

УДК 619:579.873.21:636.22/.28:636.5(477)

ВИДЫ АТИПИЧНЫХ МИКОБАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫЕ ОТ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА И ПТИЦЫ

*Завгородний А. И., Стегний Б. Т., Калашник Н. В.,
Белушко В. В., Калашник Н. В., Гончарова Н. В., Позмогова С. А.*

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

В статье приведены результаты комплексных исследований поголовья крупного рогатого скота на туберкулез в 6 хозяйствах разных областей Украины. Культуральным методом исследованы пробы биологического материала от КРС и зоопарковой птицы. У выделенных культур микобактерий изучены тинкториальные, культурально-морфологические, биохимические и биологические свойства на лабораторных животных.

Ключевые слова: симультанная проба, сенсбилизация, КРС, биоматериал, культуральное исследование, атипичные микобактерии

Одним из особо опасных зооантропонозных заболеваний для сельскохозяйственных животных и людей является туберкулез. Заболевание КРС туберкулезом в разные годы отмечали на всех континентах земного шара [1, 2, 3, 4]. Проведенными в последние годы профилактическими и оздоровительными мероприятиями в большинстве стран Европейского Союза поголовье КРС оздоровлено от данного заболевания [2]. За последние 15 лет в хозяйствах Украины также достигнуто полное благополучие по туберкулезу среди КРС. Однако необходимо отметить, что спорадические случаи заболевания среди жвачных животных отмечают как в благополучных, так и в ранее оздоровленных хозяйствах. На сегодняшний день туберкулезная инфекция среди сельскохозяйственных животных имеет неравномерное, а в отдельных странах широкое распространение. На Европейском континенте количество неблагополучных пунктов составляет 21,0 % от их общего количества, а больных животных 69,0 %, на Азиатском – 1,21 %, 10,6 %, Африканском 17,0 %, 10,2 %, Американском – 9,15 %, 8,64 %, Австралии и Океании – 2,41 %, 3,22 % соответственно [4, 5, 6, 7].

В неблагополучных по туберкулезу пунктах заболевание КРС в основном обуславливают *M. bovis* и в 1,0 % случаев *M. tuberculosis*. Вместе с тем, в последние годы в благополучных по туберкулезу хозяйствах при плановых аллергических исследованиях выделяют реагирующих на туберкулин животных, у которых при диагностическом убое в органах и тканях не обнаруживают характерных для туберкулеза изменений. При культуральном исследовании биоматериала от таких животных, а также объектов внешней среды животноводческих хозяйств нередко выделяют культуры атипичных микобактерий [8, 9, 10].

Проведенные в последние годы исследования свидетельствуют о том, что атипичные микобактерии широко распространены в природе, обитая как во внешней среде, так и в организме животных [11, 12, 13, 14]. Несмотря на достаточное количество публикаций в настоящее время сложно ответить на вопросы когда и при каких условиях какие виды атипичных микобактерий обуславливают сенсбилизацию КРС к туберкулину для млекопитающих, а также значение их в этиологии заболевания на туберкулез.

Целью наших исследований было определить причины аллергических реакций на туберкулин (ППД) для млекопитающих у КРС, а также изучить видовую принадлежность культур микобактерий, выделенных из биологического материала от КРС и птиц.

Материалы и методы. При выполнении работы нами был проведен анализ эпизоотической ситуации по туберкулезу КРС согласно отчетным данным Государственного комитета ветеринарной и фитосанитарной службы Украины. На основании результатов эпизоотологического исследования, проведенного в 6 хозяйствах, было установлено, что при проведении плановых аллергических исследований на протяжении последних 3–5 лет в этих хозяйствах систематически выделяли позитивно реагирующих на туберкулин (ППД) животных.

С целью определения природы внутрикожных реакций на туберкулин поголовье КРС разных возрастных групп было исследовано аллергическим методом на туберкулез с применением симультанной аллергической пробы.

Микобактериальные аллергены вводили внутрикожно безигольным инъектором «БИ-7» в области средней трети шеи дозе 0,1 см³ на предварительно выстриженное и обработанное 70° спиртом ректификатом место. Учет реакции на микобактериальные аллергены проводили через 72 часа после введения.

Для диагностического убоя отбирали животных, реагирующих с большей интенсивностью реакции на туберкулин (ППД) для млекопитающих в сравнении с реакцией на аллерген из атипичных микобактерий (ААМ), а также с одинаковой интенсивностью реакций на туберкулин и ААМ.

При проведении патологоанатомического исследования от забитых с диагностической целью животных отбирали лимфатические узлы (заглоточные, подчелюстные, предлопаточные, бронхиальные, средостенные, портальные, брыжеечные, надвыменные, коленной складки), а также кусочки паренхиматозных органов (легких, печени, селезенки).

Отобранный биологический материал исследовали микроскопическим и культуральным методами на туберкулез.

Для микроскопического исследования из отобранных лимфатических узлов готовили мазки-отпечатки, которые окрашивали по методу Циля-Нильсена. Микроскопию проводили под иммерсионной системой светового микроскопа.

Предпосевную обработку биоматериала проводили по методу А. П. Аликаевой, а также по способу предпосевной обработки с применением 1,0 % азотной кислоты (HNO₃).

Культуральное исследование проводили путем посева суспензий биоматериала после предпосевной обработки на плотную питательную среду для культивирования микобактерий. Учет роста колоний на питательной среде проводили каждые 5–7 дней на протяжении 90 суток. При этом учитывались сроки появления первичного роста, характер роста колоний, их консистенция, тинкториальные свойства.

Культуральным методом было исследовано 44 пробы биоматериала от реагировавшего на туберкулин КРС, а также 5 проб биоматериала от павших зоопарковых кур.

У выделенных субкультур микобактерий для определения видовой принадлежности изучали сроки появления первичного роста, особенности роста колоний, морфологию микобактерий, пигментообразование, тинкториальные свойства, показатель скорости роста культур микобактерий на селективной питательной среде при температуре 25, 37, 45°C, а также толерантность к 5,0 % хлористому натрию, реакцию редукции теллурида калия, гидролиз твин-80, каталазную и амидазную активность.

Сенсибилизирующие и патогенные свойства у изолированных 23 культур микобактерий, выделенных от КРС и зоопарковой птицы изучали в опытах на лабораторных животных.

Клинически здоровых, не реагировавших к началу опыта на туберкулин для млекопитающих и ААМ, 48 морских свинок живой массой 300,0–350,0 г разделили на 8 групп по 3 головы (для проведения двух серий опытов).

Накопление бактериальной массы выделенных культур микобактерий проводили на среде Павловского. Из выросшей 14-суточной бактериальной массы медленно растущих и 7-суточной быстро растущих микобактерий готовили взвесь на стерильном физиологическом растворе в концентрации 1,0 мг/см³.

В первой серии опытов 24 морским свинкам вводили подкожно в области левого бедра взвесь каждого вида микобактерий отдельно в дозе 1,0 мг/см³. Во втором опыте животным (24 головы) подкожно вводили взвесь этих же культур микобактерий двукратно с интервалом 7 суток в дозе 1,0 мг/см³. За животными вели наблюдение в течение 90 суток. Контрольным группам морских свинок (6 голов) подкожно вводили стерильный физиологический раствор в дозе 1,0 см³. Через 30, 60, 90 суток после начала эксперимента морских свинок исследовали симультанной аллергической пробой на туберкулез с применением туберкулина (ППД) для млекопитающих и сухого очищенного аллергена из атипичных микобактерий (ААМ). Учет реакции на микобактериальные аллергены проводили через 24 часа. Через 3 месяца после начала опыта всех животных опытных и контрольных групп подвергали эвтаназии и патологоанатомическому исследованию на туберкулез.

Результаты исследований. Приступая к выполнению работы на первом этапе исследований в связи с неопределенной эпизоотической ситуацией, а также для выяснения природы реакций на туберкулин нами были проведены клинический осмотр, симультанно-аллергические и патологоанатомические исследования поголовья КРС в 6 хозяйствах из 3 областей Украины. При осмотре животных с клиническими признаками туберкулеза не было выявлено.

Результаты аллергических и патологоанатомических исследований КРС представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Результаты симультанной аллергической пробы и патологоанатомических исследований КРС на туберкулез

№ хозяйства	Исследовано всего, голов	Кратность исследований	Методы исследований						
			Аллергический				Патолого-анатомический		
			Реагировало на туберкулин и ААМ в симультанной пробе с интенсивностью реакции (голов)				Реакции достоверно выражены	Исследовано, голов	Результат
			Всего, голов	ППД (+)	ААМ (-)	=			
1	821	1	19	-	19	-	ААМ	-	-
2	440	1	6	-	6	-	ААМ	-	-
3	1056	1	13	-	13	-	ААМ	-	-
4	1700	2	60	2	54	4	ААМ	6	отр.

5	703	2	79	8	58	13	AAM	21	отр.
6	415	1	6	-	6	-	AAM	-	-

Из материалов, приведенных в таблице 1 видно, что при симультанно-аллергическом исследовании 5135 голов КРС в 6 хозяйствах было выделено 183 животных, реагирующих на туберкулин (ППД) и ААМ.

При этом из числа реагирующих животных реакции на туберкулин (ППД) для млекопитающих были интенсивнее выражены у 10 голов (+), на ААМ реагировало 156 голов (-). С одинаковой интенсивностью реагировали на оба аллергена 17 животных (=). Если оценивать результаты симультанной пробы по каждому стаду отдельно, то реакции у животных были достоверно выражены на ААМ.

Из числа реагирующих животных диагностическому убою было подвергнуто 27 голов, которые реагировали с большей интенсивностью на туберкулин (ППД) и с одинаковыми реакциями на ППД и ААМ. При проведении патологоанатомического исследования в органах и лимфатических узлах характерных для туберкулеза изменений не было выявлено.

При микроскопии мазков-отпечатков из отобранных для бактериологического исследования кусочков органов и лимфатических узлов в поле зрения микроскопа кислотоустойчивые палочки не были обнаружены.

Результаты культурального исследования 44 проб биоматериала, отобранного от убитых с диагностической целью животных из хозяйств Черкасской (6 проб) и Черниговской (21 проба) областей, а также поступившего для исследования из хозяйств Киевской (4 пробы), Хмельницкой (3 пробы), Кировоградской (1 проба), Черкасской (9 проб) областей и от зоопарковой птицы из Харьковской области (5 проб) приведены в таблице 2.

Таблица 2 – Результаты культурального исследования проб биоматериала от КРС и зоопарковой птицы на туберкулез

№ п/п	Область	Исследовано проб	Выделено культур микобактерий				Выделенные культуры микобактерий
			Способ предпосевной обработки				
			1,0 % HNO ₃		Метод А. П. Аликаевой		
			Количество культур	Рост, через суток	Количество культур	Рост, через суток	
1	Черкасская	15	1	2	1	6	атипичные
			2	11-13	-	-	атипичные
2	Черниговская	21	3	3	2	5	атипичные
			3	3	1	4	атипичные
			3	5	2	5	атипичные
			2	3	2	5	атипичные
			2	3	2	5	атипичные
3	Киевская	4	1	5	1	7	атипичные
			1	5	-	-	атипичные
4	Кировоградская	1	1	5	-	-	атипичные
			1	4	1	8	атипичные
5	Хмельницкая	3	-	-	-	-	-

Розділ 2. Ветеринарна вірусологія та мікробіологія

6	Биоматериал от птицы	Харьковская	5	5	7-13	3	9-17	атипичные
Всего			49	23	-	13	-	-

Приведенные в таблице 2 данные свидетельствуют о том, что при использовании для предпосевной обработки 1,0 % раствора азотной кислоты из 44 проб биоматериала от КРС было выделено 18 культур микобактерий, от павшей зоопарковой птицы – 5 культур, а по методу А. П. Аликаевой выделено 10 и 3 культуры микобактерий соответственно. При этом первичный рост колоний на яичной питательной среде для культивирования микобактерий при обработке материала 1,0 % раствором азотной кислоты отмечали на 2–3 сутки у девяти культур, на 4 – у одной культуры, на 5 – у шести культур, на 7–13 сутки – у пяти культур микобактерий. При обработке этого биоматериала по методу А. П. Аликаевой первичный рост колоний из проб биоматериала от КРС было установлено на 4–8 сутки культивирования, а также на 9–17 сутки из проб биоматериала от птиц.

У выделенных от КРС и зоопарковой птицы полевых культур микобактерий определяли видовую принадлежность. Результаты исследований приведены в таблице 3.

По результатам культурально-морфологических, биохимических и биологических исследований 3 культуры микобактерий были отнесены ко второй (скотохромогенные), 5 культур – к третьей (нефотохромогенные), 15 культур – к четвертой группе по классификации Раньона.

Скотохромогенные микобактерии были представлены видами: *M. scrofulaceum* – 1 культура, *M. gordonae* – 2 культуры.

Из числа нефотохромогенных 5 культур были отнесены к возбудителю туберкулеза птичьего вида *M. avium*. Среди быстрорастущих микобактерий 4 культуры принадлежали к виду *M. fortuitum*, 3 – *M. diernhoferi*, 2 – *M. flavescens*, 2 – *M. smegmatis*, 2 – *M. vaccae*, 2 – *M. phlei*.

Результаты изучения биологических свойств выделенных культур микобактерий 9 видов (*M. scrofulaceum*, *M. gordonae*, *M. smegmatis*, *M. fortuitum*, *M. phlei*, *M. vaccae*, *M. flavescens*, *M. diernhoferi*, *M. avium*) приведены в таблице 4.

Из материалов таблицы видно, что изолированные культуры микобактерий вызывали у морских свинок повышенную чувствительность к туберкулину (ППД) и ААМ от 30 до 90 суток.

В первой серии опытов среди морских свинок через 30 дней после начала опыта реакции на туберкулин выявили у 20 голов, а на ААМ реагировали все 27 опытных животных. Спустя 60 дней количество реагирующих на туберкулин морских свинок составляло 12 голов, тогда как на ААМ реакции отмечали у 23 голов. Через 90 дней реакции на туберкулин сохранились только у морских свинок, которым вводили взвесь *M. avium*, тогда как на ААМ реагировали по 2-3 морские свинки из каждой опытной группы, которым вводили взвеси *M. scrofulaceum*, *M. gordonae*, *M. smegmatis*, *M. fortuitum*. При этом во всех группах животных интенсивность реакций на протяжении эксперимента была более выражена на ААМ в сравнении с реакциями на туберкулин.

При двукратном подкожном введении взвеси культур интенсивность реакции на туберкулин и ААМ была более выражена во всех группах животных на протяжении эксперимента в сравнении с однократным введением этих культур. Вместе с тем наиболее интенсивные аллергические реакции на туберкулин (8–18 мм) и ААМ (12–25 мм) отмечали у морских свинок, которым вводили взвеси микобактерий видов *M. scrofulaceum*, *M. gordonae*, *M. avium*, *M. fortuitum*. У этих животных реакции сохранялись на протяжении 90 суток.

Реакции на туберкулин отсутствовали через 90 суток у морских свинок 1–8 групп после однократного введения взвеси культур микобактерий и в группах животных, которым двукратно вводили *M. smegmatis*, *M. phlei*, *M. vaccae*, *M. flavescens*, *M. diernhoferi*. У подвергнутых эвтанази морских свинок через 90 дней после инокуляции нетуберкулезных микобактерий при патологоанатомическом исследовании ни в одном случае не обнаружены характерные для туберкулеза изменения.

Реакции на туберкулин для млекопитающих со знаком (+) и (=) у животных могут возникать за счет парадоксального их проявления на аллерген, а также при сенсибилизации крупного рогатого скота *M. avium*. Наличие общеродовых антигенов у *M. bovis* и нетуберкулезных микобактерий также приводит к проявлению неспецифических реакций на микобактериальные аллергены. При этом у животных не развивается патологический туберкулезный процесс.

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что выделенные от животных в 6 хозяйствах Украины атипичные микобактерии 8 видов не вызывают у крупного рогатого скота в органах и тканях характерных для туберкулеза изменений, а только у отдельных животных обуславливают повышенную чувствительность к туберкулину. Стада, в которых сенсибилизация к туберкулину обусловлена нетуберкулезными атипичными микобактериями выделенных видов, следует считать благополучными по туберкулезу. Контроль благополучия в таких стадах необходимо проводить с использованием симультанной аллергической пробы, патологоанатомического и бактериологического методов исследований на туберкулез два раза в год с интервалом шесть месяцев.

Таблица 3—Определение видовой принадлежности у выделенных культур микобактерий от крупного рогатого скота и птицы

№ п/п	Пигментация культур	Скорость роста (суток)	Микроскопия	Рост при температуре (°C)			Толерантность к 5,0% NaCl	Каталазная активность	Реакция с теллуритом К	Гидролиз Твин-80	Амидазная активность			Сенсибилизирующие свойства	Группа по Ранху	Вид микобактерий
				25	37	45					Карбамид	Никотин-амид	Пиразин-амид			
культуры от крупного рогатого скота																
1	светло-серая	2-5	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	IV	<i>M. fortuitum</i>
2	светло-серая	4-5	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	IV	<i>M. diernhoferi</i>
3	оранжевая	11	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	II	<i>M. scrofulaceum</i>
4	светло-желтая	3-5	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	IV	<i>M. flavescens</i>
5	светло-серая	3-5	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	IV	<i>M. smegmatis</i>
6	светло-серая	3-5	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	IV	<i>M. fortuitum</i>
7	желтая	3-5	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	IV	<i>M. flavescens</i>
8	светло-серая	3-5	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	IV	<i>M. diernhoferi</i>
9	светло-серая	3-5	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	IV	<i>M. diernhoferi</i>
10	светло-серая	5	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	IV	<i>M. fortuitum</i>
11	светло-серая	3-5	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	IV	<i>M. fortuitum</i>
12	светло-желтая	4-5	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	IV	<i>M. vaccae</i>
13	желтая	10	+	+	-	-	-	+	+	-	+	-	+	+	II	<i>M. goodnae</i>
14	светло-желтая	4-5	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	IV	<i>M. vaccae</i>
15	светло-желтая	3-5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	IV	<i>M. phlei</i>
16	желтая	13	+	+	-	-	-	+	+	-	+	-	+	+	II	<i>M. goodnae</i>
17	светло-желтая	3-5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	IV	<i>M. phlei</i>
18	светло-серая	3-5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	IV	<i>M. smegmatis</i>
культуры от птицы																
19	светло-серая	10	+	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	III	<i>M. avium</i>
20	светло-серая	7	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	III	<i>M. avium</i>
21	светло-серая	17	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	III	<i>M. avium</i>
22	светло-серая	13	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+	III	<i>M. avium</i>
23	светло-серая	15	+	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	III	<i>M. avium</i>

Таблиця 4 – Результати симультанної алергическої проби на морських свинках

№ животної п/п	Групи морських свинок											
	Заражені однократно в дозі 1 мг/см ³ фізіологічного р-ра						Заражені двукратно в дозі 1 мг/см ³ фізіологічного розчину					
	Реакції на мікобактеріальні алергени через днів (мм)											
	30		60		90		30		60		90	
	ППД	ААМ	ППД	ААМ	ППД	ААМ	ППД	ААМ	ППД	ААМ	ППД	ААМ
<i>M. scrofulaceum</i>												
1	8	11	4	10	–	8	12	15	10	12	8	12
2	10	13	5	13	–	10	11	18	10	15	6	13
3	9	12	5	10	–	8	10	22	9	19	5	12
<i>M. gordonae</i>												
1	–	8	–	5	–	5	9	12	9	12	6	9
2	5	9	–	6	–	5	8	12	8	14	5	12
3	5	10	–	5	–	–	10	14	9	12	5	10
<i>M. avium</i>												
1	8	10	6	10	5	10	10	17	10	16	8	16
2	6	12	6	11	6	10	18	22	11	20	9	18
3	9	15	7	12	6	11	15	25	12	22	9	20
<i>M. fortuitum</i>												
1	–	12	–	–	–	–	9	16	8	12	8	10
2	5	12	5	8	–	8	13	21	10	20	10	15
3	6	14	5	9	–	6	12	25	15	22	11	18
<i>M. smegmatis</i>												
1	–	8	–	6	–	–	8	12	5	10	–	8
2	5	9	–	5	–	5	7	12	5	9	–	8
3	5	10	–	8	–	5	9	14	7	11	–	8
<i>M. phlei</i>												
1	–	5	–	–	–	–	8	10	7	10	–	9
2	5	8	–	5	–	–	6	9	6	9	–	5
3	5	9	5	6	–	–	9	12	8	11	–	6
<i>M. flavescens</i>												
1	–	5	–	–	–	–	8	12	6	10	–	9
2	6	8	–	5	–	–	10	13	7	11	–	8
3	5	10	–	6	–	–	10	14	7	10	–	8

M. vaccae												
1	-	5	-	-	-	-	7	11	5	10	-	8
2	7	9	5	8	-	-	9	15	6	12	-	7
3	8	10	5	7	-	-	10	18	7	13	-	10
M. diernhoferi												
1	5	8	5	7	-	-	6	10	7	11	-	6
2	-	6	-	6	-	-	8	12	7	14	-	8
3	6	9	-	6	-	-	7	15	5	13	-	8
Контроль												
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Примечание: «-» – отрицательный результат исследования

Выводы. 1. Реакции на туберкулин у КРС в изучаемых хозяйствах обуславливали атипичные микобактерии 8 видов: *M. scrofulaceum*, *M. gordonae*, *M. smegmatis*, *M. fortuitum*, *M. phlei*, *M. vaccae*, *M. flavescens*, *M. diernhoferi*.

2. Нетуберкулезные микобактерии изученных видов при однократном и двукратном подкожном введении не вызывали у морских свинок характерных для туберкулеза изменений, но обуславливали сенсбилизацию к туберкулину для млекопитающих и ААМ.

3. Способ предпосевной обработки биоматериала 1,0 % раствором азотной кислоты позволяет выделять культуры микобактерий на 2–7 суток раньше в сравнении с методом А. П. Аликаевой.

Список литературы

1. OIE Oie world animal health information system / OIE. — 2015.
2. Wahis interface/disease information/disease distribution maps/bovine tuberculosis.
3. Eurosurveillance editorial team The european union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2009 / Eurosurveillance editorial team. — 2011. — 378 p.
4. Eurosurveillance editorial team The european union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2013 / Eurosurveillance editorial team. — European Food Safety Authority, 2015. — 162 p.
5. Awah-Ndukum J. Prevalence of bovine tuberculosis in abattoirs of the littoral and western highland regions of cameroon : a cause for public health concern / J. Awah-Ndukum, A. C. Kudi, G. Bradley[et al.] // Veterinary Medicine International. — 2010. — Vol. 2010. — P. 8.
6. Румачик И. И. Принципы дифференциации парааллергических реакций на туберкулин у скота в производственных условиях / И. И. Румачик // Эпизоотология Иммунология Фармакология Санитария. — 2013. — No. 3. — С. 30–38.
7. Румачик И. И. Совершенствование диагностики и мер борьбы с туберкулезом крупного рогатого скота и свиней / И. И. Румачик. — БелНИИЭВ, 1997. — 379 с.
8. Румачик И. И. Загрязнение древесных опилок атипичными микобактериями / И. И. Румачик // Ветеринария. — 1991. — No. 3. — С. 23–24.
9. Найманов А. Х. Совершенствование симультанной туберкулиновой пробы для дифференциации неспецифических реакций у крс / А. Х. Найманов // Ветеринария и кормление. — 2016. — No. 1. — С. 11–13.
10. Колычев Н. М. Экологические аспекты туберкулеза / Н. М. Колычев, В. Н. Кисленко // Ветеринария. — 2014. — No. 12. — С. 3–7.
11. Найманов А. Х. Проблема неспецифических реакций на туберкулин и совершенствование симультанной пробы / А. Х. Найманов, Г. И. Устинова, Н. Г. Толстенко[et al.] // Ветеринария. — 2015. — No. 6. — С. 20–25.
12. Найманов А. Х. Нетуберкулезные (атипичные) микобактерии и их сенсбилизующее значение / А. Х. Найманов, Г. И. Устинова, Н. Г. Толстенко[et al.] // Ветеринария и кормление. — 2015. — No. 1. — С. 19–21.

SPECIES OF ATYPICAL MYCOBACTERIA ISOLATED FROM CATTLE AND POULTRY

Zavgorodnyy A. I., Stegnyy B. T., Kalashnyk M. V., Bilushko V. V.,
Kalashnyk N. V., Goncharova N. V., Pozmogova S. A.

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

The aim was to determine causes of allergic reactions to tuberculin (PPD) for mammals in cattle on 6 farms free from tuberculosis and to investigate samples of biological material from cattle and zoo birds. To study affiliation of species of mycobacteria cultures isolated from biomaterial

Material and methods. Epizootological, allergical, anatomopathological, bacteriological research methods were used while conducting research. Preliminary treatment of biological material was performed with the use of 1.0 % nitric acid solution and the method of A. P. Alikaeva.

Results. It was allocated 183 of reacting to tuberculin (PPD) and AAM animals during the simultaneous-allergic study of 5135 cattle on 6 farms. Changes characteristic for tuberculosis have not been identified. Acid-fast bacilli are not identified during microscopic examination of smears.

Forty-four samples of biological material from cattle and 5 samples from zoo hens were studied by culture method. In total 23 mycobacteria culture were isolated. Isolated cultures were classified as atypical mycobacteria of 9 species on basing on the study of the tinctorial, cultural-morphological, biochemical properties. There were *M. scrofulaceum*, *M. gordonae*, *M. smegmatis*, *M. fortuitum*, *M. phlei*, *M. vaccae*, *M. flavescens*, *M. diernhoferi*, *M. avium*.

Isolated cultures caused increased sensitivity to tuberculin (PPD) and AAM in guinea pigs, but changes characteristic of tuberculosis were not detected while anatomopathological examination.

Conclusions. 1. Eight atypical mycobacteria species initiated the reactions on tuberculin for mammals in cattle in the studied farms. There are *M. scrofulaceum*, *M. gordonae*, *M. smegmatis*, *M. fortuitum*, *M. phlei*, *M. vaccae*, *M. flavescens*, *M. diernhoferi*.

2. Atypical mycobacteria of the studied species did not cause characteristic for tuberculosis pathological changes in guinea pigs at unitary and double subcutaneous injection but conditioned a sensibilization for mammal's tuberculin and AAM.

3. The method of preliminary treatment with the use of 1.0 % nitric acid solution allows the allocating mycobacterial isolates from the biological material on 2–7 days earlier in comparison with the method of A. P. Alikaeva.

Keywords: Simultaneous test, sensibilization, cattle, biomaterial, cultural study, atypical mycobacteria

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

ВИВЧЕННЯ КУЛЬТУРАЛЬНИХ ТА ІМУНОБІОЛОГІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ,
ІЗОЛЬОВАНИХ *IN VIVO* L-ФОРМ *M. AVIUM* SUBSP. *PARATUBERCULOSIS*

Завгородній А. І., Позмогова С. А., Гончарова Н. В., Калашник М. В., Білушко В. В.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини»,
м. Харків, Україна, e-mail: svetlanapozmogova@gmail.com

У статті представлені результати вивчення культуральних, тінкторіальних, імунобіологічних властивостей ізольованих L-форм *M. avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) від реагуючої на туберкулін худоби. Встановлено, що *in vivo* ізольовані CWD-форми MAP у першому пасажі мають вигляд не кислотостійких плеоморфних структур. Реверсія у бактеріальну форму відбувається при багаторазових послідовних "сліпих" пасажах на спеціальних елективних середовищах. Деякі популяції CWD-форм є стабільними і втрачають здатність до реверсії та реплікації *in vitro*. Стабільні CWD-форми MAP представлені скупченнями кислотостійких гранульованих і кокоподібних форм, великими сферичними тілами, аморфною масою з різним ступенем кислотостійкості. Стабільні CWD-форми MAP не проявляють імунобіологічну активність *in vivo*.

Ключові слова: паратуберкульоз, реверсія, стабільні CWD-форми, імунобіологічні властивості CWD-форм

Діагностика паратуберкульозу досить складна, оскільки в більшості випадків це захворювання протікає приховано, у субклінічній формі. Численні дослідження свідчать, що причиною прихованої, хронічної та рецидивуючої/ремісуючої інфекції тварин (паратуберкульоз, туберкульоз) і людини (туберкульоз, саркоїдоз і хвороба Крона) є CWD-форми (від англ. «Cell wall deficient / defective» – бактерії з відсутньою/дефектною клітинною стінкою) або L-форми [1-14]. Можливості виявлення CWD-форм *M. avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) з біологічного матеріалу за допомогою мікроскопії, культивування,