

**BIOINFORMATICS ANALYSIS OF BOVINE IMMUNODEFICIENCY  
VIRUS MAIN GENES (GAG, ENV, POL) SEQUENCES**

**Rudova N. G., Solodiantkin O. S.**

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

*The sequences bioinformatic analysis results of the of the bovine immunodeficiency virus main genes (gag, env, pol), and updated data on the phylogenetic relationships of the pathogen are presented in the article. The existence of at least two genetic groups of BIV, which have a common origin from a common ancestor, has been established. In addition, the complexity of conducting a full-fledged and comprehensive sequence analysis for a complete understanding of the evolution and virus phylogenetic relationships was noted. It was determined that the lack of a single methodological approach to BIV sequencing in different world scientific communities complicates the analysis and interpretation of the obtained data. The application of whole-genome sequencing technologies is proposed to solve this issue*

**Keywords:** *phylogenetic relationships, Lentivirus, Retroviridae*

УДК 619:616.98-036.22-07:579.873.21:636.22/28

DOI [10.36016/VM-2023-109-3](https://doi.org/10.36016/VM-2023-109-3)

**ПРОБЛЕМИ ДІАГНОСТИКИ ТУБЕРКУЛЬОЗУ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ**

**Завгородній А. І., Білушко В. В., Позмогова С. А., Калашник М. В., Бусол В. О.**

*Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної  
ветеринарної медицини», Харків, Україна, e-mail: [bw.pochta@gmail.com](mailto:bw.pochta@gmail.com)*

*Представлені результати комплексних досліджень у скотарських господарствах України щодо визначення епізоотичної ситуації з туберкульозу великої рогатої худоби. Доведено, що застосування запропонованого комплексу методів досліджень дозволяє з'ясувати причини неспецифічних алергічних реакцій на туберкулін у тварин з мінімальними економічними збитками для сільгосппідприємств. При цьому встановлено, що параалергічні реакції на туберкулін у великої рогатої худоби зумовлюють такі види мікобактерій, як *M. phlei*, *M. smegmatis*, *M. nonchromogenicum*, а псевдоалергічні — нокардії та актиноміцети. Прояв у тварин неспецифічних реакцій не є підставою вважати гурти тварин неблагополучними з туберкульозу, проте слід приділяти особливу увагу контролю благополуччя щодо цього захворювання*

**Ключові слова:** *параалергія, атипові мікобактерії, нокардії, актиноміцети*

Одним із особливо небезпечних інфекційних захворювань людей і тварин у світі є туберкульоз, за якого й дотепер не розроблено високоефективних засобів лікування та вакцинних препаратів, а також уніфікованого методу діагностики [1]. Тому в основу заходів профілактики та оздоровлення гуртів великої рогатої худоби щодо туберкульозу і на сьогодні залишається своєчасна та ефективна діагностика цього захворювання із застосуванням різних методичних прийомів і методів досліджень. Для контролю благополуччя стад великої рогатої худоби (ВРХ) щодо туберкульозу у багатьох країнах світу, в тому числі і в Україні, проводять щорічні моніторингові дослідження поголів'я із застосуванням алергічного методу з використанням туберкуліну очищеного (ППД) для ссавців. За результатами проведених досліджень визначають стан гуртів ВРХ щодо туберкульозної інфекції. Ефективність проведених заходів профілактики та боротьби з туберкульозом залежить від своєчасного виявлення й видалення зі стада інфікованих і хворих тварин, які є джерелом збудника інфекції, а також від якості проведених ветеринарно-санітарних заходів.

Ряд дослідників повідомляють, що при діагностичному забої у реагуючих на туберкулін тварин на секції в органах і тканинах характерні для туберкульозу ураження були відсутні. При культуральному дослідженні біоматеріалу, відібраного від цих тварин збудника туберкульозу не виділяли [2, 3]. При цьому, господарствам були нанесені економічні збитки від необґрунтованого забою продуктивних тварин і недоотримання продукції, втрати племінної цінності тварин, проведення додаткових діагностичних та ветеринарно-санітарних заходів.

Відомо, що внутрішньошкірні реакції на туберкулін для ссавців у ВРХ можуть обумовлювати не тільки збудники туберкульозу (*M. bovis*, *M. tuberculosis*), а й окремі види атипових мікобактерій.

Крім цього, псевдоалергічні реакції на туберкулін відмічали у тварин, інфікованих нокардіями, корінебактеріями, родококами та при деяких гельмінтозних захворюваннях, а також при згодовуванні грубих кормів, уражених мікроміцетами [4, 5]. Тому діагностика туберкульозу ВРХ лише алергічним методом не може бути ідеальним тестом для встановлення первинного діагнозу на туберкульоз. Для підтвердження або спростування діагнозу на туберкульоз необхідно застосовувати комплекс діагностичних тестів, спрямованих на встановлення остаточного діагнозу, а також визначення природи внутрішньошкірних реакцій на туберкулін.

Тому диференціація специфічних від паралергічних і псевдоалергічних реакцій у ВРХ і на сьогодні є актуальною проблемою для тваринницьких господарств, як за кордоном, так і у нашій країні. Так недооцінка неспецифічних реакцій у тварин в благополучних господарствах може призвести до економічних збитків, пов'язаних із забоем продуктивних тварин, а переоцінка — до поширення туберкульозної інфекції у стаді.

Разом з цим, при ретроспективному аналізі епізоотичної ситуації щодо туберкульозу у господарствах України встановлено, що при алергічному дослідженні у 2020–2021 роках, 1 782 300 та 1 234 860 голів великої рогатої худоби у благополучних щодо туберкульозу господарствах в 24 областях, було виділено 990–1 132 голови, що реагували на внутрішньошкірне введення туберкуліну у 112 та 84 господарствах відповідно. Із числа реагуючих тварин реакції на туберкулін відмічали у 927–592 корів. При діагностичному забої (623–420 голів) характерні для туберкульозу ураження у бронхіальних лімфатичних вузлах були встановлені тільки в одній тварині. Проведеними культуральними дослідженнями проб біоматеріалу (522–420 проб) від забитих тварин були виділені 34 культури мікобактерій, із них 1 культура — *M. bovis* і 33 культури атипових мікобактерій з 18 господарств, а в 139 господарствах отримано негативний результат. Результати аналізу епізоотичної ситуації щодо туберкульозу в гуртах ВРХ свідчать про наявність спорадичного випадку захворювання ВРХ, зумовленого збудником туберкульозу виду *M. bovis* та сенсibiliзацію тварин до туберкуліну атиповими мікобактеріями у 18 господарствах. У практичних умовах при виявленні у стаді до 10 реагуючих тварин, їх забивають, а якщо виявляють більше 10 позитивно реагуючих на туберкулін — діагностичному забою підлягають 5 голів і за результатами патологоанатомічного дослідження визначають епізоотичний стан гурту щодо туберкульозу. Відомо, що туберкульоз належить до повільних інфекцій. При цьому в організмі інфікованих тварин інфекційний туберкульозний процес може мати тривалий час латентну форму перебігу, що досить складно діагностувати. Крім цього, в організмі однієї тварини можуть циркулювати як збудник туберкульозу у R-, S-, L-формах, так і персистувати атипові мікобактерії, що заважає встановити природу алергічних реакцій і визначити епізоотичний статус щодо туберкульозу у такому господарстві. Проте й дотепер залишається актуальною проблема неспецифічних реакцій на туберкулін у благополучних господарствах та їх диференціація від специфічних.

**Метою роботи** було вивчити природу реакцій на туберкулін у ВРХ в благополучних господарствах і визначити епізоотичний статус щодо туберкульозу.

**Матеріал і методи.** Для реалізації поставленої мети були відібрані 2 господарства, у яких протягом 2–5 років щорічно відмічали у ВРХ підвищену гіперчутливість сповільненого типу до туберкуліну для ссавців. Для визначення причин реакцій на туберкулін у ВРХ нами застосовано комплекс діагностичних досліджень на туберкульоз, який включає епізоотологічний, клінічний, алергічний, патологоанатомічний, мікроскопічний, культуральний і біологічний методи досліджень проб біологічного матеріалу, відібраного від забитих з діагностичною метою тварин. Дослідження проб із об'єктів утримання тварин (ґрунт, гній, зіскриби з годівниць, напувалки, стійла, підлога) проводили мікроскопічним і культуральним методами. Біологічні дослідження щодо виділення ізолятів культур мікобактерій проводили в дослідах на здорових морських свинках живою вагою 300–350 г, які до початку досліду не реагували на внутрішньошкірне введення туберкуліну для ссавців та алерген з атипових мікобактерій.

Алергічні дослідження лабораторних тварин після інокуляції культур мікобактерій проводили триразово з інтервалом 30 днів за допомогою туберкуліну очищеного (ППД) для ссавців та алергену з атипових мікобактерій (ААМ). Облік інтенсивності реакцій проводили

через 24 години після введення алергенів. Позитивною реакцією вважали гіперемію шкіри на місці введення алергенів та утворення папули діаметром 5 мм і більше.

**Результати досліджень.** Визначення епізоотичної ситуації щодо туберкульозу в цих господарствах проводили шляхом аналізу проведених моніторингових досліджень фахівцями ветеринарної служби районних управлінь ветмедицини. При цьому встановлено, що у господарстві № 1 при планових алергічних дослідженнях виділяли позитивно реагуючу на туберкулін велику рогату худобу з 2007 року. За період з 2007 по 2019 роки серед досліджуваного щорічно поголів'я у 1 600–1 800 голів було виділено 524 тварини, які реагували на внутрішньошкірне введення туберкуліну, із них — 368 корів. Кількість позитивно реагуючих тварин при проведенні щорічних досліджень у квітні та листопаді суттєво не відрізнялася. Серед молодняка реагуючих тварин не виявляли, а серед нетелів відмічали поодинокі позитивні випадки. При цьому, слід зазначити, що при патологоанатомічному розтині 102 голів ВРХ, в органах і тканинах характерних для туберкульозу уражень у жодному випадку не було виявлено. У 2020 році кількість реагуючих тварин зменшилась і складала від 20 до 28 голів за рік.

У другому господарстві протягом 5 років спостерігали позитивні реакції у ВРХ на внутрішньошкірне введення туберкуліну. За цей період було виділено 159 голів, які реагували на туберкулін і 60 голів були здані на забій. Захворювання тварин на туберкульоз не було встановлено, а причини реакцій на туберкулін не були з'ясовані. Тварин, що раніше реагували на туберкулін (50 голів) і залишились у господарстві, в зимовий період утримували в окремому приміщенні, а в літній період у літньому таборі.

Враховуючи вищенаведені дані, для з'ясування природи реакцій у ВРХ у цих господарствах нами було застосовано комплексний метод досліджень із використанням симультанної алергічної проби, патологоанатомічного та бактеріологічного методів дослідження.

Результати комплексних досліджень ВРХ на туберкульоз наведені у табл. 1.

**Таблиця 1 — Результати досліджень ВРХ на туберкульоз у господарствах**

№ господарства	Досліджено тварин, голів	Кількість досліджень	Досліджено методом						
			Алергічним			Патологоанатомічним		Бактеріологічним	
			Усього	З перевагою на			Досліджено, голів	Результат	Ізольовано культури
ППД	ААМ	Рівнозначно							
1	677	3	22	3	17	2	5	негативний	<i>M. phlei</i> , <i>M. smegmatis</i>
2	1220	2	58	10	46	2	12		<i>M. nonchromogenicum</i> , актиноміцети, нокардії

Наведені у таблиці дані свідчать про те, що за триразового дослідження з інтервалом 45 діб 677 голів ВРХ у першому господарстві було виділено 22 тварини, які реагували у симультанній пробі. З них реакції туберкулін (ППД) для ссавців були більш інтенсивно виражені у 3 голів, у 17 голів інтенсивність реакцій була більшою на ААМ, а у 2 голів спостерігали однакову інтенсивність реакцій на обидва алергени. У господарстві № 2 із числа досліджених тварин (1 220 голів) при обліку реакцій на мікобактеріальні алергени при першому дослідженні у симультанній пробі було виділено 36 голів, при другому — 22 тварини, які реагували на туберкулін та ААМ. Із числа реагуючих 58 голів потовщення складки шкіри у місці введення туберкуліну були більш виражені у 10 голів, на ААМ — у 46 голів, а однаково реагували на обидва алергени 2 голови. У ізольованих 90 голів, що раніше реагували на туберкулін, реакції збереглися лише у 9 % тварин при першому дослідженні, а при другому дослідженні отримано негативний результат. Серед дослідженого молодняка, телиць парувального віку та нетелів, гіперчутливість сповільненого типу на туберкулін була відсутня. У тварин, що реагували з більшою інтенсивністю на туберкулін (господарство № 1 — 3 гол., № 2 — 10 гол.) та з однаковою інтенсивністю на туберкулін і ААМ (по 2 гол. відповідно) при патологоанатомічному розтині (5 і 12 гол. відповідно) в органах і лімфатичних вузлах властивих для туберкульозу уражень не було виявлено. При бактеріологічному дослідженні проб біоматеріалу від забитих з

діагностичною метою тварин із господарства № 1 були виділені культури атипівих мікобактерій видів *M. phlei*, *M. smegmatis*, у господарстві № 2 ізольовані атипіві мікобактерії виду *M. nonchromogenicum*, а також ноккардії та актиноміцети. Ізольовані культури атипівих мікобактерій при внутрішньом'язевому введенні морським свинкам у дозі 1,0 мг бактеріальної маси у 1,0 см<sup>3</sup> стерильного ізотонічного розчину зумовлювали внутрішньошкірні реакції на туберкулін для ссавців та алерген із атипівих мікобактерій протягом 30–60 діб. У евтаназованих лабораторних тварин через 90 діб на розтині в органах і тканинах характерних для туберкульозу уражень не було виявлено. Отримані дані свідчать про те, що виділені культури атипівих мікобактерій в організмі ВРХ і лабораторних тварин не викликали захворювання на туберкульоз, а лише зумовлювали алергічні реакції на мікобактеріальні алергени. Разом з цим, у дослідних господарствах із годівниць, напувалок, проб ґрунту та кормів також були виділені убіквітарні атипіві мікобактерії четвертої групи за класифікацією Раньона. Після цього у приміщеннях, де утримується ВРХ проведено механічну очистку та технологічну дезінфекцію водним розчином препарату «ДЗПТ-2». Крім цього, проведено санацію вигульних майданчиків і територій ферм хлорним вапном, а у приміщеннях — санітарні дні. При дослідженні поголів'я тварин у 2022 році, після виконання рекомендованих профілактичних заходів, позитивно реагуючих особин не було виявлено.

**Висновки.** 1. Короткочасну сенсibilізацію до туберкуліну ВРХ у дослідних господарствах обумовлювали атипіві мікобактерії видів *M. phlei*, *M. smegmatis*, *M. nonchromogenicum*, а також ноккардії та актиноміцети.

2. Запропонований комплексний метод дозволяє протягом 3–4 місяців визначити природу реакцій на туберкулін у ВРХ і запобігти економічним збиткам внаслідок невинправданого забою тварин.

3. Гурти ВРХ, де реакції на туберкулін зумовлені атипівими мікобактеріями слід вважати благополучними щодо захворювання на туберкульоз, а сенсibilізованих до туберкуліну тварин не вважати джерелом цієї інфекції.

### Список літератури

1. Albertini M. et al. Réactivité tuberculique non spécifique par sensibilisation aux mycobactéries non tuberculeuses (MNT) chez des enfants non vaccinés par le BCG. Intérêt diagnostique de la comparaison des tests intradermiques à la tuberculine et aux antigènes de MNT. *Revue des Maladies Respiratoires*. 1996. Vol. 13, No 3. P. 273–279.
2. Karlson A. G. Non-specific or cross sensitivity reactions to tuberculin in cattle. *Advances in Veterinary Science*. 1962. Vol. 7. P. 147–181.
3. Zavgorodnii A. I. et al. Etiological factors in triggering non-specific allergic reactions to tuberculin in cattle. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 2021. Vol. 12, No 2. P. 228–233. DOI: <https://doi.org/10.15421/022131>.
4. Pujic P. et al. Chapter 40 — Nocardia and Actinomyces. *Molecular Medical Microbiology*. 2<sup>nd</sup> ed. London: Academic Press, 2015. P. 731–752. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-397169-2.00040-8>.
5. Mahendra P, Dave P. Nocardiosis: an emerging infectious actinomycetic disease of humans and animals. *Journal of Microbiology & Microbial Technology*. 2016. Vol. 1, Issue 2. P. 4. DOI: <https://doi.org/10.13188/2474-4530.1000008>.

### PROBLEMS IN THE DIAGNOSIS OF BOVINE TUBERCULOSIS

**Zavgorodnii A. I., Bilushko V. V., Pozmogova S. A., Kalashnyk M. V., Busol V. O.**

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

*The results of comprehensive researches in cattle-breeding farms of Ukraine to determine the epizootic situation of bovine tuberculosis are presented. It is proved that the application of the proposed complex of research methods allows to find out the causes of non-specific allergic reactions to tuberculin in animals with minimal economic losses for agricultural enterprises. It has been established that paralleric reactions to tuberculin in cattle are caused by such mycobacterial species as *M. phlei*, *M. smegmatis*, *M. nonchromogenicum*, and pseudoallergic reactions are caused by nocardia and actinomycetes. The presence of non-specific animal reactions is not a reason to consider animal groups unfavorable for tuberculosis. However, special monitoring for this disease is needed*

**Keywords:** *paraallergy, atypical mycobacteria, nocardia, actinomycetes*