

**ASSESSMENT OF THERAPEUTIC EFFICIENCY ANTIMICROBIAL PREPARATIONS
«VERMIBAC-PLUS» FOR THE TREATMENT OF AEROMONOSIS FISH****Yevtushenko A. V., Yevtushenko I. D.***National Scientific Center «Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine», Kharkiv, Ukraine***Volovik T. P., Zboghinska O. V.***Rivne Experimental Station, Rivne*

Aim of this work was to develop a dosage form of antimicrobial preparations based florfenicol with natural sorbent vermiculite («Vermibak Plus»), to determine its therapeutic dose for of Aeromonas infection carp, do the research a comparative assessment of therapeutic efficacy of other antimicrobial preparations to test an experimental preparations series «Vermibak Plus» in production.

Materials and Methods. Experimental studies were performed on scaly carp, two years of age. Infected fish pathogen of Aeromonas with the use Aeromonas hydrophila strain K5-06. Have been conducted three series of experiments: on the first stage of determining the optimal composition therapeutic agent, on the second stage was carried out a comparative analysis of the effectiveness of existing therapeutic agents, in the third stage carry out the tests the preparations in a production environment.

Results. The results of the first series of experiments proved most perspective form of the preparations which included florfenicol 4 % and vermiculite 96 % («Vermibak Plus»). The results of the second series of experiences showed therapeutic dose «Vermibak Plus» was 30% lower dose (by DS), other antimicrobial preparations with similar for the same active substance – preparations «Flosan» and «Floron». By results of of the third series of experiments efficacy «Vermibak Plus» was 100% for of the spontaneous of Aeromonas infection of carp in a production environment fish farms.

Conclusions. Developed by antimicrobial preparation dosage form based florfenicol with natural sorbent vermiculite – preparation «Vermibak-plus». Therapeutic efficacy is observed at a dose of 7 mg/kg (for DS) for seven days. Results of production testing an experimental preparation series «Vermibak Plus» indicate that that he is not inferior to imported preparation efficiency and relieve organism of fish from infection after seven days of treatment.

Keywords: aeromonady, vermiculite, florfenicol, fish and therapeutic efficacy

УДК: 619:616.98:579.873.21:636

**ВИВЧЕННЯ СЕНСИБІЛІЗУЮЧИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ АТИПОВИХ
МІКОБАКТЕРІЙ, ІЗОЛЬОВАНИХ ІЗ БІОМАТЕРІАЛУ
ВІД ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ ТА З ОБ'ЄКТІВ ДОВКІЛЛЯ****Завгородній А. І., Білушко В. В.***Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини»,
м. Харків, Україна, e-mail: bw.pochta@gmail.com***Загребельний В. О.***Державний науково-дослідний інститут з лабораторної діагностики та ветсанекспертизи,
м. Київ, Україна, e-mail: zvo1@i.ua***Балим Ю. П.***Харківська державна зооветеринарна академія, м. Харків, Україна*

У статті наведено результати досліджень з вивчення сенсibilізуючих властивостей культур атипovих мікобактерій, які були виділені та ідентифіковані з біологічного матеріалу від великої рогатої худоби та з об'єктів навколишнього середовища утримання тварин.

Ключові слова: атипovі мікобактерії, велика рогата худоба, сенсibilізація, неспецифічні реакції

Відомо, що сенсibilізацію у великої рогатої худоби до туберкуліну (ППД) для ссавців зумовлюють як збудники туберкульозу, так і непатогенні атипovі мікобактерії, яких в Україні ідентифіковано 18 видів (II, III і IV група за класифікацією Раньона). Усього у світі ідентифіковано, на сьогодні, понад 300 видів мікобактерій [1, 2]. Атипovі мікобактерії значно поширені у довкіллі, що зумовлює їх убиквітарність у навколишньому середовищі та живому організмі. Недивлячись на велику кількість інформації, залишаються не до кінця з'ясованими питання щодо сенсibilізації великої рогатої худоби атипovими мікобактеріями, що призводить до виникнення масових неспецифічних реакцій на туберкулін у тварин [3]. У господарствах різних регіонів і природно-кліматичних зон України

з біоматеріалу від великої рогатої худоби частіше виділяють культури мікобактерій видів *M. fortuitum*, *M. scrofulaceum*, *M. intracellulerae*, *M. phlei*, *M. smegmatis* та інші. У цілому, серед культур атипичних мікобактерій найчастіше виділяють культури, які належать до 4 групи за класифікацією Раньона. Існують повідомлення науковців щодо виділення мікобактерій від диких і домашніх тварин, а також від птиці, які з екскрементами потрапляють до навколишнього середовища утримання тварин, воду, корми і зумовлюють параалергічні реакції на туберкулін у великої рогатої худоби [4]. Явище сенсibiliзації тварин до туберкуліну зумовлене антигенною спорідненістю, тобто наявністю спільних антигенних детермінант у атипичних мікобактерій зі збудниками туберкульозу.

За даними ретроспективного аналізу матеріалів державної звітності щодо епізоотичної ситуації з туберкульозу серед поголів'я великої рогатої худоби у господарствах України за період 2011–2015 рр. встановлено 9 неблагополучних пунктів у Київській (5 господарств), Кіровоградській (1), Вінницькій (1), Черкаській (1) і Тернопільській (1) областях. Найбільшу кількість реагуючих на туберкулін тварин виявлено у Київській, Вінницькій, Черкаській, Полтавській, Кіровоградській і Хмельницькій областях. При бактеріологічному дослідженні біологічного матеріалу від великої рогатої худоби з господарств України державними лабораторіями ветмедицини за цей період виділено 316 культур атипичних мікобактерій.

За результатами власних комплексних діагностичних досліджень на туберкульоз (2011–2015 рр.) у 49-ти господарствах зон Степу та Лісостепу України (Харківська, Київська, Кіровоградська, Чернігівська, Хмельницька, Сумська області) культуральним методом виділено 8 культур збудника туберкульозу і 94 культури атипичних мікобактерій, які за культурально-морфологічними, біохімічними та біологічними властивостями були ідентифіковані таким чином: 2 культури – *M. tuberculosis*, 6 культур – *M. bovis* і 94 культури атипичних мікобактерій, які віднесені до III і IV груп за класифікацією Раньона.

Слід відмітити, що не у всіх господарствах, де має місце персистенція серед поголів'я великої рогатої худоби атипичних мікобактерій, проводяться комплексні дослідження на туберкульоз з виділенням та ідентифікацією культур мікобактерій, які спричиняють сенсibiliзацію організму тварин до туберкуліну [5]. Тому для більш об'єктивної оцінки та можливості прогнозування епізоотичної ситуації з туберкульозу важливо провести порівняльне вивчення сенсibiliзуючих властивостей основних видів культур атипичних мікобактерій, які ізолюють від поголів'я великої рогатої худоби, благополучних щодо туберкульозу скотарських господарств, а також з об'єктів довкілля.

Метою роботи було дослідження сенсibiliзуючих властивостей атипичних мікобактерій, ізольованих із біоматеріалу від великої рогатої худоби та встановлення кореляції між частотою виділення культур та їх здатністю сенсibiliзувати організм тварин до туберкуліну для ссавців.

Матеріали та методи. Дослідження з визначення сенсibiliзуючих властивостей атипичних мікобактерій проводили в умовах експериментальної бази ННЦ «ІЕКВМ» на 30-ти клінічно здорових морських свинках живою вагою не менше 350 г, які до початку досліду не реагували на внутрішньошкірне введення 25 МО туберкуліну (ППД) для ссавців.

Для сенсibiliзації лабораторних тварин використовували культури мікобактерій 5-ти видів, які найчастіше виділяють від тварин і з об'єктів навколишнього середовища – *M. scrofulaceum*, *M. intracellulerae*, *M. phlei*, *M. smegmatis*, *M. flavescens*. Зависі культур мікобактерій, виготовлених із розрахунку вмісту 1,0 мг бакмаси у 1,0 см³ стерильного ізотонічного розчину вводили морським свинкам підшкірно по 1,0 см³ зависі на кожну тварину. Алергічні дослідження морських свинок проводили симультанною алергічною пробою через 30 і 45 діб після інокуляції культур із використанням ППД-туберкуліну для ссавців та алергену з атипичних мікобактерій (ААМ), виробництва ДП «Сумська біофабрика». Алергени вводили внутрішньошкірно у попередньо депільовані та оброблені 70 ° етиловим спиртом ділянки шкіри з лівого та правого боку тварини у дозах по 25 МО і 40 ОД відповідно. Облік алергічних реакцій здійснювали через 24 години після введення мікобактеріальних алергенів шляхом вимірювання 2-х перпендикулярних діаметрів папули, яка утворювалась у місці ін'єкції препаратів.

Результати досліджень. Результати вивчення сенсibiliзуючих властивостей культур атипичних мікобактерій у досліді на морських свинках наведені у таблиці.

Таблиця – Вивчення сенсibiliзуючих властивостей культур атипичних мікобактерій

Культури мікобактерій / джерело виділення	Середній розмір папули після введення алергенів, мм			
	через 30 діб		через 45 діб	
	ППД	ААМ	ППД	ААМ
<i>M. intracellulerae</i>				
біоматеріал	15±1,1	23±1,9	12±1,0	19±1,5
об'єкти довкілля	7±0,5	12±1,1	6±0,55	10±0,9
<i>M. scrofulaceum</i>				
біоматеріал	11±1,0	17±1,6	9±0,5	13±1,2
об'єкти довкілля	6±0,7	10±1,2	6±0,7	8±0,6

<i>M. phlei</i>				
біоматеріал	9±1,0	14±1,2	9±1,1	12±0,9
об'єкти довкілля	8±0,7	12±1,1	7±0,4	10±0,8
<i>M. smegmatis</i>				
біоматеріал	12±1,3	19±1,6	9±0,7	14±1,2
об'єкти довкілля	10±0,8	16±1,3	7±0,4	12±1,0
<i>M. flavescens</i>				
біоматеріал	9±1,1	13±1,5	6±0,9	9±1,0
об'єкти довкілля	7±0,6	11±1,0	5±0,8	11±0,9

Як видно з таблиці, прояв алергічних реакцій на введення різних мікобактеріальних алергенів у лабораторних тварин відрізнявся у залежності від виду алергену, терміну після сенсibiliзації тварин, а також у залежності від джерел виділення культури. Так, слід відмітити, що у всіх випадках (табл.) алергічні реакції були вірогідно більше виражені у тих тварин, яким вводили культури мікобактерій, ізолювані з біологічного матеріалу, відібраного від великої рогатої худоби. Також у всіх дослідних тварин реакції на введення ААМ переважали реакції на ППД-туберкулін для ссавців, що є закономірним результатом. Якщо порівнювати інтенсивність реакцій у тварин на введення ППД (через 30 діб) у залежності від виду мікобактерій, то найбільш виражена була імунна відповідь на введення зависі культури *M. intracellulareae* (15±1,1), а найменша на *M. scrofulaceum* (6±0,7), на ААМ також відповідно *M. intracellulareae* (23±1,9) і *M. scrofulaceum* (10±1,2). Сумарна інтенсивність реакцій у морських свинок через 45 діб була нижче.

Висновок. За результатами проведених досліджень вірогідної різниці між дослідними культурами атипичних мікобактерій щодо сенсibiliзуючих властивостей не встановлено, при цьому визначено, що культури, ізолювані з біоматеріалу від великої рогатої худоби володіють вірогідно більш вираженими сенсibiliзуючими властивостями у порівнянні з культурами, ізолюваними з об'єктів довкілля.

Список літератури

1. Завгородній, А. І. Система епізоотологічного моніторингу, діагностики, профілактики та оздоровлення тваринництва України від туберкульозу [Текст] / А. І. Завгородній, Б. Т. Стегній, І. Ю. Бісюк [та ін.] // Ветеринарна медицина України. – 2014. – № 1. – С. 10-13.
2. Определитель бактерий Берджи [Текст] / под. ред. Дж. Хоулта [и др.]. – М.: Мир, 1997. – Т. 2., 429 с.
3. Найманов, А. Х. Экспериментальные данные по изучению сенсibiliзирующих свойств атипичных микобактерий и близкородственных бактерий *Nocardia* и *Rhodococcus* [Текст] / А. Х. Найманов, Г. И. Устинова, Н. Г. Толстенко, Е. П. Вангели, О. Д. Кучерук // Ветеринария и кормление. – 2015. – № 6. – С. 11-13.
4. Резервуары атипичных микобактерий в дикой и синантропной фауне Прииртышья [Текст] / В.Г. Ощепков [и др.] // Веткорм. – 2012. – № 4. – С. 24-26.
5. Горжеев, В.М. Епізоотологічний моніторинг та удосконалення системи боротьби з туберкульозом рогатої худоби у господарствах України [Текст]: автореф. дис. ... канд. вет. наук / ІЕКВМ УААН. – Х., 2005. – 20 с.

STUDY OF PROPERTIES SENSITIVE ATYPICAL MYCOBACTERIUMS, BIOMATERIALS ISOLATED FROM FROM CATTLE AND ENVIRONMENT WHITH THE AROUND OBJECT

Zavgorodnyy A. I., Bilushko V. V.

National Scientific Center «Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine», Kharkiv, Ukraine

Zagrebelny V. O.

State Scientific Research Institute of Laboratory Diagnostics and Veterinary Expertise, Kyiv, Ukraine

Balym Yu. P.

Kharkov State Zooveterinary Academy, Kharkiv, Ukraine

The results of studies on the sensitizing properties of atypical mycobacteria cultures that were isolated and identified from biological material from cattle and of the environment of the animals.

The aim was to study the sensitizing properties of atypical mycobacteria isolated from biomaterial from cattle and establishing correlations between the frequency allocation cultures and their ability to sensitize the animal organism to tuberculin.

Materials and methods. Studies to determine the sensitizing properties of atypical mycobacteria conducted on 30 guinea pigs. For sensitization of laboratory animals used cultures of Mycobacterium 5 species most commonly isolated from animals and of the environment - *M. scrofulaceum*, *M. intracellulareae*, *M. phlei*, *M. smegmatis*, *M. flavescens*. Allergic guinea pigs

study conducted simultaneous test after 30 and 45 days after inoculation plants using tuberculin for mammals and allergen of atypical mycobacteria.

The results. Manifestation of allergic reactions to the introduction of different mycobacterial allergens in laboratory animals differed depending on the type of allergen sensitization period after the animals, and depending on the source selection culture. Thus, it should be noted that in all cases allergic reactions were significantly more pronounced in the animals injected mycobacterial cultures isolated from biological material, selected from cattle. Also in all experimental animals reaction to the introduction of masses by means dominated by reactions to PPD-tuberculin for mammals is a natural result.

Conclusion. The results of the research significant difference between research on atypical mycobacteria cultures sensitizing properties not found in this case determined that the culture of isolated biological material from cattle have significantly more pronounced sensitizing properties compared with cultures isolated from environmental objects.

Keywords: atypical mycobacteria, cattle, sensitization, nonspecific reactions

УДК: 619:616-07:[57.083.32+577.2.08]:579.873.21:636.2

РОЛЬ ПЕРСИСТЕНТНЫХ L-ФОРМ *M. AVIUM* SUBSPECIES *PARATUBERCULOSIS* (MAP) В ВОЗНИКНОВЕНИИ НЕСПЕЦИФИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ НА ТУБЕРКУЛИН

Завгородний А. И., Позмогова С. А., Сапко С. А., Калашник Н. В.

Национальный научный центр «Институт экспериментальной и клинической ветеринарной медицины», г. Харьков, Украина, e-mail: svetlanapozmogova@gmail.com

В статье представлены результаты бактериологических и молекулярно-генетических исследований биологического материала от КРС с невыясненной причиной аллергических реакций на туберкулин (n=20), фекальных масс от зоопарковых животных (n=9) и одной пробы водопроводной воды. Культуральным методом изолировано и идентифицировано в ПЦР 6 культур (4 – *M. avium* spp. *hominisuis*, 1 – *M. avium* spp. *avium*, 1 – *M. avium* subsp. *paratuberculosis*). Остальные 24 пробы не росли при стандартной процедуре культивирования, однако росли на полужидкой среде для изоляции L-форм. Некультивируемые измененные формы с помощью ПЦР были идентифицированы как *M. avium* spp. *paratuberculosis* (n=21), *M. avium* spp. *hominisuis* (n=2) и одна проба не идентифицирована. Факт выявления персистирующих в организме сельскохозяйственных и зоопарковых животных измененных форм MAP, свидетельствует о том, что они могут обуславливать латентную форму паратуберкулеза и быть причиной сенсibilизации к туберкулину.

Ключевые слова: паратуберкулез, сенсibilизация, персистенция, измененные формы микобактерий.

Паратуберкулез (паратуберкулезный энтерит, болезнь Йоне) – это микобактериальное (*M. avium* subspecies *paratuberculosis* (MAP)) инфекционное заболевание, характеризующееся хроническим дегенеративным гранулематозным энтеритом, преимущественно дистальных отделов тонкого и толстого кишечника, а также поражением мезентериальных лимфатических узлов. Паратуберкулез широко распространен во многих странах среди различных видов сельскохозяйственных и диких животных. С конца 70-х годов прошлого столетия хозяйства Украины считаются благополучными по этой инфекции. Однако при плановых аллергических исследованиях КРС на туберкулез в благополучных хозяйствах с помощью внутрикожной туберкулиновой пробы часто выявляют парааллергические реакции, которые, как правило, обусловлены атипичными микобактериями. Вместе с тем, в отдельных случаях причина сенсibilизации организма животных к туберкулину остается не установленной.

Существует концепция, согласно которой в инфицированном организме наряду с классическими формами микобактерий персистируют CWD-формы (от англ. «cell wall deficient / defective» – бактерии с отсутствующей / дефектной клеточной стенкой), которые являются причиной скрытой, хронической и рецидивирующей / ремиссирующей инфекции животных (паратуберкулез, туберкулез) и человека (туберкулез, саркоидоз и болезнь Крона) [1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11]. Учитывая большую вероятность заноса возбудителя паратуберкулеза на территорию Украины с импортированным, субклинически инфицированным племенным скотом, а также отсутствие диагностических исследований животных на паратуберкулез, вполне вероятно, что причиной реакций на туберкулин могут быть как классические формы MAP, так и их длительная персистенция в измененной L- или CWD-форме. Возможности обнаружения CWD-форм MAP в биологическом материале с помощью микроскопии, культивирования, методами гибридизации ДНК и других методов весьма ограничены, что подтверждает относительно небольшое количество опубликованных данных [12]. Трудности детекции *M. avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) из патологического материала связаны с биологическими