследования являются: смыв с цервикального канала суки; внутренние органы от трупа щенка в возрасте 3-х недель, родившегося от нее.

Смыв с цервикального канала производился с помощью стерильного тупфера визоцервикальным способом. Материал помещался в стерильные пробирки с 5 мл физиологического раствора. Далее проводили титрование в стерильном физиологическом растворе, с последующим высевом на плотные питательные среды: кровяной агар, желточно-молочно-солевой агар, агар Эндо, Энтерококкагар, агар Плоскирева. Посевы инкубировались при температуре (37+/-1°C) в течение 18–24 ч. в анаэробных и аэробных условиях, с последующей видовой дифференциации на средах Гисса.

Отбор проб внутренних органов осуществлялся при вскрытии, с посевом кусочков внутренних органов на 5% сахарный мясо-пептонный бульон. После инкубации при температуре (37+/-1°C) производили посев на плотные питательные среды: кровяной агар, желточно-молочно-солевой агар, агар Эндо, Энтерококкагар, агар Плоскирева, висмут сульфит агар, инкубировали при температуре (37+/-1°C) в течении 18 – 24 ч. в анаэробных и аэробных условиях, с последующей видовой дифференциации на средах Гисса.

Для ПЦР-диагностики использовали тот же материал, что и для бактериологического исследования. Выделение нуклеиновых кислот проводили набором реагентов для экстракции ДНК из биологического материала реагентом «ДНК-сорб-В», в соответствии с инструкцией по применению. Общий объем реакционной смеси составил 25 мкл, в том числе 10 мкл выделенной ДНК-пробы.

Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) проводили на амплификаторе «Терцик» (производства ООО «НПО ДНК – Технология», Россия) при температурно-временном режиме:

Mycoplasma spp.

1. Начальная денатурация 95 0С – 5 минут;
2. 41 цикл (денатурация 95 0С – 10 сек., отжиг 610С – 10 сек., элонгация 72 0С – 10 сек.)
3. 1 цикл – 72 0С – 60 сек

Результаты ПЦР-диагностики интерпретировались на основании наличия или отсутствия на электрофореграмме специфической полосы амплифицированной ДНК.

Результаты исследования и обсуждение. Щенок пал своей смертью в возрасте 3 недель. Перед смертью за 2 дня отмечалась слабость и отказ от еды. В помете щенок остался последним, остальные погибли в течение 2 первых суток после рождения.

При вскрытии трупа установлена следующая патологоанатомическая картина: увеличенная в размерах печень, с кровоизлияниями по краям долей печени, дряблая, на разрезе паренхима выбухает, рисунок сглажен, соскоб значительный, капсула снимается легко; увеличенная в размерах селезенка, вишневого цвета, с кровоизлияниями на поверхности, капсула легко снимается, паренхима выбухает, соскоб значительный; желудок на поверхности без изменений, немного вздут; слизистая желудка без изменений, складчатость нормальная, содержимое с прожилками кофейного цвета; слизистая сфинктера между желудком и двенадцатиперстной кишкой с кровоизлияниями; кровеносные сосуды головного мозга кровенаполнены, инъецированы в ткань головного мозга; сердце гипертрофировано, на разрезе миокард серого цвета, в желудочках кровь отсутствует.

Из 87,5 % проб патологического материала от павшего щенка отмечен рост *E.faecium*, способный образовывать зоны β -гемолиза на кровяном агаре в условиях анаэробности. Обнаруженный признак указывает на способность этого микроорганизма экспрессировать заложенные в нем патогенные свойства и вызывать инфекционный процесс в организме без участия кислорода в метаболических процессах. Реже изолировался гемолитический *E.faecalis* (37,5%). В 62,5% случаях обнаружен *E.coli*; *E.aerogenes* – 37,5%; *C.diversus* – 25%. В 50% проб установлено наличие *S.epidermidis* и *S.aureus* с лецитинвитазной активностью (Рис.1.).



Рисунок 1. Удельный вес микроорганизмов, изолированных из внутренних органов щенка

Только энтерококки обнаружались в головном мозгу, остальные микроорганизмы изолировались из внутренних органов в различной последовательности.

При взятии мазка из цервикального канала установлены обильные мутные слизистые выделения с прожилками крови. Бактериологическим исследованием установлено наличия микроорганизмов: *S.epidermidis*, *S.aureus* с лецитинвитазной активностью, *Ps. pseudoalcaligenes*, *E. aerogenes*.

Методом ПЦР проб внутренних органов щенка и отделяемого с цервикального канала суки было установлено присутствие ДНК *Mycoplasma* spp. (Рис. 2).

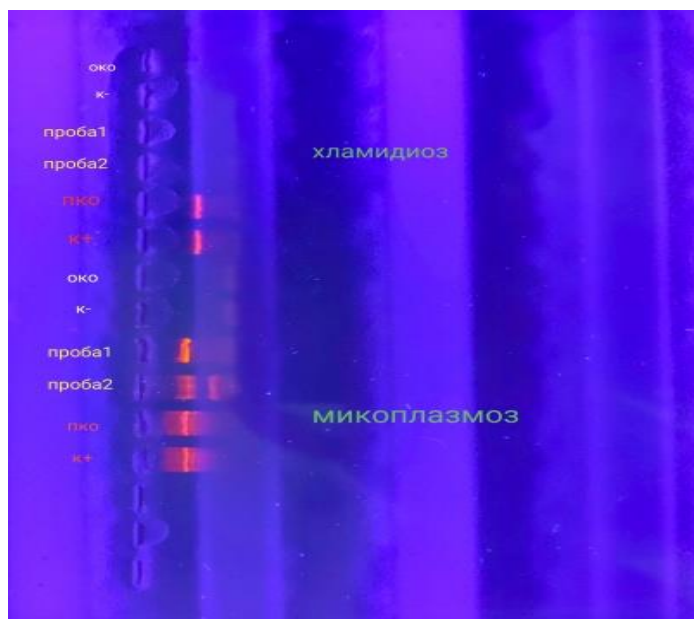


Рисунок 2. Амплификаты ДНК *Mycoplasma* spp. в электрофоретической камере.

Выводы. 1. Наличие микоплазменной инфекции являлось стартовым и основным фактором развития инфекции, т.к. снижало резистентность организма суки и способствовало развитию стафилококковой инфекции.

2. Гибель щенка произошла в результате внутриутробной передачи *Mycoplasma spp* и *Staphylococcus aureus* с лецитинвитазной активностью от инфицированной матери, с последующим развитием микст-инфекции с участием микроорганизмов рода *Enterococcus spp.* с гемолитическими свойствами.

3. Микоплазменная инфекция, в сочетании со стафилококковой, в половых органах у суки протекает в виде серозно-катарального воспаления с примесью крови.

4. Внутриутробная передача микоплазмоза щенкам, вызывает рождение нежизнеспособного молодняка со смертельным исходом в ранний постнатальный период.

Список литературы

1. Гриценко В.А., Иванов Ю.Б. Роль персистентных свойств микроорганизмов в патогенезе эндогенных бактериальных инфекций // Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2009. – №. 2. – С. 35–39.
2. Дубовцова, Н. В. Стафилококковый отит у собаки / Н.В. Дубовцова, Л.Т. Майгулакова // Вестник Кыргызского национального аграрного университета им. К. И. Скрябина. – 2015. – № 1(33). – С. 27–31.
3. Козюта, И.Ю. Эпизоотология и лечение стафилококкоза домашних плотоядных в г. Славянск-на-Кубани / И.Ю. Козюта, А.А. Шевченко // Вестник научно-технического творчества молодежи Кубанского ГАУ: Сборник статей по материалам научно-исследовательских работ: в 4 томах, Краснодар, 22–25 марта 2017 года. / Сост. А.Я. Барчукова, Я.К. Госунов; под ред. А.И. Трубилина, отв. ред. А.Г. Коцаев. – Краснодар: Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина, 2017. – С. 35–40.
4. Красиков А.П. и др. Роль микропаразитоценозов в эпизоотологии инфекционных болезней // Ветеринарная патология. – 2005. – №. 1. – С. 69–72.
5. Лазарева, М.В. Шкил Н.А., Наумкин И.В., Ларина О.Н. Микробиоценоз урогенитального тракта у собак при эндометритах [Текст] / М.В. Лазарева, Н.А. Шкил, И.В. Наумкин, О.Н. Ларина // Вестник НГАУ – 2014. - № 3(32) - С. 95–97.
6. Метлева А.С. Обзор современных методов диагностики скрытого эндометрита крупного рогатого скота / А. Метлева, К. Беспоместных, В. Плешков, О. Смолковская // Современные тенденции сельскохозяйственного производства в мировой экономике: Материалы XIX Международной научно-практической конференции, Кемерово, 08–09 декабря 2020 года. – Кемерово:

- Кузбасская государственная сельскохозяйственная академия, 2020. – С. 451–458.
7. Руденко В.Б. Стафилококкоз у собак (диагностика, лечение и профилактика) / В.Б. Руденко, П.А. Руденко, С.Г. Семушина, И.А. Пахомова // Ветеринария сегодня – 2017. – № 3(22). – С. 58–61.
 8. Сочнев В.В. Смешанные инфекции плотоядных на урбанизированных территориях / В.В. Сочнев, Е.В. Медова, Ю.В. Пашкина, Е.А. Грачева и др. // Ветеринарная патология, 2006. - №3. - С.72-74.
 9. Golińska E. et al. The vaginal microflora changes in various stages of the estrous cycle of healthy female dogs and the ones with genital tract infections //BMC Veterinary Research. – 2021. – Т. 17. – №. 1. – С. 1–8.

© Метлева А.С., Ротова А.Ю., Мга Д.В., 2021