

**ПРОБЛЕМИ ПАРААЛЕГРІЧНИХ РЕАКЦІЙ
НА ТУБЕРКУЛІН У ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ**

**Завгородній А. І., Позмогова С. А., Білушко В. В., Бусол В. О.,
Свірідова К. О., Саєченко О. В., Стегній Б. Т.**

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної
ветеринарної медицини», Харків, Україна, e-mail: karinasviridova12@gmail.com

У статті наведені результати аналізу епізоотологічного, клінічного, симультанно-алергічного дослідження великої рогатої худоби на туберкульоз та бактеріологічного дослідження проб біоматеріалу, корму, зіскрібів з годівниць та фекалій. Встановлено, що протягом чотирьох років в господарстві було виявлено 87 корів, реагуючих на туберкулін, серед яких клінічно хворих на туберкульоз в жодному випадку не виявляли. При чотирьох симультанно-алергічних дослідженнях великої рогатої худоби було виявлено 45 голів, реагуючих на туберкулін та алерген з атипових мікобактерій (ААМ). У 41 тварини реакції на ААМ були виражені інтенсивніше в порівнянні з реакціями на туберкулін для ссавців. Культуральним методом дослідження біоматеріалу від 4 корів, а також проб корму, фекалій з вигульних майданчиків та зіскрібів з годівниць були ізольовані культури мікобактерій, які позитивно фарбувались за методом Циля-Нільсена. За культурально-морфологічними, біохімічними властивостями виділені ізоляти мікобактерій належали до виду *M. phlei* та *M. fortuitum*, які у морських свинок не викликали розвитку туберкульозного процесу, але зумовлювали сенсibilізацію до туберкуліну та ААМ. Наведені результати досліджень свідчать про те, що персистуючі в організмі великої рогатої худоби атипові мікобактерії обумовлювали короткострокову сенсibilізацію на мікобактеріальні алергени. Для контролю епізоотичної ситуації щодо туберкульозу та визначення природи алергічних реакцій, а також диференціації специфічних від параалергічних та псевдоалергічних реакцій в благополучних господарствах необхідно застосовувати комплексний метод дослідження поголів'я тварин на туберкульоз. Застосування цього методу дослідження дозволило в короткий термін (протягом 1–3 місяців) визначити природу алергічних реакцій на туберкулін, зберегти в стаді 41 здорову тварину та зменшити економічні збитки від невиправданого забою продуктивних тварин

Ключові слова: *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium tuberculosis*, туберкулінова проба, мікобактерії, алергени, параалергія

Успішний розвиток галузі тваринництва у багатьох випадках залежить від обґрунтованої технології утримання, укомплектування тваринницьких стад здоровими високопродуктивними тваринами, їх годівлі, що є беззаперечною запорукою їх економічного сталого розвитку та забезпечення населення високоякісними продуктами харчування [1].

Серед інфекційних хвороб сільськогосподарських тварин особливе місце належить туберкульозу, до збудника якого більш за все сприйнятлива велика рогата худоба і люди. Основним джерелом збудника цієї інфекції є хворі на туберкульоз тварини і люди, а факторами передачі — контаміновані збудниками (*M. bovis*, *M. tuberculosis*) об'єкти довілля, корми, вода, пасовища, предмети догляду за тваринами. Захворювання людей і тварин туберкульозом є однією з найбільш розповсюджених у всьому світі інфекцією. Серед домашніх тварин до збудників цієї хвороби сприйнятливі також кози, вівці, свині, олені, верблюди, коні, собаки, коти, а також зоопаркові та хижі тварини. Разом з цим інфікування *M. bovis* відмічали і у людей, які проживали у сільській місцевості та серед мешканців міст [2].

В Україні, як і у всьому світі, боротьбі з туберкульозом приділяють велику увагу. Завдяки ретельному виконанню господарськими структурами й ветеринарною службою заходів боротьби з хворобою та проведеною за останні роки низкою протитуберкульозних заходів епізоотична ситуація щодо туберкульозу ВРХ значно поліпшилась. Через розширення торговельно-економічних зв'язків, завезення з-за кордону генетичного матеріалу та

високопродуктивних тварин для комплектування стад існує імовірність заносу збудника в Україну [3].

Основою заходів, які спрямовані на підтримку епізоотичного благополуччя з туберкульозу великої рогатої худоби, є своєчасне виявлення хворих тварин, тому надважливе значення в системі заходів профілактики цієї небезпечної для людей і тварин хвороби має постійний епізоотологічний моніторинг та своєчасна і досконала діагностика [4].

Основними шляхами інфікування при туберкульозі є аерогенний та аліментарний. Ця хвороба, у порівнянні з іншими інфекційними захворюваннями, перебігає хронічно, а в деяких випадках і в латентній формі та характеризується тривалим інкубаційним періодом. При цьому розвиток інфекційного та епізоотичного процесів залежить від резистентності організму тварин, біологічних властивостей збудника, природно-кліматичних і соціально-економічних факторів, умов утримання, годівлі, вирощування, експлуатації тварин тощо.

Для контролю епізоотичного стану гуртів ВРХ та своєчасного виділення інфікованих тварин як за кордоном, так і в Україні, основним методом прижиттєвої діагностики туберкульозу є внутрішньошкірна туберкулінова проба [5]. Проте реакції на туберкулін у тварин можуть виникати і при сенсibiliзації худоби атипovими мікобактеріями, коринебактеріями, нокардіями, родококами, при згодовуванні сечовини, деяких гельмінтозних захворюваннях, дикроцеліозі, ехінококозі [6]. Разом з тим джерелом та резервуаром збудника туберкульозу можуть бути і дикі тварини, які з секретами та екскретами виділяють збудника в зовнішнє середовище, який залишається життєздатним та зберігає вірулентність протягом 250–340 діб, а контаміновані *M. bovis* корми, вода при потраплянні в організм сприйнятливих тварин обумовлюють інфекційний туберкульозний процес.

На сьогодні до роду *Mycobacterium* віднесено більше ніж 170 різних видів та підвидів мікобактерій. З них патогенними для ссавців вважають *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*, *M. microti*, *M. caprae*, *M. canetti*.

В останні роки були ізольовані та ідентифіковані мікобактерії, які викликали захворювання у тюленів (*M. pinnipedii*), мангуста (*M. mungi*), аравійського орікса (*M. oryxis*), суріката (*M. suricattae*), полосатого броненосця (*M. leprae*). Водночас більше ніж 160 видів та підвидів віднесено до атипovих мікобактерій, які виділяють з біологічного матеріалу від людей, тварин, навколишнього середовища. Окремі з них здатні обумовлювати гіперчутливість сповільненого типу до туберкуліну, мастити у корів та мікобактеріозну інфекцію у людей [7].

Не зважаючи на більш ніж 100-річну історію вивчення туберкульозу і до тепер ціла низка питань щодо його діагностики, лікування та специфічної профілактики залишаються не до кінця з'ясованими.

Епідемічна ситуація з туберкульозу в світі і дотепер залишається нестабільною, а третя частина населення планети (1,9 млрд) інфікована мікобактеріями туберкульозу, близько 60 млн людей мають клінічний прояв хвороби [8, 9].

В Україні щороку виявляють 37–39 тис., а в окремих областях до 45 тис. інфікованих людей та близько 11 тис. осіб помирає. Високий рівень інфікованості відмічають в усіх вікових групах і прошарках населення, як серед жінок, так і серед чоловіків. Крім цього в останні роки захворювання туберкульозом виявляють серед дітей до чотирнадцятирічного віку [2].

Що ж стосується епізоотичної ситуації з туберкульозу у провідних країнах світу (ЄС), то в більшості з них поголів'я великої рогатої худоби є вільним від туберкульозної інфекції (Чехія, Польща, США, Іспанія, Данія, Норвегія, Фінляндія, Швеція, Португалія). Проте в окремих із них мають місце спорадичні випадки та рецидиви захворювання великої рогатої худоби на туберкульоз серед поголів'я молочних стад, а також серед диких тварин, які можуть бути джерелом цієї інфекції.

Попри те, що в Україні поголів'я великої рогатої худоби з кінця 2016 року оздоровлене від туберкульозу, прогноз стосовно даного захворювання слід вважати обережним. Це пов'язано з тим, що в організмі сприйнятливих тварин інфекційний туберкульозний процес в більшості випадків має латентну форму перебігу та клінічно не проявляється. Інфіковані тварини в цей період можуть виділяти збудника в навколишнє середовище з секретами та екскретами та контамінувати корм, воду, приміщення, годівниці, напувалки, предмети догляду, що може сприяти поширенню цієї хвороби в гуртах тварин. Разом з тим поширенню туберкульозної інфекції можуть сприяти і воєнні дії, які ведуться російською федерацією на території України.

Дослідження тварин та обстеження людей на туберкульоз на окупованих територіях не проводяться в повному обсязі. До того ж міграція людей, диких тварин в інші регіони (області), погіршення умов утримання, годівлі тварин та зниження імунорезистентності, зміна кліматичних умов, неякісне проведення ветеринарно-санітарних заходів, наявність аутохтонних природних епізоотичних осередків збудника цієї інфекції може негативно вплинути на епідемічно-епізоотичну ситуацію щодо туберкульозу.

Відомо, що велика рогата худоба може заразитись і *M. tuberculosis* від хворих на туберкульоз людей. При цьому в організмі цих тварин інфекційний процес має латентну форму перебігу і такі тварини є джерелом збудника для людей і тварин. За період з 2017 по 2020 роки спорадичні випадки туберкульозної інфекції *M. bovis* серед ВРХ були встановлені в одному господарстві Донецької області. Поголів'я в цьому господарстві протягом року було оздоровлене від цієї інфекції.

Попри досягнуті успіхи в боротьбі з туберкульозом ВРХ в господарствах України і на сьогодні залишається не до кінця з'ясованим питання щодо визначення природи реакцій на туберкулін в благополучних щодо туберкульозу господарствах. Так, гіперчутливість сповільненого типу на туберкулін може бути обумовлена як збудниками туберкульозу *M. bovis* та *M. tuberculosis*, так і окремими видами атипичних мікобактерій. Разом з цим є окремі повідомлення, що сенсibiliзацію до туберкуліну спостерігали у великої рогатої худоби, інфікованої вірусом лейкозу, актиноміцетами, нокардіями, родококами.

Оскільки невинуватий забій здорових тварин з неспецифічними реакціями на туберкулін спричиняє економічні збитки господарствам, тож визначення природи цих реакцій залишається актуальним аспектом диференційної діагностики туберкульозу.

Метою роботи було проведення аналізу епізоотичної ситуації з туберкульозу та визначення природи алергічних реакцій на туберкулін у великої рогатої худоби у благополучному щодо туберкульозу господарстві.

Матеріали і методи. Ретроспективний аналіз епізоотичної ситуації щодо туберкульозу великої рогатої худоби в господарстві проводили згідно з актами проведених клінічних, алергічних та патологоанатомічних досліджень.

Алергічні дослідження поголів'я великої рогатої худоби на туберкульоз у піддослідному господарстві проводили з використанням «Туберкуліну очищеного (ППД) для ссавців у стандартному розчині» та «Алергену сухого очищеного з атипичних мікобактерій (ААМ), виготовлених ДП «Сумська біофабрика». Туберкулін вводили безголковим ін'єктором «БІ-7» внутрішньошкірно з лівої, а ААМ з правої сторони середньої третини шиї у попередньо вистрижене та оброблене 70 %-м спиртом місце. Облік шкіряних реакцій проводили через 72 години після введення алергенів шляхом вимірювання товщини шкіряної складки. Позитивною реакцією вважали, якщо різниця між товщиною нормальної шкіри і товщиною шкіряної складки після введення алергенів складала 3,0 мм і більше.

Проби біологічного матеріалу (заглоткові, підщелепові, бронхіальні, середостінні, портальні лімфовузли, шматочки легенів, печінки, селезінки) від забитих з діагностичною метою реагуючих на туберкулін для ссавців і ААМ тварин, а також проби гною з вигульних майданчиків (n=5), кормів (n=5) та зіскрібів з годівниць (n=4), досліджували культуральним методом на наявність мікобактерій.

Передпосівну обробку лімфатичних вузлів, шматочків внутрішніх органів проводили за методом А. П. Алікаєвої з використанням 5 % розчину сірчаної кислоти, а обробку проб корму, ґрунту, гною — 0,9 % розчином цетилперидинію хлориду. Посів дослідного матеріалу проводили на щільне яєчне середовище для культивування мікобактерій. Пробірки з висівами культивували в термостаті за температури $37,0 \pm 0,5$ °С протягом 90 діб. Облік росту мікобактерій на живильному середовищі в перші сім діб проводили щоденно, у подальшому — один раз на тиждень. При виявленні росту колоній мікобактерій на поверхні живильного середовища із бактеріальної маси готували мазки, які фарбували за методом Циля-Нільсена та проводили їх мікроскопію. Після визначення кислотостійкості та чистоти культури у виділених ізолятах культур вивчали морфологію, швидкість росту колоній за температури 22 °С, 37 °С, 45 °С, їх пігментацію, а також толерантність до 5,0 % хлористого натрію. Крім цього у виділених культур мікобактерій вивчали каталазну, пірозинамідазну, нікотинамідазну активність, реакцію з

сечовиною, телуритом калію, здатність гідролізувати Твін-80, а також біологічні властивості мікобактерій в дослідках на морських свинках.

Результати досліджень. За результатами проведеного ретроспективного аналізу встановлено, що поголів'я великої рогатої худоби благополучне щодо захворювання на туберкульоз протягом останніх 10 років. Комплектування стада проводиться шляхом введення до основного стада нетелів, вирощених на фермі № 2 цього господарства, а також закупівлі нетелів і телиць в інших господарствах. Годівля тварин здійснюється згідно з раціонами за фізіологічними нормами та продуктивністю тварин. Корови утримуються на фермі № 1 в типових приміщеннях, а молодняк на фермі № 2. У літній період телиці парувального віку випасаються на пасовищах.

При алергічному дослідженні поголів'я великої рогатої худоби у 2018 році вперше було виділено 12 реагуючих на туберкулін тварин, які були вилучені зі стада на забій. В подальшому за період з 2019 року по 2022 рік серед дослідженого поголів'я (750 голів) було виявлено 87 корів, які позитивно реагували на внутрішньошкірне введення туберкуліну (ППД) для ссавців, з яких 25 голів було забито з діагностувальною метою. При експертизі туш забитих тварин у внутрішніх органах і лімфатичних вузлах туберкульозних уражень не виявляли. Проведеними культуральними дослідженнями 10-ти проб біоматеріалу від забитих тварин збудника туберкульозу не було виділено. З метою з'ясування природи алергічних реакцій на туберкулін та визначення епізоотичного статусу стада щодо туберкульозу нами було застосовано комплексний метод діагностики.

Так, серед обстеженого поголів'я (829 голів), яке утримується в господарстві, клінічно хворих на туберкульоз тварин виявлено не було. При алергічному дослідженні 809 голів, в тому числі 374 корів, 25 нетелів та 410 голів молодняку різновікових груп в симультанній алергічній пробі в травні 2023 року було виявлено 7 корів, а в червні 9 корів, які реагували на туберкулін для ссавців та алерген з атипичних мікобактерій. Разом з тим у 14 тварин інтенсивність алергічної реакції була більш виражена на ААМ у порівнянні з реакцією на туберкулін для ссавців. При цьому середнє потовщення шкіряної складки на місці введення ААМ складало $6,8 \pm 1,3$ мм, а на туберкулін для ссавців — $3,8 \pm 0,3$ мм. Крім цього у двох тварин інтенсивність внутрішньошкірної реакції на туберкулін і ААМ була однаковою, з потовщенням складки шкіри на 3 мм.

Проведеним симультанно-алергічним дослідженням цього поголів'я у серпні місяці в симультанній пробі внутрішньошкірні реакції на туберкулін для ссавців та алерген з атипичних мікобактерій відмічали у 17 голів. При цьому інтенсивність внутрішньошкірної реакції на туберкулін з потовщенням шкіряної складки у тварин в середньому складала $3,8 \pm 0,2$ мм, тоді як на ААМ цей показник складав $7,0 \pm 1,0$ мм. При дослідженні поголів'я тварин через 30 діб (у вересні) реакції на туберкулін та ААМ були виявлені у 12 інших корів, які раніше не реагували на мікобактеріальні алергени. З них у 10 голів реакція на ААМ була виражена інтенсивніше, ніж реакція на туберкулін, а потовщення складки шкіри на місці введення ААМ на 3–5 мм перевищувало в порівнянні на введення туберкуліну. У двох корів інтенсивність реакції на туберкулін і ААМ була однаковою, тобто потовщення складки шкіри після введення обох алергенів складало 4 мм.

У 14 корів, які реагували в травні–червні, при дослідженні їх у серпні та вересні реакції на мікобактеріальні алергени були відсутні. Разом з цим при клінічному та алергічному дослідженні нетелів, телиць парувального віку та молодняку різновікових груп протягом року в жодному випадку клінічно хворих на туберкульоз та реагуючих на мікобактеріальні алергени тварин виявлено не було.

З метою визначення епізоотичного статусу поголів'я великої рогатої худоби щодо туберкульозу та природи алергічних реакцій на мікобактеріальні алергени проведено діагностичний забій 4 корів, які з однаковою інтенсивністю реагували на туберкулін та ААМ. При патологоанатомічному дослідженні у забитих тварин в заглоткових, підщелепових, бронхіальних, середостінних, портальних, мезентеріальних, надвим'яних лімфатичних вузлах та внутрішніх органах (печінка, селезінка, нирки) характерних для туберкульозу уражень в жодному випадку не було виявлено, а з проб біоматеріалу, відібраного від забитих тварин, у трьох випадках культуральним методом виділені кислотостійкі культури мікобактерій.

Крім цього з проб фекалій з вигульних майданчиків (2), зіскрібів з годівниць (1) та корму (2) були ізольовані 5 культур, які позитивно фарбувались за методом Циля-Нільсена, що дало підставу віднести їх до роду *Micobacterium*.

При вивченні культуральних, біохімічних властивостей у двох культурах, виділених від тварин та культурах із зіскрібів з годівниць (1), корму (2) встановлено, що вони в першій генерації виростили на живильному середовищі на 4–5 добу за температури культивування 22 °С, 37 °С та 45 °С у вигляді поодиноких, округлих, гладеньких з блискучою поверхнею жовтого кольору колоній маслянистої консистенції, які з часом зливались між собою, утворюючи суцільний ріст на всій поверхні середовища. Ці культури добре росли на середовищі з 5,0 % розчином хлористого натрію, мали позитивну каталазну, нікотин- та пірозинамідазну активність, реакцію з телуритом калію, сечовиною, гідролізували Твін-80, обумовлювали у морських свинок сенсibiliзацію до туберкуліну для ссавців та ААМ, що дало підставу віднести їх до виду *M. phlei*.

Виділені з заглиблених лімфатичних вузлів від корови та з проб фекалій культури в першій генерації на живильному середовищі з 5 % розчином хлористого натрію виростили на 5 добу за температури 22 °С, 37 °С у вигляді світло-сірого кольору колоній з гладенькою матовою поверхнею, добре суспендувались у фізіологічному розчині, не росли за температури 45 °С, мали високу каталазну активність, позитивну реакцію з сечовиною, нікотинамідом, пірозинамідом, телуритом калію та одна з них не гідролізувала Твін-80. У морських свинок обумовлювали гіперчутливість сповільненого типу на туберкулін та ААМ. За результатами проведених досліджень виділені культури мікобактерій були віднесені до четвертої групи за класифікацією Раньйона, до виду *M. fortuitum*.

Висновки. За результатами проведених досліджень встановлено, що параалергічні реакції на туберкулін для ссавців у великої рогатої худоби були обумовлені сенсibiliзацією непатогенними атипovими мікобактеріями виду *M. phlei* та *M. fortuitum*.

Застосування комплексного методу дослідження дозволяє спростувати захворювання великої рогатої худоби на туберкульоз, в короткий термін визначити природу алергічних реакцій на туберкулін та зменшити економічні збитки від невиправданого забою здорових продуктивних тварин.

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, 2005. 20 с.
2. Фещенко Ю. І., Мельник В. М. Сучасні методи діагностики, лікування і профілактики туберкульозу. Київ : Здоров'я, 2002. 902 с.
3. 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.
4. Кассич Ю. Я., Борзяк А. Т., Кочмарский А. Ф., Мартма О. В., Нечваль І. Т., Овдиенко Н. П. Туберкулёз животных и меры борьбы с ним. Киев : Урожай, 1990. 304 с.
5. Стегній Б. Т., Завгородній А. І., Загребельний В. О. Стан і перспективи вирішення проблеми туберкульозу тварин в Україні. *Ветеринарна медицина*. 2012. Вип. 96. С. 237–239. URL: <https://www.jvm.kharkov.ua/sbornik/96/95.pdf>.
6. Pujic P., Beaman B. L., Ravalison M., Boiron P., Rodríguez-Nava V. Nocardia and Actinomyces. *Molecular Medical Microbiology*. 2015. P. 731–752. DOI: <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-397169-2.00040-8>.
7. Cvetnić Ž., Zdelar Tuk M., Duvnjak S., Reil I., Mikulić M., Pavlinec Ž., Cvetnić M., Špičić S.. Tuberculous and nontuberculous mycobacteria in human and animal infection. *Veterinary Journal of Republic of Srpska (Banja Luka)*. 2019. Vol. 18, No 2. P. 356–366. DOI: <https://doi.org/10.7251/vetjen1802342c>.
8. Процюк Р. Г. Сучасні проблеми епідемії туберкульозу в Україні: причини та шляхи її подолання. *Здоров'я України*. 2008. № 16. С. 63–66. URL: <https://health-ua.com/article/16372-suchasn-problemi-epdem-tuberkulozu-v-ukran-prichini-ta-shlyahi-podolannya>.
9. Global tuberculosis report 2017. *World Health Organization*. URL: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241565516>.

PROBLEMS OF PARAALLEGIC REACTIONS TO TUBERCULIN IN CATTLE

Zavgorodniy A. I., Pozmogova S. A., Bilushko V. V., Busol V. O.,
Sviridova K. O., Savchenko O. V., Stegnyy B. T.

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

*The article presents the results of the analysis of epizootic, clinical, simultaneous allergic study of cattle for tuberculosis and bacteriological examination of samples of biomaterial, feed, scrapings from feeders, and feces. It was found that over four years, 87 cows reacting to tuberculin were detected on the farm, among which no clinically sick cows were found. In four simultaneous allergy tests of cattle, 45 cattle were found to be reactive to tuberculin and an atypical mycobacterial allergen (AAM). In 41 animals, reactions to AAM were more intense compared to reactions to mammalian tuberculin. Mycobacterial cultures were isolated from biomaterial from 4 cows, as well as samples of feed, feces from walking areas, and scrapings from feeders, which were positively stained by the Ziehl-Nielsen method. According to the cultural, morphological, and biochemical characteristics, the isolated mycobacterial isolates belonged to the species *M. phlei* and *M. fortuitum*, which did not cause the development of tuberculosis in guinea pigs, but caused sensitization to tuberculin and AAM. These results suggest that atypical mycobacteria persisting in the body of cattle cause short-term sensitization to mycobacterial allergens. To control the epizootic situation with tuberculosis and to determine the nature of allergic reactions, as well as to differentiate specific from paraallergic and pseudoallergic reactions in safe farms, it is necessary to use a comprehensive method of testing livestock for tuberculosis. Application of this research method allowed us to determine the nature of allergic reactions to tuberculin in a short time (within 1-3 months), to keep 41 healthy animals in the herd, and to reduce economic losses caused by unjustified slaughter of productive animals*

Keywords: *Mycobacterium bovis, Mycobacterium tuberculosis, tuberculin test, mycobacteria, allergens, paraallergy*