

## АКУШЕРСТВО І БІОТЕХНОЛОГІЯ ВІДТВОРЕННЯ

УДК 636.2.09:616-071:616-007.29

### Комплексна діагностика абортів у великої рогатої худоби

Нижник Б.Ю. , Вальчук О.А. 

Національний університет біоресурсів і природокористування України



E-mail: Нижник Б.Ю. b.nyzhnyk2020@gmail.com; Вальчук О.А. valchuk\_oa@nubip.edu.ua



Нижник Б.Ю., Вальчук О.А. Комплексна діагностика абортів у великої рогатої худоби. Науковий вісник ветеринарної медицини, 2023. № 2. С. 6–14.

Nyzhnyk B., Valchuk O. Comprehensive diagnosis of abortion in cattle. Nauk. visn. vet. med., 2023. № 2. PP. 6–14.

Рукопис отримано: 04.09.2023 р.

Прийнято: 18.09.2023 р.

Затверджено до друку: 23.11.2023 р.

Doi: 10.33245/2310-4902-2023-184-2-6-14

Аборт є одним із найпоширеніших чинників, який має вкрай негативний вплив на відтворювальну здатність великої рогатої худоби, що призводить до значних економічних втрат. Причинами абортів можуть бути інфекційні та неінфекційні агенти. Діагностика абортів є складним завданням, оскільки лише близько 40 % абортів діагностують як інфекційні, а решта 60 % – невстановленої етіології. Метою роботи було визначення інфекційної етіології абортів, використовуючи комплексну діагностику. Дослідження виконані в лабораторіях ТОВ «Центр Ветеринарної Діагностики» (м. Київ). Відбір зразків для досліджень виконано у секційній залі ТОВ «Центр Ветеринарної Діагностики» під час розтину. Матеріалом для дослідження були плід та вагінальний мазок від абортіваної корови. Аборт стався на 4-му місяці тільності. Для встановлення етіології застосовували такі методи дослідження: патолого-анатомічний, бактеріологічний, гістологічний та молекулярно-генетичний (ПЛР-РЧ). Основними виявленими патолого-анатомічними змінами були автоліз, осередки світло-сірого кольору діаметром  $\leq 2$  мм в легенях та множинні осередки світло-сірого кольору діаметром  $\leq 1$  мм в печінці. Основними виявленими патогістологічними змінами були вогнищевий міокардит, внутрішньодерні тільця-включення у гепатоцитах, мультифокальні коагуляційні некрози у легенях та печінці, дифузний інтерстиціальний нефрит. Бактеріологічний висів був негативний. Із досліджуваних зразків тканин плода та вагінального мазка виділили ДНК вірусу інфекційного ринотрахеїту (IBRV) та ДНК герпесвірусу 4 типу (BHV-4) великої рогатої худоби методом ПЛР-РЧ. Використовуючи комплексне дослідження встановлено інфекційні агенти та зміни характерні для інфекційного процесу. На підставі отриманих результатів було визначено етіологію абортів – змішана інфекція IBRV та BHV-4. Комплексна діагностика дає змогу встановити причинно-наслідковий зв'язок між виявленим інфекційним агентом і патологічними змінами плода та етіологію абортів. Результати комплексу досліджень надають інформацію про прояв змішаної герпесвірусної інфекції та доповнюють вже наявні знання, що можна використовувати за діагностики абортів у корів.

**Ключові слова:** аборт, велика рогата худоба, IBRV, BHV-4, змішана інфекція, ПЛР-РЧ, патогістологія, діагностика.

**Постановка проблеми та аналіз останніх досліджень.** Аборт у корів – переривання вагітності на стадії плода, між 42 і 260 добою, з наступним розсмоктуванням зародка, вигнанням з матки мертвого чи недоношеного плода, або ж затриманням у матці мертвого плода з наступною його муміфікацією, мацерацією чи пудрифікацією [1, 2].

У низці дослідницьких статей повідомляється, що аборти у корів варіюються від 2 до 31 % по стаду [1].

Причини абортів можуть бути різноманітні. У корів їх можна диференціювати на аборти інфекційної та неінфекційної етіології. Зокрема, до неінфекційних причин абортів належать: отруєння, дефіцит прогестерону, випадкове введення гормонів, серйозна нестача мікроелементів та вітамінів, генетичні/хромосомні дефекти, фізичні чинники, стрес [3, 4].

Інфекційні аборти спричиняють бактерії, гриби, віруси та найпростіші [5, 6].

За даними нещодавнього дослідження, де проаналізовано поширеність основних інфекційних агентів за абортів великої рогатої худоби, встановлено, що найчастіше виявляли найпростіші *Neospora caninum* (22,2 %), умовно-патогенні бактерії (*Salmonella spp.*, *Escherichia coli*, *Trueperella pyogenes*, *Bacillus licheniformis*, *Pajaroellobacter abortibovis*, *Acinetobacter spp.*, *Histophilus somni*, *Actinomyces spp.*, *Aeromonas spp.*, *Bordetella spp.*, *Cardiobacterium spp.*, *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.*, *Pasteurella spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Pseudomonas spp.*, and *Yersinia paratuberculosis*) (21,4 %), родину *Chlamydiaceae* (10,9 %) і *Coxiella burnetii* (9,5 %). Щодо вірусних агентів, то вірус інфекційного ринотрахеїту (IBRV) і вірусна діарея великої рогатої худоби (BVDV) показали однакові рівні поширеності (близько 5 %). Зокрема, *N. caninum* був підтвердженою причиною абортів у 16,7 % випадках, умовно-патогенні бактерії – у 12,6 % і *Chlamydia spp.* – у 6,8 %, *C. burnetii* – лише у 1,1 % випадків [7].

У роботі Мее (2023) зазначено, що серед інфекційних причин *Neospora caninum* на сьогодні є найчастіше діагностованим інфекційним агентом, який спричиняє абортів у всьому світі, за ним йдуть *Trueperella pyogenes*, BVDV та гриби [1].

Інфекційні агенти можуть спричинити як спорадичні, так і епізоотичні абортів, залежно від патогенності агента та групового імунітету [8, 9].

Вважається, що гематогенний шлях є найпоширенішим, за допомогою якого інфекційні агенти досягають і спричиняють ураження вагітної матки великої рогатої худоби. Тимчасом

висхідна інфекція через шийку матки під час вагітності є рідкісним шляхом ураження матки та спричинення абортів. Інші шляхи зараження – це інфікована сперма або перенесені ембріони та персистуючі інфекції репродуктивного тракту. Залежно від збудника та стадії вагітності плацентарна інфекція може спричинити запалення, що призведе до абортів через первинний плацентит або вторинну інфекцію плода [8].

До чинників ризику абортів у великої рогатої худоби можна віднести: стан тіла, породу, тривалість сервіс-періоду, якість підстилки, наявність собак, тип підприємства, генотип, розмір стада, тепловий стрес, обрізку ратиць, кульгавість, мастит, частоту доїння, патологічні роди та гінекологічні хвороби в анамнезі тварини, попередній аборт, деяких бугаїв-плідників, двійні, вакцинацію [1, 10, 11].

Діагностика абортів є складним завданням, оскільки лише близько 40 % абортів діагностують як інфекційні, а решта 60 % – невстановленої етіології [1].

Аборти у великої рогатої худоби, з частотою від 2 до 5 % у стаді, є основною причиною економічних втрат у всьому світі [1]. Загалом втрати за абортів можуть досягати 1900 доларів США залежно від терміну тільності, продуктивності корів, поточних цін і рішень виробника [12].

Отже, встановлення етіології абортів має важливе значення для запровадження профілактичних заходів, які позитивно вплинуть на благополуччя тварин та зменшать втрати від абортів через недоотримання молодняка, зниження продуктивності, витрат на лікування та утримання непродуктивних тварин.

**Метою дослідження** є визначення інфекційної етіології абортів у корови за допомогою комплексної діагностики.

**Матеріал і методи дослідження.** Для дослідження надіслали плід та вагінальний мазок від абортованої корови, відібрані не пізніше 24 год після абортів з фермерського господарства з розведення великої рогатої худоби молочного напрямку. Плодову частину плаценти для дослідження не надсилали.

Термін тільності, на якому стався аборт, встановлювали за довжиною (см) від тім'я до кореня хвоста плода за допомогою калькулятора віку плода [13].

Розтин, патолого-анатомічне, бактеріологічне, гістологічне та молекулярно-генетичне дослідження (метод ПЛР-РЧ) виконані в лабораторіях ТОВ «Центр Ветеринарної Діагностики» (м. Київ). Відбір зразків для досліджень виконано у секційній залі ТОВ «Центр Ветеринарної Діагностики» під час розтину.

Розтин та патолого-анатомічні дослідження виконані за методикою описаною J.F. Мее (2016) [14], яка включає зовнішнє та внутрішнє (дослідження всіх органів і систем організму на макроскопічному рівні) дослідження плода.

Для гістологічного дослідження відбирали шматочки печінки, нирок, надниркової залози, щитоподібної залози, селезінки, тимуса, трахеї, стравоходу, легень, серця, головного мозку, мозочку, скелетних м'язів, сичуга розміром до 0,6 см, які фіксували в 10 % забуферованому формаліні (Leica, Німеччина), виготовляли зрізи товщиною 3–4 мкм і фарбували гематоксиліном та еозином (Leica, Німеччина) [15, 16].

Бактеріологічний висів проводили із внутрішніх органів абортваного плода (легень, печінки, селезінки, сичуга) на чашки з кров'яним агаром COLUMBIA LAB-AGAR + 5 % KB («BioMaxima S.A.», Poland). Культивували посіви за температури 37,0 °C у аеробних умовах впродовж 24–72 годин.

Для дослідження методом ПЛР-РЧ відбирали головний мозок, мозочок, серце, легені, селезінку, печінку, нирки, тимус, трахею, стравохід, наднирник, вміст сичуга, рідину з грудної та черевної порожнин, скелетні м'язи ший.

Дослідження методом полімеразної ланцюгової реакції в режимі реального часу (ПЛР-РЧ) було зосереджено на інфекційних агентах, які є встановленими репродуктивними патогенами у корів: вірус інфекційного ринотрахеїту великої рогатої худоби (IBRV), *Brucella spp.*, герпесвірус ВРХ 4 типу (BHV-4), вірус вірусної діареї великої рогатої худоби (BVDV), *Salmonella spp.*, *Coxiella burnetii*, *Neospora caninum*, *Chlamydophila spp.*, *Campylobacter fetus*, *Leptospira spp.*, *Listeria monocytogenes*, *Anaplasma phagocytophilum*.

Виділення нуклеїнових кислот проводили за допомогою автоматичної системи для виділення KingFisher Purification System з використанням набору MagMAX™ CORE Nucleic Acid Purification Kit (Thermo Fisher Scientific, США). Для реакції ампліфікації виділених нуклеїнових кислот використовували комерційні тест-набори VetMAX™ (Applied Biosystems™ by Thermo Fisher Scientific, США) та Kylt® (AniCon®, Німеччина). Реакцію проводили на системі для детекції ПЛР продуктів у режимі реального часу на приладі QuantStudio5 Real Time PCR System (Thermo Fisher Scientific, США).

Критерії, які використовували для визначення етіології абортів: етіологічний діагноз встановлювали, коли був ідентифікований інфекційний агент або агенти (змішана інфекція) та відмічали характерні для інфекції патолого-анатомічні і/або патогістологічні зміни

у плода; імовірний етіологічний діагноз встановлювали, коли був ідентифікований інфекційний агент/агенти з відсутністю або неможливістю виявлення уражень плода; діагноз – аборт невизначеної етіології встановлювали, коли відмічали аномалії розвитку плода та ураження притаманні інфекційному процесу, але без виявлення інфекційного агента.

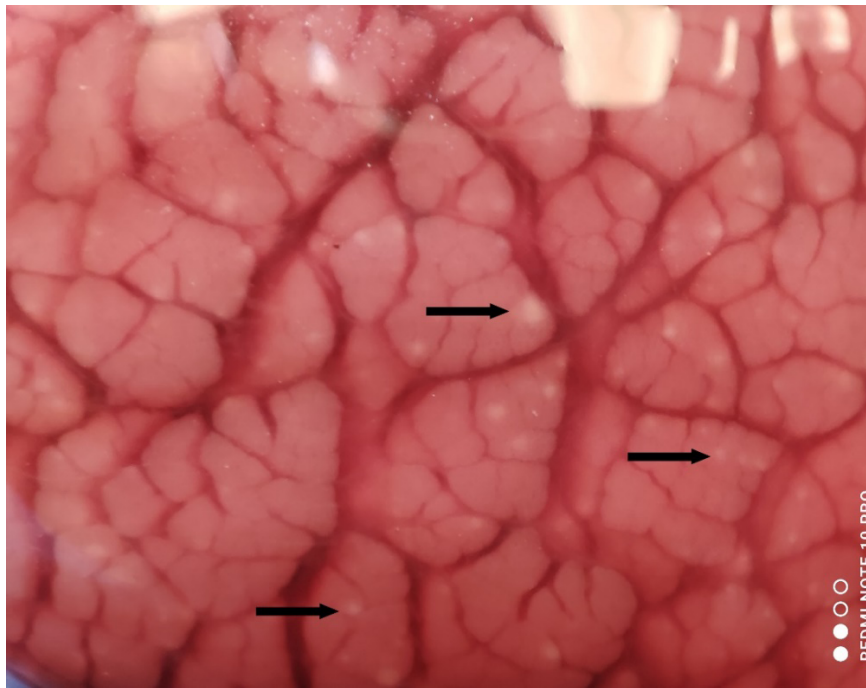
**Результати дослідження.** Абортований плід віком приблизно 4 місяці з довжиною від тім'я до крижа 29 см розітнутий в секційній залі ТОВ «Центр Ветеринарної Діагностики». Інформація щодо попередніх хвороб чи клінічних ознак у корови, окрім абортів, відсутня. Власником повідомлено про інші 8 абортів, які сталися в стаді упродовж одного місяця. Вакцинацію корів за попередній рік не проводили.

За результатами патолого-анатомічного дослідження виявлено такі зміни: помутніння рогівки; скупчення желатиноподібної маси червоного кольору під шкірою по всьому тілу; водянисту консистенцію головного мозку та мозочка; скупчення рідини червоного кольору у невеликій кількості в грудній та черевній порожнинах; гіперемію серця; ателектаз легень, набряк інтерстицію легень та осередки світло-сірого кольору діаметром  $\leq 2$  мм в легенях (рис. 1); множинні осередки світло-сірого кольору діаметром  $\leq 1$  мм у печінці (рис. 2); гіперемію слизової оболонки сичуга; в'ялу консистенцію селезінки, змазаний малюнок та стікання брудно-червоної рідини із розрізу селезінки; червоний колір ниркової капсули та розм'якшення кіркового шару нирок.

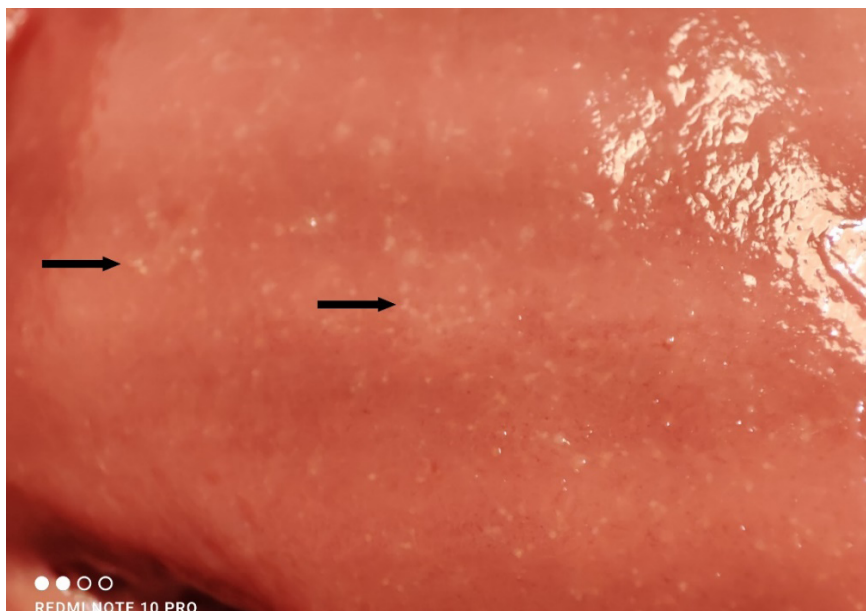
За результатами гістологічного дослідження виявлено такі зміни: у серці вогнищеві лімфоцитарні інфільтрати у міокарді; у тимусі виснаження фолікулів; у легенях мультифокальні коагуляційні некрози, десквамацію епітеліального шару бронхів (рис. 3); у печінці незначну дифузну мононуклеарну інфільтрацію, мультифокальні коагуляційні некрози (рис. 4), внутрішньоядерні тільця-включення у гепатоцитах; у селезінці значне виснаження білої пульпи; у нирках дифузний інтерстиційний нефрит, десквамацію епітелію ниркових каналців; у сичузі десквамацію епітелію слизової оболонки.

Результат бактеріологічного посіву із внутрішніх органів плода – негативний, жодної колонії не виросло на поживному середовищі впродовж 72 год.

Результатом молекулярно-генетичного (ПЛР-РЧ) дослідження є виявлення ДНК вірусу інфекційного ринотрахеїту великої рогатої худоби (IBRV) та герпесвірусу 4 типу великої рогатої худоби (BHV-4) з досліджуваних зразків тканин плода та вагінального мазка.



**Рис. 1. Ателектаз легень. набряк інтерстицію легень. Осередки сіро-білого кольору в легнях (стрілки). Макрофотографія.**



**Рис. 2. Осередки світло-сірого кольору в печінці (стрілки). Макрофотографія.**

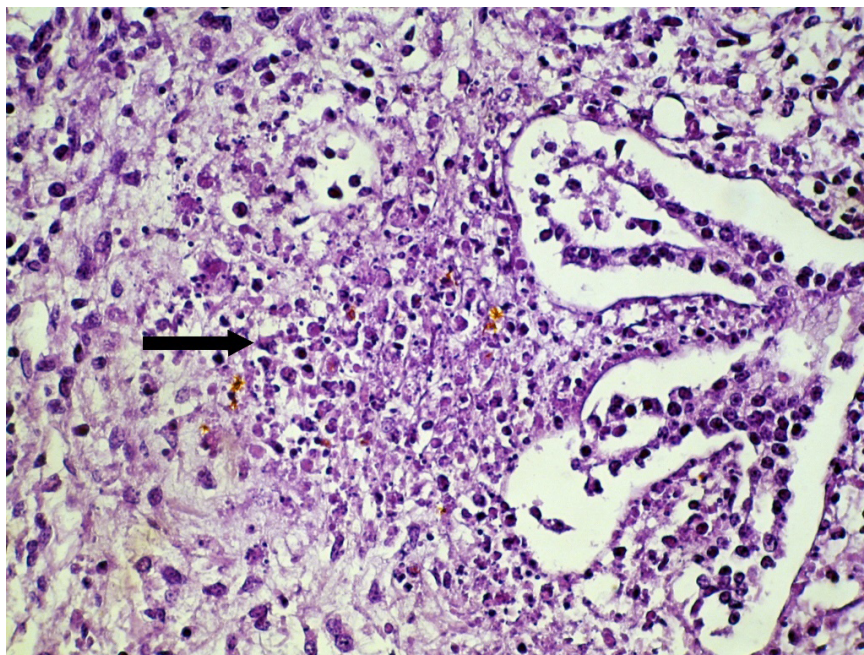


Рис. 3. Коагуляційний некроз в легенях (стрілка).  
Гематоксилін-еозин, х400.

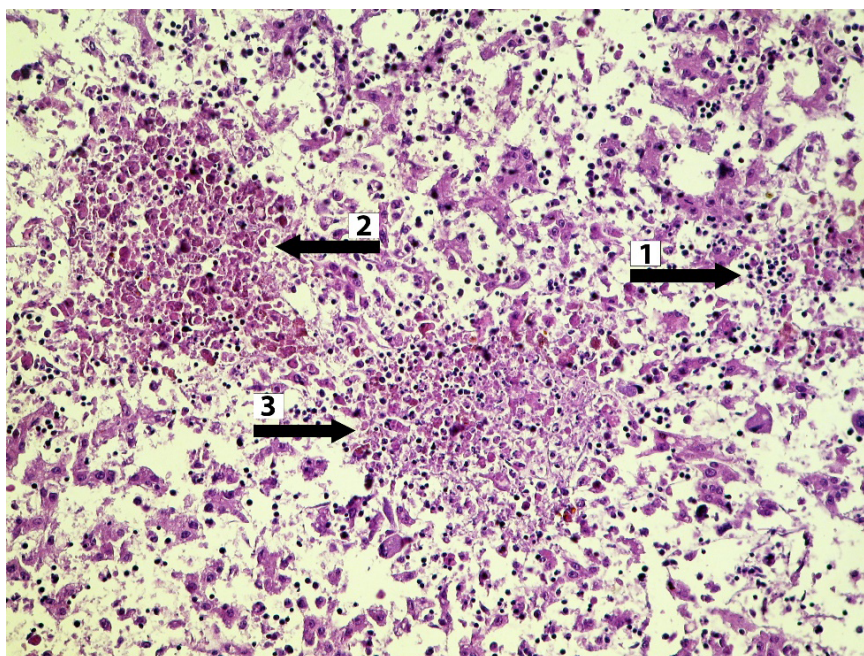


Рис. 4. Гепатит. Коагуляційний некроз (стрілка 2, 3) з незначною дифузною мононуклеарною інфільтрацією в печінці (стрілка 1).  
Гематоксилін-еозин, х200.

**Обговорення.** У цьому дослідженні був застосований комплексний підхід до діагностики абортів. Виявляли інфекційного агента за допомогою бактеріологічного дослідження та ПЛР-РЧ. Результати патолого-анатомічного та гістологічного дослідження використовували для підтвердження причетності виділених інфекційних агентів (IBRV та BHV-4) до аборту та встановлення етіологічного діагнозу.

Виявлені нами помутніння рогівки; скупчення желатиноподібної маси червоного кольору під шкірою по всьому тілу; скупчення рідини червоного кольору в грудній та черевній порожнинах; в'яла консистенція, змазаний малюнок та стікання брудно-червоної рідини із розрізу селезінки; червоний колір ниркової капсули та розм'якшення кіркового шару нирок – це зміни, які проявляються внаслідок автолізу. Автоліз є частою зміною у плода, про яку повідомляють інші автори в своїх роботах, де IBRV встановлено як причину аборту [8, 17].

Водяниста консистенція головного мозку та мозочку, здебільшого, є наслідком вмісту великої кількості рідини [8], що є нормою у плоді першого та другого триместрів вагітності.

Виявлений ателектаз легень є нормою для абортів. Гіперемія серця, слизової оболонки сичуга і набряк проміжної сполучної тканини легень – неспецифічні зміни, які можуть бути наслідком дії різноманітних чинників.

Осередки світло-сірого кольору діаметром  $\leq 2$  мм в легенях та множинні осередки світло-сірого кольору діаметром  $\leq 1$  мм в печінці, враховуючи дані гістологічного дослідження цих органів, є проявом некрозу. Подібні зміни відмічено у плоді ураженому IBRV авторами N'jaa, (2012) та Mahajan et al. (2013) у своїх роботах [8, 17].

Патогістологічні зміни, такі як вогнищевий міокардит, інтерстиційний нефрит вказують на системний запальний процес. Внутрішньоядерні тільця-включення в гепатоцитах, мультифокальні коагуляційні некрози в легенях та печінці є характерними змінами для внутрішньоутробної інфекції IBRV плода [17, 18].

Десквамація епітеліального шару бронхів, сичуга, кишки, ниркових каналців може бути наслідком автолізу або вірусної інфекції [19].

Слід зазначити, що BHV-1 та BHV-4 чинять імуносупресивну дію на інфікований організм [20, 21], це призводить до виснаження білої пульпи селезінки та фолікулів тимуса, виявлених у цьому дослідженні.

BHV-4 виділяли з різних тканин репродуктивних органів та абортів. Хоча епізоотичні та експериментальні дані свідчать

про його участь, BHV-4 не було доведено як причину аборту у великої рогатої худоби. Плоди, інокульовані BHV-4 на 3 або 4 місяці вагітності, гинули від лімфоретикулярної активації в легенях і лімфатичних вузлах. Тільця-включення, типові для BHV-4 спостерігалися в різних органах абортів [22, 23, 24].

Також є повідомлення про виділення BHV-4 з абортів і плацент, та виявлені лише патогістологічні зміни у деяких випадках: гнійний бронхіт, серозний гепатит, серозний лімфаденіт та ацидофільні тільця-включення в ядрі хоріонепітеліальних клітин плаценти [22, 25]. Тимчасом у цьому дослідженні таких змін не відмічали, окрім внутрішньоядерних тілець-включень, які можуть спостерігатись і за ураження плода IBRV.

З огляду на зазначене вище, значення BHV-4 залишається незрозумілим, оскільки вірус часто виявляли у здорових корів. Попередні дослідження інших авторів приводять до висновку, що BHV-4 може діяти як кофактор з іншими встановленими патогенами, сприяючи розвитку інфекційного процесу [7, 25, 26, 27].

Отже, на підставі результатів патолого-анатомічного та патогістологічного дослідження встановлено системний інфекційний процес, виснаження імунних органів плода, характерні патогістологічні зміни для IBRV та внутрішньоядерні тільця-включення, притаманні для обох вірусів.

Виявлений комплекс патогістологічних змін є типовим для герпесвірусної інфекції (герпесвірус 4-го типу та/чи інфекційний ринотрахеїт).

Враховуючи, що було виявлено два інфекційні агенти, реальний вплив кожного з них складно ефективно визначити, оскільки більшість уражень неспецифічні і не вказують чітко на конкретного агента, але є характерними для герпесвірусної інфекції. Тому встановлена етіологія аборту як змішана інфекція IBRV та BHV-4.

**Висновки.** Використовуючи комплекс досліджень були встановлені зміни характерні для герпесвірусної інфекції. Патолого-анатомічні зміни – автоліз, осередки світло-сірого кольору діаметром  $\leq 2$  мм в легенях та множинні осередки світло-сірого кольору діаметром  $\leq 1$  мм в печінці. Патогістологічні зміни – внутрішньоядерні тільця-включення, мультифокальні коагуляційні некрози в легенях та печінці. На підставі цього було встановлено етіологію аборту – змішана інфекція IBRV та BHV-4.

Використання комплексної діагностики, а саме сукупність патолого-анатомічного, гістологічного, бактеріологічного та молекулярно-

генетичного (метод ПЛР-РЧ) досліджень дає можливість встановити причинно-наслідковий зв'язок між виявленим інфекційним агентом і патологічними змінами плода.

Результати цього дослідження надають інформацію про прояв змішаної герпесвірусної інфекції та доповнюють вже наявні знання, можуть використовуватись у діагностиці абортів у корів.

**Відомості про дотримання біоетичних норм.** Дослідження проводили відповідно до принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються в експериментальних і наукових цілях (Офіційний вісник Європейського Союзу L276/33, 2010), а також відповідно до Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» від 28.03.2006 р. № 27, ст. 230, наказу МОН від 16.03.2012 р. № 416/20729 «Про затвердження Порядку проведення науковими установами досліджень і експериментів на тваринах».

**Відомості про конфлікт інтересів.** Автори (Богдан Нижник, Олександр Вальчук) статті «Комплексна діагностика абортів у великої рогатої худоби» заявляють про відсутність конфлікту інтересів щодо їх внеску та результатів дослідження.

**Подяки.** Дякую власнику фермерського господарства з розведення великої рогатої худоби за співпрацю та фінансову підтримку.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Mee J. F. Review-ESDAR 2023 Invited Review: bovine abortion – incidence, risk factors and causes. *Reproduction in domestic animals*. 2023. DOI:10.1111/rda.14366 (date of access: 26.11.2023).
2. Retrospective study of factors associated with bovine infectious abortion and perinatal mortality / H. Van Loo et al. *Preventive veterinary medicine*. 2021. Vol. 191. 105366 p. DOI:10.1016/j.prevetmed.2021.105366 (date of access: 26.11.2023).
3. Moore D. P., Cantón G. J., Louge Uriarte E. L. Editorial: infectious diseases affecting reproduction and the neonatal period in cattle. *Frontiers in veterinary science*. 2021. Vol. 8. DOI:10.3389/fvets.2021.679007 (date of access: 26.11.2023).
4. Non Infectious Causes of Abortion in Livestock Animals - A Review / R. Yadav et al. *International Journal of Livestock Research*. 2021. Vol. 11. no. 2. P. 1–13. DOI:10.5455/ijlr.20201031 015650. (date of access: 26.11.2023).
5. Bovine abortions revisited—enhancing abortion diagnostics by 16S rDNA amplicon sequencing and fluorescence in situ hybridization / G. A. Wolf-Jäckel et al. *Frontiers in veterinary science*. 2021. Vol. 8. DOI:10.3389/fvets.2021.623666 (date of access: 26.11.2023).
6. Reichel M. P., Wahl L. C., Hill F. I. Review of diagnostic procedures and approaches to infectious causes of reproductive failures of cattle in Australia and New Zealand. *Frontiers in veterinary science*. 2018. Vol. 5. DOI:10.3389/fvets.2018.00222 (date of access: 26.11.2023).
7. Bovine infectious abortion: a systematic review and meta-analysis / Y. P. Hecker et al. *Frontiers in veterinary science*. 2023. Vol. 10. DOI:10.3389/fvets.2023.1249410 (date of access: 26.11.2023).
8. Kirkbride's diagnosis of abortion and neonatal loss in animals / ed. by B. L. Njaa. Oxford, UK : Wiley-Blackwell, 2012. DOI:10.1002/978 1119949053 (date of access: 26.11.2023).
9. Neosporosis in animals / J. P. Dubey et al. Boca Raton: Taylor & Francis, 2017. CRC Press, 2017. DOI:10.1201/9781315152561 (date of access: 26.11.2023).
10. Spatial-temporal trends and economic losses associated with bovine abortifacients in central Argentina / G. J. Cantón et al. *Tropical animal health and production*. 2022. Vol. 54. no. 4. DOI:10.1007/s11250-022-03237-0 (date of access: 26.11.2023).
11. Abortion and various associated risk factors in dairy cow and sheep in Ili, China / H. Zhang et al. *PloS one*. 2020. Vol. 15, no. 10. e0232568. DOI:10.1371/journal.pone.0232568 (date of access: 26.11.2023).
12. Clothier K., Anderson M. Evaluation of bovine abortion cases and tissue suitability for identification of infectious agents in California diagnostic laboratory cases from 2007 to 2012. *Theriogenology*. 2016. Vol. 85. no. 5. P. 933–938. DOI:10.1016/j.theriogenol.2015.11.001 (date of access: 26.11.2023).
13. Rump T. Coarsening processes in thin liquid films analysis and numerics. URL:<http://d-nb.info/989455394/34> (date of access: 26.11.2023).
14. Mee J. F. A practitioner's guide to post-mortem examination of an aborted or stillborn calf. *Livestock*. 2016. Vol. 21. no. 1. P. 38–43. DOI:10.12968/live.2016.21.1.38 (date of access: 26.11.2023).
15. Методики морфологічних досліджень: монографія / М.М. Багрій та ін.; за ред. М.М. Багрія. Вінниця: Нова книга, 2016. 328 с.
16. Горальський Л. П., Хомич В. Т., Кононський О. І. Основи гістологічної техніки і морфофункціональні методи досліджень у нормі та при патології: навч. посіб. за ред. Л. П. Горальського. Вид. 3-є, випр. і допов. Житомир: Полісся, 2015. 286 с.
17. Comparison of diagnostic tests for diagnosis of infectious bovine rhinotracheitis in natural cases of bovine abortion / V. Mahajan et al. *Journal of comparative pathology*. 2013. Vol. 149, no. 4. P. 391–401. DOI:10.1016/j.jcpa.2013.05.002 (date of access: 26.11.2023).
18. Microscopical lesions and antigen distribution in bovine fetal tissues and placentae following experimental infection with bovine herpesvirus-1 during pregnancy / S. M. Rodger et al. *Journal of comparative pathology*. 2007. Vol. 137. no. 2–3. P. 94–101. DOI:10.1016/j.jcpa.2007.04.022 (date of access: 26.11.2023).
19. Bovine herpesvirus 1 abortion / T. Crook et al. *Journal of veterinary diagnostic investigation*. 2012. Vol. 24. no. 4. P. 662–670. DOI:10.1177/1040638712448187 (date of access: 26.11.2023).

20. An assessment of bovine herpes virus 4 as a causative agent in abortions and neonatal death / S. B. Dağalp et al. *Onderstepoort journal of veterinary research*. 2020. Vol. 87. no. 1. DOI:10.4102/ojvr.v87i1.1761 (date of access: 26.11.2023).

21. Seroprevalence and risk factors associated with bovine herpesvirus 1 (BHV-1) infection in dairy cattle in southern and central Ethiopia / K. Asmare et al. *Preventive veterinary medicine*. 2023. 105959 p. DOI:10.1016/j.prevetmed.2023.105959 (date of access: 26.11.2023).

22. Deim Z., Szeredi L., Egyed L. Detection of bovine herpesvirus 4 in aborted bovine placentas / Z. Deim et al. *Microbial pathogenesis*. 2007. Vol. 71. no. 3. P. 226–229.

23. The role of herpesviruses (BoHV-1 and BoHV-4) and pestiviruses (BVDV and BDV) in ruminant abortion cases in western Turkey / P. Tuncer-Göktuna et al. *Tropical animal health and production*. 2016. Vol. 48. no. 5. P. 1021–1027. DOI:10.1007/s11250-016-1050-5 (date of access: 26.11.2023).

24. Prevalence of Bovine herpesvirus type 4 in aborting dairy cows / Đ. Cvetojević et al. *Polish journal of veterinary sciences*. 2016. Vol. 19. no. 4. P. 731–736. DOI:10.1515/pjvs-2016-0092 (date of access: 26.11.2023).

25. Detection of bovine herpesvirus 4 in aborted bovine placentas / Z. Deim et al. *Microbial pathogenesis*. 2006. Vol. 41. no. 4–5. P. 144–148. DOI:10.1016/j.micpath.2006.03.006 (date of access: 26.11.2023).

26. Involvement of herpesviruses in cases of abortion among water buffaloes in southern Italy / C. Esposito et al. *Veterinary research communications*. 2022. Vol. 46. no. 3. pp. 719–729. DOI:10.1007/s11259-022-09887-7 (date of access: 26.11.2023).

27. Importance of viral disease in dairy cow fertility / D. C. Wathes et al. *Engineering*. 2020. Vol. 6. no. 1. P. 26–33. DOI:10.1016/j.eng.2019.07.020 (date of access: 26.11.2023).

## REFERENCES

1. Mee, J. F. (2023). Review-ESDAR 2023 Invited Review: bovine abortion – incidence, risk factors and causes. Reproduction in domestic animals. DOI:10.1111/rda.14366 (date of access: 26.11.2023).

2. Van Loo, H. (2021). Retrospective study of factors associated with bovine infectious abortion and perinatal mortality. *Preventive veterinary medicine*, Vol. 191, 105366 p. DOI:10.1016/j.prevetmed.2021.105366. (date of access: 26.11.2023).

3. Moore, D. P., Cantón, G. J., Louge Uriarte, E. L. (2021). Editorial: Infectious diseases affecting reproduction and the neonatal period in cattle. *Frontiers in veterinary science*, Vol. 8. DOI:10.3389/fvets.2021.679007. (date of access: 26.11.2023).

4. Yadav, R., Yadav, P., Singh, G., Kumar, S., Dutt, R., Pandey, A. (2021). Non Infectious Causes of Abortion in Livestock Animals - A Review. *International Journal of Livestock Research*, Vol. 11, no. 2, pp. 1–13. DOI:10.5455/ijlr.20201031 015650. (date of access: 26.11.2023).

5. Wolf-Jäckel, G. A. (2021). Bovine abortions revisited — enhancing abortion diagnostics by 16S

rDNA amplicon sequencing and fluorescence in situ hybridization. *Frontiers in veterinary science*, Vol. 8. DOI:10.3389/fvets.2021.623666. (date of access: 26.11.2023).

6. Reichel, M. P., Wahl, L. C., Hill, F. I. (2018). Review of diagnostic procedures and approaches to infectious causes of reproductive failures of cattle in Australia and New Zealand. *Frontiers in veterinary science*, Vol. 5. DOI: 10.3389/fvets.2018.00222. (date of access: 26.11.2023).

7. Hecker, Y. P. (2023). Bovine infectious abortion: a systematic review and meta-analysis. *Frontiers in veterinary science*, Vol. 10. DOI:10.3389/fvets.2023.1249410. (date of access: 26.11.2023).

8. Njaa, B. L. (2012). *Kirkbride's diagnosis of abortion and neonatal loss in animals*. Oxford, UK: Wiley-Blackwell. DOI:10.1002/9781119949053.

9. Dubey, J. P. (2017). *Neosporosis in Animals*. Boca Raton: Taylor & Francis, 2017. CRC Press. DOI:10.1201/9781315152561 (date of access: 26.11.2023).

10. Cantón, G. J. (2022). Spatial-temporal trends and economic losses associated with bovine abortifacients in central Argentina. *Tropical animal health and production*, Vol. 54, no. 4. DOI:10.1007/s11250-022-03237-0. (date of access: 26.11.2023).

11. Zhang, H. (2020). Abortion and various associated risk factors in dairy cow and sheep in Ili, China. *PloS one*, Vol. 15, no. 10, e0232568. DOI:10.1371/journal.pone.0232568. (date of access: 26.11.2023).

12. Clothier, K., Anderson, M. (2016). Evaluation of bovine abortion cases and tissue suitability for identification of infectious agents in California diagnostic laboratory cases from 2007 to 2012. *Theriogenology*, Vol. 85, no. 5, pp. 933–938. DOI:10.1016/j.theriogenology.2015.11.001. (date of access: 26.11.2023).

13. Rump T. Coarsening processes in thin liquid films analysis and numerics. Available at: <http://d-nb.info/989455394/34> (date of access: 26.11.2023).

14. Mee, J. F. (2016). A practitioner's guide to post-mortem examination of an aborted or stillborn calf. *Livestock*, Vol. 21, no. 1, pp. 38–43. DOI:10.12968/live.2016.21.1.38. (date of access: 26.11.2023).

15. Bahrii, M.M., Dibrova, V.A., Popadynets, O.H., Hryshchuk, M.I. (2016). *Metodyky morfologichnyh doslidzhen': monografija [Methods of morphological research: monograph]*. Vinnytsia: New book, 328 p. (in Ukraine).

16. Horalskyi, L. P., Khomych, V. T., Kononskyi, O. I. (2005). *Osnovy histolohichnoi tekhniky i morfofunktsionalni metody doslidzhen u normi ta pry patolohii: navch. posib. Vyd. 3-je, vypr. i dopov. [Basics of histological technique and morphofunctional research methods in normal and pathological conditions: teaching manual. The 3rd edition, corrected and supplemented]*. Zhytomyr: Polissia, 288 p. (in Ukraine).

17. Mahajan, V. (2013). Comparison of diagnostic tests for diagnosis of infectious bovine rhinotracheitis in natural cases of bovine abortion. *Journal of comparative pathology*, Vol. 149, no. 4, pp. 391–401. DOI:10.1016/j.jcpa.2013.05.002. (date of access: 26.11.2023).



18. Rodger, S. M. (2007). Microscopical lesions and antigen distribution in bovine fetal tissues and placentae following experimental infection with bovine Herpesvirus-1 during pregnancy. *Journal of comparative pathology*, Vol. 137, no. 2–3, pp. 94–101. DOI:10.1016/j.jcpa.2007.04.022. (date of access: 26.11.2023).

19. Crook, T. (2012). Bovine herpesvirus 1 abortion: Current prevalence in the United Kingdom and evidence of hematogenous spread within the fetus in natural cases. *Journal of veterinary diagnostic investigation: official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc*, Vol. 24, no. 4, pp. 662–670. DOI:10.1177/1040638712448187. (date of access: 26.11.2023).

20. Dağalp, S. B. (2020). An assessment of bovine herpes virus 4 as a causative agent in abortions and neonatal death. *The Onderstepoort journal of veterinary research*, Vol. 87, no. 1. DOI:10.4102/ojvr.v87i1.1761. (date of access: 26.11.2023).

21. Asmare, K. (2023). Seroprevalence and risk factors associated with bovine herpesvirus 1 (BHV-1) infection in dairy cattle in southern and central Ethiopia. *Preventive veterinary medicine*, 105959 p. DOI:10.1016/j.prevetmed. 2023.105959. (date of access: 26.11.2023).

22. Deim, Z., Szeredi, L., Egyed, L. (2007). Detection of bovine herpesvirus 4 DNA in aborted bovine fetuses. *Canadian journal of veterinary research. Revue canadienne de recherche veterinaire*, Vol. 71. no. 3. pp. 226–229.

23. Tuncer-Göktuna, P. (2016). The role of herpesviruses (BoHV-1 and BoHV-4) and pestiviruses (BVDV and BDV) in ruminant abortion cases in western Turkey. *Tropical animal health and production*, Vol. 48, no. 5, pp. 1021–1027. DOI: 10.1007/s11250-016-1050-5. (date of access: 26.11.2023).

24. Cvetojević, Đ. (2016). Prevalence of Bovine herpesvirus type 4 in aborting dairy cows. *Polish journal of veterinary sciences*, Vol. 19, no. 4, pp. 731–736. DOI: 10.1515/pjvs-2016-0092. (date of access: 26.11.2023).

25. Deim, Z. (2006). Detection of bovine herpesvirus 4 in aborted bovine placentas. *Microbial pathogenesis*, Vol. 41, no. 4–5, pp. 144–148. DOI:10.1016/j.micpath.2006.03.006 (date of access: 26.11.2023).

26. Esposito, C. (2022). Involvement of herpesviruses in cases of abortion among water buffaloes in southern Italy. *Veterinary research communications*, Vol. 46, no. 3, pp. 719–729. DOI:10.1007/s11259-022-09887-7 (date of access: 26.11.2023).

27. Wathes, D.C. (2020). Importance of viral disease in dairy cow fertility. *Engineering* (Beijing, China), Vol. 6, no. 1, pp. 26–33. DOI:10.1016/j.eng.2019.07.020. (date of access: 26.11.2023).

### **Comprehensive diagnosis of abortion in cattle** **Nyzhnyk B., Valchuk O.**

Abortion is one of the most common factors that has an extremely negative effect on the reproductive capacity of cattle, resulting in significant economic losses. Abortions can be caused by infectious and non-infectious agents. Diagnosis of abortion is a difficult task, since only about 40% of abortions are diagnosed as infectious, and the remaining 60% as unknown etiology. The goal was to establish the infectious etiology of abortion using complex diagnostics. The research was carried out in the laboratories of "Center of Veterinary Diagnostics" LLC (Kyiv). The selection of samples for research was carried out in the section hall of the LLC "Center of Veterinary Diagnostics" during the autopsy. The material for the study was a fetus and a vaginal smear from an aborted cow. Abortion occurred at 4 months of pregnancy. To establish the etiology, the following research methods were used: patho-anatomical, bacteriological, histological and molecular genetic (PCR-RT). Autolysis, light gray foci  $\leq 2$  mm in diameter in the lungs, and multiple light gray foci  $\leq 1$  mm in diameter in the liver were the main pathological findings. The main pathohistological changes detected were focal myocarditis, intranuclear inclusion bodies in hepatocytes, multifocal coagulation necrosis in the lungs and liver, and diffuse interstitial nephritis. Bacteriological culture was negative. DNA of infectious bovine rhinotracheitis virus (IBRV) and DNA of bovine herpesvirus type 4 (BHV-4) was isolated from the examined samples of fetal tissues and vaginal smear by PCR-RT. Using a comprehensive study, infectious agents and changes characteristic of the infectious process were identified. On the basis of the obtained results, the etiology of the abortion was established as co-infection of IBRV and BHV-4. Complex diagnostics provides an opportunity to establish a cause-and-effect relationship between the identified infectious agent and pathological changes in the fetus and the etiology of abortion. The results of a set of studies provide information on the manifestation of herpesvirus co-infection and complement the existing knowledge that can be used in the diagnosis of abortions in cows.

**Key words:** abortion, cattle, IBRV, BHV-4, co-infection, PCR-RT, pathohistology, diagnosis.



Copyright: Нижник Б.Ю., Вальчук О.А. © This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

ORCID iD:

Нижник Б.Ю.

Вальчук О.А.

<https://orcid.org/0000-0001-5846-8480>

<https://orcid.org/0000-0002-4178-0352>

