

effective concentration of "Biolide" for disinfection concerning reference strains *Candida albicans* ATCC 10231 and *Aspergillus niger* ATCC 16404. The tests were conducted in the State Scientific Research Institute of Laboratory Diagnostics and Veterinary and Sanitary Expertise. We used bactericidal drug "Biolide" based on hydrogen peroxide, perlactic acid and lactic acid. We determined the fungicidal action of different concentrations of "Biolide" and parameters of use following generally accepted recommendations. The study and determination of fungicidal concentrations of "Biolide" were carried out by the following methods: suspension, paper disks. For this purpose, we prepared the following aqueous solutions of "Biolide" — 0.5, 1.0, 2.0, 2.5% and prepared spore suspensions of reference strains of *Candida albicans* ATCC 10231 ($2.5 \times 10^7/\text{cm}^3$) and *Aspergillus niger* ATCC 16404 ($1.8 \times 10^7/\text{cm}^3$). Control: the culture of fungi with working dilutions was the control. The tests revealed that a 2%-concentrated "Biolide" disinfectant has fungicidal effect concerning the reference strains *Candida albicans* ATCC 10231 and *Aspergillus niger* ATCC 16404. "Biolide" disinfectant solution at 2.0% concentration and an exposure time of 60 minutes exhibits fungicidal properties on the test objects (wood, iron, brick, plaster)

Keywords: *Candida albicans*, *Aspergillus niger*, test objects

УДК 619:616.98-078:579.873.21:57.083.32:636.22/.28

DOI 10.36016/VM-2021-107-5

ВИЗНАЧЕННЯ ПРИЧИН АЛЕРГІЧНИХ РЕАКЦІЙ НА ТУБЕРКУЛІН У ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ

**Завгородній А. І., Білушко В. В., Позмогова С. А.,
Калашник М. В., Калашник Н. В., Кіптенко А. В., Стешенко Л. М.**
Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної
ветеринарної медицини», Харків, Україна, e-mail: nick.v.kalashnik@gmail.com

У статті наведено результати обстеження великої рогатої худоби в чотирьох вільних від туберкульозу тваринницьких господарствах протягом 2020–2021 рр. Зразки біологічного матеріалу відбирали та досліджували в лабораторії вивчення туберкульозу ННЦ «ІНЦВМ». Комплексним методом встановлено причини алергічних реакцій на мікобактеріальні алергени. Метою досліджень було проведення епізоотологічного моніторингу та визначення причин позитивних шкірних туберкулінових проб великої рогатої худоби в чотирьох вільних від туберкульозу господарствах. Ці господарства знаходилися в різних регіонах України. Використовували епізоотологічний, клінічний, алергічний, патологоанатомічний, бактеріологічний та біологічний методи, у тому числі патологоанатомічне дослідження зразків біологічного матеріалу (лімфатичних вузлів та внутрішніх органів), фарбування за методом Ціля–Нільсена під час бактеріоскопії. Зразки біологічного матеріалу попередньо обробляли за методом А. П. Алікаєвої та 0,9 %-м розчином цетилпіридинію хлориду та висівали на селективні поживні середовища для культивування мікобактерій. У результаті проведеного дослідження із зразків біологічного матеріалу трьох гуртів великої рогатої худоби виділено сім культур нетуберкульозних мікобактерій. Установлено, що ці ізоляти представлені чотирма видами мікобактерій — *M. smegmatis*, *M. phlei*, *M. fortuitum*, *M. scrofulaceum*. Крім того, дві культури *M. avium* subsp. *paratuberculosis* було ізольовано в одному гурті великої рогатої худоби. Короткострокова сенсibilізація до туберкуліну для ссавців у великої рогатої худоби в трьох господарствах була обумовлена атипovими мікобактеріями чотирьох видів: *M. smegmatis*, *M. phlei*, *M. fortuitum* і *M. scrofulaceum*, що персистують в організмі тварин і не спричиняють розвитку інфекційного туберкульозного процесу. Мікобактерії підвиду *M. avium* subsp. *paratuberculosis* обумовлюють латентну форму перебігу інфекційного процесу в організмі великої рогатої худоби та сенсibilізацію до туберкуліну, а також патологоанатомічні ураження у тонкому відділі кишечника. Кролі місячного віку, сприйнятливі до збудника паратуберкульозу, можуть бути використані як експериментальна модель для визначення біологічних властивостей епізоотичних культур *M. avium* subsp. *paratuberculosis* і встановлення діагнозу на паратуберкульозний ентерит. Гурти великої рогатої худоби, в яких сенсibilізація обумовлена атипovими мікобактеріями, слід вважати благополучними щодо туберкульозу, а контроль благополуччя та диференціацію

неспецифічних реакцій на туберкулін необхідно проводити із застосуванням симультанної проби з туберкуліном ППД для ссавців і алергеном з атипових мікобактерій. Дослідження великої рогатої худоби у разі підозри захворювання на паратуберкульозний ентерит необхідно проводити комплексним методом із застосуванням алергічного, серологічного (РЗК, ІФА), патологоанатомічного, бактеріологічного та молекулярно-генетичних методів досліджень з використанням біологічної проби на кролях місячного віку

Ключові слова: паратуберкульозний ентерит, *M. avium subsp. paratuberculosis*, атипові мікобактерії

Скотарські господарства можуть бути прибутковими лише за умови благополуччя поголів'я стосовно інфекційних захворювань, відсутності порушень технологічного процесу, що призводить до зниження кількості та якості продукції. Особливе місце серед хронічних інфекційних захворювань великої рогатої худоби займають туберкульоз і лейкоз, що також становлять загрозу здоров'ю людей.

Незважаючи на впровадження системи профілактики та оздоровлення поголів'я великої рогатої худоби від цих захворювань і на сьогодні виявляють спорадичні випадки інфікування тварин збудниками туберкульозу та лейкозу у благополучних і рецидиви цієї інфекції в оздоровлених господарствах у багатьох країнах світу [1, 2].

Разом з цим деякі автори встановили, що вірус лейкозу в організмі інфікованих тварин обумовлює імуносупресивний стан і, тим самим, зумовлює підвищену сприйнятливість у таких тварин до збудників інших вірусних і бактеріальних захворювань [3, 4].

Крім того, є окремі повідомлення, що у серопозитивних на лейкоз тварин під час проведення алергічних досліджень на туберкульоз відмічають гіперчутливість сповільненого типу на туберкулін (ППД) для ссавців [1–3]. Алергічні реакції на мікобактеріальний алерген у тварин можуть бути обумовлені як збудниками туберкульозу (*M. bovis*, *M. tuberculosis*, *M. avium subsp. avium*), паратуберкульозу (*M. avium subsp. paratuberculosis*), так і окремими видами атипових мікобактерій. Псевдоалергічні внутрішньошкірні реакції на туберкулін для ссавців в окремих тварин виявляли за згодовування грубих кормів, уражених мікроміцетами, гельмінтозних захворювань, вузликового дерматиту, а також запальних процесів у легенях [12].

Проблема неспецифічних алергічних реакцій на туберкулін для ссавців у благополучних гуртах великої рогатої худоби виникла ще у 1950-х роках минулого століття. У подальшому цей феномен спостерігався у багатьох країнах світу. Проведеними дослідженнями з вивчення таксономії мікобактерій, ізольованих у різних країнах світу та на різних континентах, міжнародною робочою групою було встановлено, що збудники туберкульозу відрізняються від інших видів мікобактерій за вірулентністю, а деякі з них мають загальні антигени з атиповими мікобактеріями, незалежно на якому континенті їх було виділено [5–8].

Ефективність профілактичних та оздоровчих протитуберкульозних заходів залежить, перш за все, від якості та специфічності діагностичних тестів, які використовуються в системі диспансеризації тварин і своєчасного виявлення джерела збудника.

На сьогодні у загальносвітовій практиці для контролю благополуччя й оздоровлення стад від туберкульозу великої рогатої худоби застосовують внутрішньошкірну туберкулінову пробу, за результатами якої визначають епізоотичний статус гуртів щодо цього захворювання. Основним недоліком алергічного методу є те, що в гуртах виявляють тварин як зі специфічними, так і з параалергічними та псевдоалергічними реакціями на внутрішньошкірне введення туберкуліну. Під час діагностичного забою реагуючих на туберкулін тварин у них не виявляють в органах і тканинах характерних для туберкульозу уражень, а з відібраного від цих тварин біоматеріалу збудника туберкульозу бактеріологічним методом не виділяють. При цьому господарства втрачають кошти із-за необґрунтованого забою продуктивних тварин і проведення додаткових ветеринарно-санітарних заходів.

Для диференціації специфічних від неспецифічних реакцій в різних країнах застосовували очну, внутрішньовенну, пальпебральну пробу з різними дозами алергенів, надплевральну новокаїнову блокаду, симультанну пробу з різними моноалергенами, РА, РГ, РНГА, РЗК, РТЗК, ІФА, ПЛР, γ-інтерфероновий тест. Перелічені серологічні, молекулярно-генетичні методи не знайшли широкого застосування у ветеринарній практиці для діагностики туберкульозу. Тому зажиттєва діагностика туберкульозу великої рогатої худоби не може бути здійснена одним

універсальним тестом. Для визначення природи неспецифічних реакцій на туберкулін у благополучних щодо туберкульозу скотарських господарствах найбільшого визнання та застосування у країнах Європи отримала симультанна проба з туберкуліном (ППД) для ссавців і птиці, яку і на сьогодні застосовують для диференціації специфічних від параалергічних реакцій [11, 12].

При цьому слід зазначити, що у благополучних щодо туберкульозу впродовж понад п'ять років країнах (Швеції, Данії, Канаді, Німеччині, Фінляндії, Сполучених Штатах Америки) дослідження великої рогатої худоби алергічним методом не проводять, а контроль епізоотичної ситуації в стадах здійснюють за результатами ветеринарно-санітарної експертизи туш забитих тварин на м'ясопереробних підприємствах. У разі підозри захворювання на туберкульоз все поголів'я гурту досліджують симультанною пробю з туберкуліном для ссавців та птиці. Якщо у реагуючих тварин інтенсивність внутрішньошкірної реакції більше виражена на туберкулін для птиці в порівнянні з реакцією на туберкулін для ссавців, то такі стада вважають благополучними, а реакції — як неспецифічні. Якщо під час експертизи туш у забитих тварин виявляють патологоанатомічні ураження, то все поголів'я гурту оздоровлюють, а в окремих випадках — шляхом повної заміни стада. В Україні з цією метою застосовують симультанну пробу з туберкуліном для ссавців та алергеном з атипівих мікобактерій [9, 10, 13].

Не дивлячись на те, що поголів'я великої рогатої худоби в Україні оздоровлено від туберкульозу, однак, під час планових моніторингових досліджень щорічно у 120–150 господарствах виявляють реагуючих тварин, у тому числі і неблагополучних щодо лейкозу. Проте, необхідно зазначити, що в організмі тварин можуть одночасно циркулювати як *M. bovis*, так і персистувати атипіві мікобактерії. Відомо також, що інфекційний туберкульозний процес може мати латентну форму перебігу, особливо у тварин заражених *M. tuberculosis*. Тому недооцінка неспецифічних реакцій може призвести до невиправданого забою здорових тварин, а недооцінка цього явища — до поширення туберкульозної інфекції у стаді.

Матеріали та методи. Для з'ясування епізоотичної ситуації щодо туберкульозу та визначення природи реакцій на туберкулін, нами було відібрано чотири благополучні господарства, в яких впродовж двох років виявляли реагуючих на туберкулін та в двох із них утримувались серопозитивні у реакції імунодифузії (РІД) на лейкоз, а також хворі на мастит та ендометрит тварини.

Дослідження поголів'я великої рогатої худоби у кількості 3 838 гол. у чотирьох господарствах проводили клінічним і алергічним методами на туберкульоз.

Алергічні дослідження проводили симультанною пробю з застосуванням туберкуліну очищеного (ППД) для ссавців у стандартному розчині та алергену сухого очищеного із атипівих мікобактерій (ААМ), виготовлених ДП «Сумська біофабрика». Мікобактеріальні алергени вводили внутрішньошкірно безголковими ін'єкторами за наступною схемою: туберкулін з лівої сторони, а ААМ — з правої сторони у середню третину шиї на попередньо вистрижене й оброблене спиртом ректифікатом місце у дозі 0,1 см³.

Під час патологоанатомічного дослідження забитих з діагностичною метою тварин оглядали та відбирали для культурального дослідження підщелепні, заглоткові, бронхіальні, середостінні, портальні, мезентеріальні, передлопаткові, надвимв'яні, колінної складки лімфатичні вузли та шматочки печінки, селезінки, потовщені ділянки тонкого та товстого відділів кишечника.

Проби відібраного біологічного матеріалу від 23 реагуючих на мікобактеріальні алергени корів досліджували культуральним методом в умовах стерильного боксу у лабораторії вивчення туберкульозу ННЦ «ІЕКВМ».

Деконтамінацію проб лімфатичних вузлів і шматочків внутрішніх органів від сторонньої мікрофлори проводили за методом А. П. Алікаєвої. Відібрані проби кишечника подрібнювали на шматочки розміром 0,5–1,0 см² та обробляли 0,9 %-м розчином цетилпіридинію хлориду за експозиції 20 год. Після цього розчин зі ступок видаляли, а шматочки розтирали товчачиком зі стерильним піском до отримання гомогенної однорідної маси. У ступки додавали 0,85 %-й стерильний фізіологічний розчин у співвідношенні 1:5, ретельно перемішували та після осідання піску стерильною піпеткою з середнього шару рідини відбирали 10,0 см³ проби, переносили у центрифужні пробірки та центрифугували (3 000 об./хв) упродовж 15 хв. Після цього надосадову рідину зливали, а отриманий осад дворазово промивали стерильним ізотонічним розчином.

Отриманий осад ресуспендували у фізіологічному розчині (1:5). Кожну пробу досліджуваного біоматеріалу окремо висівали на яєчне поживне середовище для культивування мікобактерій. Проби кишковика додатково висівали на поживне середовище з фактором росту. Пробірки з висівами культивували в термостаті за температури $37,0 \pm 0,5$ °C впродовж 90 діб.

Облік росту мікобактерій на поживному середовищі проводили щодобово у перші сім діб, а в подальшому — щотижнево впродовж 90 діб. У разі виявлення росту колоній на поверхні поживного середовища, з них виготовляли мазки, які фарбували за методом Ціля–Нільсена та проводили мікроскопію на наявність кислотостійких мікобактерій та їхню чистоту. У разі виявлення в мазках кислотостійких паличок червоного кольору первинні культури висівали на поживне середовище Павловського для накопичення бактеріальної маси. У виділених епізоотичних культур визначали швидкість росту, морфологію колоній, ріст за температур 25, 37 і 45 °C, їхню пігментацію, швидкість росту на середовищі з саліцилатом натрію і 5,0 %-м хлоридом натрію. Крім цього визначали каталазну активність, здатність гідролізувати твін-80, реакцію з телуритом калію, а також реакцію акумуляції заліза.

Після визначення видової належності вивчали біологічні властивості у дослідах на мурчаках, які не реагували на туберкулін та ААМ. Культуру, яку було ідентифіковано як *M. avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) досліджували у дослідах на кролях місячного віку. Для цього з кожної окремо взятої культури готували зависі 1,0 та 2,0 мг/см³ на стерильному фізіологічному розчині. Виготовлені зависі культур вводили мурчакам внутрішньом'язово у внутрішню поверхню стегна (1,0 мг/см³), а кролям — внутрішньовенно у крайову вену лівого вуха в дозі 2,0 мг/см³. За тваринами вели спостереження впродовж 90 діб та досліджували симультанною пробую триразово з інтервалом 30 діб.

Результати досліджень. Дослідження поголів'я в господарствах проводили комплексним методом із застосуванням епізоотологічного, клінічного, алергічного, патологоанатомічного та бактеріологічного методів дослідження на туберкульоз. За результатами аналізу епізоотичної ситуації було встановлено наявність реагуючих на туберкулін тварин під час проведення планових алергічних досліджень упродовж останніх двох років, а причини цих реакції були нез'ясованими.

У результаті обстеження 3 838 гол. великої рогатої худоби у чотирьох досліджуваних господарствах тварин з клінічними ознаками туберкульозу не було виявлено. Результати проведених алергічних, патологоанатомічних і бактеріологічних досліджень наведено в таблиці.

Таблиця — Результати дослідження великої рогатої худоби на туберкульоз в господарствах

№ господарства	Досліджено, гол.	Кількість досліджень	Методи досліджень								Діагноз на туберкульоз
			Алергічний				Патолого-анатомічний		Бактеріологічний		
			Реагувало з більшою інтенсивністю реакції, гол.				Досліджено, гол.	результат	Досліджено, гол.	результат	
			усього	ППД	ААМ	з однаковою реакцією					
1	1 850	2					3	негат.	3	<i>M. smegmatis</i> <i>M. fortuitum</i> <i>M. phlei</i>	негат.
2	589	2	58	6	45	7	13	негат.	13	<i>M. scrofulaceum</i> <i>M. fortuitum</i>	негат.
3	859	2	36	2	33	1	3	негат.	3	<i>M. phlei</i> <i>M. fortuitum</i>	негат.
4	540	2	12	1	9	3	4	ураження кишковика	4	<i>M. paratuberculosis</i>	позит.
Усього	3 838	8	136	12	118	11	23	—	23	—	—

Під час обліку реакцій на внутрішньошкірне введення туберкуліну та ААМ з числа досліджених тварин у симультанній пробі було виділено 136, які реагували на обидва алергени. З них у господарстві № 1 реагувало 24 тварини, у господарстві № 2 — 58, № 3 — 36, № 4 — 12. При цьому 12 тварин реагували з більшою інтенсивністю на туберкулін для ссавців з потовщенням складки шкіри на 3–4 мм. У 118 тварин у цих господарствах реакції були більш вираженими на ААМ з потовщенням шкіряної складки від 5 до 10 мм. При цьому 11 корів реагували з однаковою інтенсивністю реакції на обидва алергени з потовщенням шкіри на 3–5 мм. Якщо оцінювати результати симультанної алергічної проби в цілому по стаду у кожному господарстві окремо, то в трьох господарствах (№№ 1–3) реакції у тварин були достовірно вираженими на алерген з атипичних мікобактерій, а в господарстві № 4 отримано невизначений результат. Проте слід зазначити, що реакції на мікобактеріальні алергени відмічали тільки у корів дійного стада, тоді як серед досліджуваних нетелів, телиць парувального віку та молодняку в жодному випадку реагуючих тварин не було виявлено.

Крім цього за дворазового алергічного дослідження реагуючих на мікобактеріальні алергени тварин не виявляли серед серопозитивних у РІД на лейкоз (52 гол.), з різною формою запального процесу на мастит (24 гол.) та післяпологовий ендометрит (12 гол.).

З метою визначення природи реакцій гіперчутливості сповільненого типу у тварин дослідних господарств для діагностичного забою були відібрані тварини, які реагували з більшою інтенсивністю реакцій на туберкулін для ссавців (12 гол.) та з однаковими реакціями на обидва алергени (11 гол.). Під час патологоанатомічного дослідження 19 тварин у трьох господарствах (№№ 1–3) у лімфатичних вузлах і внутрішніх органах характерних для туберкульозу уражень не було встановлено. В однієї тварини з господарства № 4 у заглиблених лімфатичних вузлах відмічали гіперплазію, у другій корови — незначне збільшення окремих мезентеріальних лімфатичних вузлів, потовщення ділянок тонкої та ободової кишок, а на розрізі відмічали гіперемію, набряк і поперечні складки слизової оболонки, які не розгладжувалися.

За культурального дослідження відібраного від забитих тварин біологічного матеріалу з господарств № 1 та № 3 на 7-му добу відмічали ріст світло-сірого та світло-жовтого кольору колоній мікобактерій.

З біологічного матеріалу від тварин господарства № 2 первинний ріст пігментованих колоній було встановлено на 20-ту добу у вигляді маслянистої консистенції колоній з гладенькою матовою поверхнею.

З біоматеріалу від тварин, що належали господарству № 4 первинний ріст колоній мікобактерій на поживному середовищі тільки з фактором росту спостерігали через 65–90 діб у двох випадках.

У подальшому на першому пасажі ізольовані п'ять культур вирости на поживному середовищі на 3–5-ту доби, одна культура — на 12-ту добу, а дві інші — після трьох послідовних пасажів ріст колоній було встановлено на 30–35-ту доби тільки на середовищі з фактором росту.

Під час мікроскопії мазків з виділених культур було встановлено наявність коротких і довгастих із закругленими кінцями, а також дрібних кислотостійких паличок світло-сірого кольору, що розташовувалися поодинокі та скупченнями у полі зору мікроскопа.

Чотири культури росли на поживному середовищі за температур 25, 37 і 45 °С на середовищі з 5,0 %-м NaCl і саліцилатом натрію, мали позитивну реакцію з карбамідом, нікотинамідом, піразинамідом, телуритом калію, гідролізували твін-80, каталазну активність, а один ізолят акумулював залізо. Дві інші швидкозростаючі культури вегетували на середовищі за температур 25 і 37 °С та акумулювали у процесі росту залізо, були толерантними до 5,0 %-го NaCl, у процесі росту гідролізували твін-80, мали позитивну реакцію з карбамідом і телуритом калію та слабковиражену реакцію з нікотинамідом та піразинамідом і не росли за температури 45 °С.

Скотохромогенна субкультура виростала на 12-ту добу за температур 25 і 37 °С, мала помаранчевий колір, не росла на середовищі за температури 45 °С, з 5,0 %-м NaCl, саліцилатом натрію, не акумулювала лимонноаміачне залізо, мала негативну каталазну активність, реакцію з телуритом калію, твін-80 та позитивну амідазну активність.

Дві субкультури виділені від корів з господарства № 4 повільно вирости на середовищі з фактором росту на 30–35-ту доби тільки за температури 37,0 ± 0,5 °С, не росли на середовищі за температур 25 і 45 °С, на середовищі зі вмістом 5,0 %-го NaCl та саліцилатом натрію, не

акумулювали залізо, мали негативну каталазну та нікотинамідазну, а також слабкопозитивну карбамідазну та піразинамідазну реакції, гідролізували твін-80 та відновлювали телурит калію на 21-шу добу.

На підставі вивчення тінкторіальних, культурально-біохімічних властивостей 3 ізольовані культури мікобактерій було віднесено до виду *M. fortuitum*, до *M. phlei* — 2, до *M. smegmatis* — 1, до *M. scrofulaceum* — 1, а також до *M. avium* subsp. *paratuberculosis* — 2 культури.

Під час вивчення біологічних властивостей у дослідах на мурчаках культури *M. smegmatis*, *M. phlei*, *M. fortuitum* обумовлювали сенсibilізацію до туберкуліну для ссавців та ААМ на 30-ту добу, а *M. scrofulaceum* — на 30-ту та 60-ту доби після одноразової інокуляції. При цьому реакції у мурчаків були інтенсивніше виражені на ААМ у порівнянні з реакцією на туберкулін для ссавців. В евтазованих через 90 діб мурчаків в органах і тканинах туберкульозних уражень не було встановлено. У заражених дворазово внутрішньовенно кролів місячного віку культурами MAP реакція на туберкулін для ссавців була відсутньою, тоді як на туберкулін для птиці позитивно реагували всі досліджені тварини. У подальшому під час клінічного огляду на 35–38-му доби у дослідних тварин відмічали незначне пригнічення, кволість, затримку росту, атрофію м'язів задніх кінцівок, на 42–45-му доби — діарею та загибель на 45–50-ту добу. Під час патологоанатомічного дослідження у загиблих тварин у тонкому відділі кишковика (клубова та тонка кишка) та у ділянці ілеоцекального клапана відмічали характерні для паратуберкульозу ураження, а з біоматеріалу були ізольовані вихідні культури MAP.

Висновки. 1. Короткострокова сенсibilізація до туберкуліну для ссавців у великої рогатої худоби в трьох господарствах була обумовлена атиповими мікобактеріями чотирьох видів: *M. smegmatis*, *M. phlei*, *M. fortuitum* і *M. scrofulaceum*, що персистують в організмі тварин і не спричиняють розвитку інфекційного туберкульозного процесу.

2. Мікобактерії підвиду *M. avium* subsp. *paratuberculosis* обумовлюють латентну форму перебігу інфекційного процесу в організмі великої рогатої худоби та сенсibilізацію до туберкуліну, а також патологоанатомічні ураження у тонкому відділі кишковика.

3. Кролі місячного віку, сприйнятливі до збудника паратуберкульозу, можуть бути використані як експериментальна модель для визначення біологічних властивостей епізоотичних культур *M. avium* subsp. *paratuberculosis* і встановлення діагнозу на паратуберкульозний ентерит.

4. Гурти великої рогатої худоби, в яких сенсibilізація обумовлена атиповими мікобактеріями, слід вважати благополучними щодо туберкульозу, а контроль благополуччя та диференціацію неспецифічних реакцій на туберкулін необхідно проводити із застосуванням симультанної проби з туберкуліном ППД для ссавців і алергеном з атипових мікобактерій.

5. Дослідження великої рогатої худоби у разі підозри захворювання на паратуберкульозний ентерит необхідно проводити комплексним методом із застосуванням алергічного, серологічного (РЗК, ІФА), патологоанатомічного, бактеріологічного та молекулярно-генетичних методів досліджень з використанням біологічної проби на кролях місячного віку.

Список літератури

1. Горжеев В. М. Епізоотологічний моніторинг та удосконалення системи боротьби з туберкульозом рогатої худоби у господарствах України: автореф. дис. ... канд. вет. наук. Харків: ІЕКВМ УААН, 2005. 20 с. URL: <https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0405U003269>.
2. Завгородній А. І., Стегній Б. Т., Бісюк І. Ю., Горжеев В. М., Герілович А. П., Палій А. П., Позмогова С. А., Комісаренко С. В. Система епізоотологічного моніторингу, діагностики, профілактики та оздоровлення тваринництва України від туберкульозу. *Ветеринарна медицина України*. 2014. № 1. С. 10–13. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/vetm_2014_1_6.
3. Завгородній А. Туберкульоз: проблеми щодо боротьби з ним та шляхи їх вирішення. *Ветеринарна медицина України*. 2002. № 9. С. 19–20.
4. Шаров А. Н., Ярошенко Л. А., Суханов І. П. Эффективность методов прижизненной диагностики туберкулеза. *Ветеринария*. 2002. № 2. С. 16–18.
5. Alvarez J., Perez A., Bezos J., Marqués S., Grau A., Saez J. L., Mínguez O., de Juan L., Domínguez L. Evaluation of the sensitivity and specificity of Bovine tuberculosis diagnostic tests in naturally infected cattle herds using a Bayesian approach. *Veterinary Microbiology*. 2012. Vol. 155, iss. 1. P. 38–43. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2011.07.034>.
6. Basybekov S. Z., Bazarbayev M. B., Yespembetov B. A., Mussaeva A., Kanatbayev S. G., Romashev K. M., Dossanova A. K., Yelekeyev T. A., Akmatova E. K., Syrym N. S. Diagnostics of Tuberculosis and differentiation of nonspecific tuberculin reactions in animals. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2018. Vol. 49, iss. 2. P. 329–335. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2017.07.004>.

7. Buddle B. M., de Lisle G. W., Griffin J. F., Hutchings S. A. Epidemiology, diagnostics, and management of Tuberculosis in domestic cattle and deer in New Zealand in the face of a wildlife reservoir. *New Zealand Veterinary Journal*. 2015. Vol. 63, suppl. 1. P. 19–27. DOI: <https://doi.org/10.1080/00480169.2014.929518>.
8. Buddle B. M., McCarthy A. R., Ryan T. J., Pollock J. M., Vordermeier H. M., Hewinson R. G., Andersen P., de Lisle G. W. Use of mycobacterial peptides and recombinant proteins for the diagnosis of Bovine tuberculosis in skin test-positive cattle. *The Veterinary Record*. 2003. Vol. 153, iss. 20. P. 615–620. DOI: <https://doi.org/10.1136/vr.153.20.615>.
9. De Garine-Wichatitsky M., Caron A., Kock R., Tschoop R., Munyeme M., Hofmeyr M., Michel A. A review of Bovine tuberculosis at the wildlife-livestock-human interface in sub-Saharan Africa. *Epidemiology and Infection*. 2013. Vol. 141, iss. 7. P. 1342–1356. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0950268813000708>.
10. Hartnack S., Torgerson P. The accuracy of the Single Intradermal Comparative Skin Test for the diagnosis of Bovine Tuberculosis estimated from a systematic literature search. *Mycobacterial Diseases*. 2012. Vol. 2. P. 120. URL: <https://doi.org/10.4172/2161-1068.1000120>.
11. Mathews F., Macdonald D. W., Taylor G. M., Gelling M., Norman R. A., Honess P. E., Foster R., Gower C. M., Varley S., Harris A., Palmer S., Hewinson G., Webster J. P. Bovine tuberculosis (*Mycobacterium bovis*) in British farmland wildlife: the importance to agriculture. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 2006. Vol. 273, iss. 1584. P. 357–365. DOI: <https://doi.org/10.1098/rspb.2005.3298>.
12. Sgaragli G., Frosini M. Human tuberculosis I. Epidemiology, diagnosis and pathogenetic mechanisms. *Current Medicinal Chemistry*. 2016. Vol. 23, iss. 25. P. 2836–2873. DOI: <https://doi.org/10.2174/0929867323666160607222854>.
13. Schiller I., Oesch B., Vordermeier H. M., Palmer M. V., Harris B. N., Orloski K. A., Buddle B. M., Thacker T. C., Lyashchenko K. P., Waters W. R. Bovine tuberculosis: a review of current and emerging diagnostic techniques in view of their relevance for disease control and eradication. *Transboundary and Emerging Diseases*. 2010. Vol. 57, iss. 4. P. 205–220. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1865-1682.2010.01148.x>.

DETERMINATION OF THE CAUSES OF ALLERGIC REACTIONS TO TUBERCULIN IN CATTLE

**Zavgorodniy A. I., Bilushko V. V., Pozmogova S. A., Kalashnyk M. V.,
Kalashnyk N. V., Kiptenko A. V., Steshenko L. M.**

National Scientific Center “Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine”, Kharkiv, Ukraine

The article presents the results of cattle examining in four free from tuberculosis livestock farms during 2020–2021. Samples of biological material were collected and studied in the Laboratory for tuberculosis study of the NSC “IECVM”. The causes of allergic reactions to mycobacterial allergens were established by a comprehensive method. The study was aimed to conduct epizootological monitoring and to determine the causes of positive tuberculin skin tests in cattle in four free from tuberculosis farms. These farms were located in different regions of Ukraine. Epizootological, clinical, allergical, anatomopathological, bacteriological and biological methods were used including a pathological examination of biological material samples (lymph nodes and internal organs), Ziehl–Nielsen staining while bacterioscopy. Samples of biological material were preliminary treated by A. P. Alikieva's method and 0.9% solution of cetylpyridinium chloride and inoculated on selective nutrient media for mycobacteria cultivation. As the result of conducted study seven cultures of nontuberculous mycobacteria were isolated from samples of biological material from three cattle herds. It was found that these isolates were represented by four mycobacterial species. There were *M. fortuitum*, *M. phlei*, *M. smegmatis* and *M. scrofulaceum*. In addition, two cultures of *M. avium* subsp. *paratuberculosis* were isolated from one cattle herd. Short-term sensitization to tuberculin for mammals in cattle was caused by atypical mycobacteria in three farms. There were four mycobacteria species; *M. smegmatis*, *M. phlei*, *M. fortuitum* and *M. scrofulaceum* which persists in the body of animals and does not cause the development of an infectious tuberculosis process. *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) causes the latent form of an infectious process in the body of cattle and sensitization to tuberculin, as well as pathological lesions in the small intestine. One-month-old rabbits susceptible to MAP can be used as an experimental model for determination of biological properties of epizootic cultures and diagnosis of paratuberculous enteritis. Herds of cattle in which sensitization is triggering by atypical mycobacteria should be considered as free from tuberculosis. Control of welfare and differentiation of nonspecific reactions to tuberculin should be carried out using a simultaneous test with PPD tuberculin for mammals and the allergen from atypical mycobacteria. The study of cattle with a suspicion of paratuberculous enteritis should be carried out by complex method using allergical, serological (CFT, ELISA), pathological, bacteriological and molecular-genetic research methods, as well as using a biological test on one month old rabbits.

Keywords: paratuberculous enteritis, *M. avium* subsp. *paratuberculosis*, nontuberculous mycobacteria