

УДК 619 : 616.98 : 579 (043:3)

МОНІТОРИНГ МІКОБАКТЕРІАЛЬНИХ ІНФЕКЦІЙ ТВАРИН ЗООЛОГІЧНИХ КОЛЕКЦІЙ

АЛЕКСЄЄВА Н. В. к. вет. н., доцент
СОСНИЦЬКИЙ О. І. д. вет. н., професор
ШУЛЕШКО О. О. к. вет. н., доцент
СІДИЙ А. С. студент-магістрант
ПАНЧЕНКО О. А. студент-магістрант

Дніпропетровський аграрно-економічний
університет, м. Дніпропетровськ
alekseevaddau@gmail.com

Визначено епізоотичний стан щодо мікобактеріальних інфекцій тварин зоологічних колекцій. Провівши моніторинг благополуччя зоопаркових тварин на туберкульоз шляхом застосування інтрадермальної туберкулінової проби та бактеріологічного дослідження матеріалу з об'єктів зовнішнього середовища (вольєрів і кліток) та проб фекалій, *M. bovis* не виявлено.

Мікобактеріальні інфекції, зоопаркові тварини, епізоотологічне благополуччя, інтрадермальний тест, дослідження об'єктів зовнішнього середовища

Постановка проблеми. Збудники мікобактеріальних інфекцій відносяться до ряду *Actinomycetales*, підряду *Corynebacterineae*, родини *Mycobacteriaceae*, роду *Mycobacterium* та являються аеробними, не утворюючими спор, нерухливими кислотостійкими паличками. Філогенетичне положення родини *Mycobacteriaceae* визначено за допомогою аналізу послідовностей гену 16S rRNA. За класифікацією *Bergeys of Systematic Bacteriology* (2012), рід *Mycobacterium* нараховує 129 видів і підвидів. Збудниками мікобактеріальних інфекцій у зоопаркових тварин частіше виступають *Mycobacterium tuberculosis complex* (МТВС) – види *M. tuberculosis*, *M. africanum*, *M. bovis*, *M. caprae*, *M. microti*, *M. pinnipedii*; *Mycobacterium avium complex* (МАС) – види *Mycobacterium avium* (*M. aubsp. Avium*, *M. avium subsp. paratuberculosis*, *M. avium subsp. silvaticum*), *M. intracellulare* та *M. chimaera*.

Особливо необхідно виділити проблему діагностики туберкульозу тварин зоологічних колекцій, як однією з найважливіших складових системи збереження, відновлення рідкісних і зникаючих видів тварин. Зоопарки зазвичай знаходяться на території великих міст і виконують роль культурно-просвітницьких установ, які відвідує величезна кількість людей (як правило, з дітьми). При цьому концентрація найрізноманітніших тварин на обмежених площах ставить перед фахівцями ветеринарної медицини складну задачу розробки та вдоско-

налення діагностики й профілактики різних інфекційних захворювань диких тварин і, особливо, туберкульозу [1].

Основними збудниками туберкульозу тварин зоологічних колекцій є представники групи *Mycobacterium tuberculosis complex* (МТВС) – *M. tuberculosis* і *M. bovis*, що представляють значну небезпеку для людини, особливо, якщо зоопаркові тварини утримуються у вольєрах, що не мають бар'єрного скла між тваринами і відвідувачами, оскільки основним шляхом розповсюдження інфекції є повітряно-краплинний. Крім того, хворі на туберкульоз люди представляють не меншу небезпеку для тварин.

Mycobacterium bovis – є однією з найпоширеніших мікобактерій у світі й уражує близько 70 видів диких тварин та біологічно тісно пов'язана з *Mycobacterium tuberculosis*, що мають багато спільних господарів і антигенів.

У даний час у сільському господарстві туберкульоз великої рогатої худоби є контрольованою інфекцією – розроблені заходи діагностики, контролю та оздоровлення. Відносно зоопаркових тварин ситуація складніша, оскільки статистичні данні відсутні. Саме проведення постійного моніторингу дозволяє не допустити розвитку епізоотії, а заходи, спрямовані на обмеження контактів диких і домашніх тварин (як можливого джерела інфекції), призводять до зниження випадків виділення даного збудника [2].

Mycobacterium avium complex (MAC) представляють загрозу для птиці та сумчастих. У цій групі *Mycobacterium avium subsp. avium* найбільш патогенні для усіх без винятку видів птиці, хоча найбільш схильними вважаються гусеподібні, куроподібні, журавлеподібні, папугоподібні та соколоподібні. *M. avium* дуже стійка в навколишньому середовищі і виділяється з води, ґрунту, підстилки протягом декількох років після контамінації. І, хоча серед популяції дикої птиці рівень інфікування дуже низький, це реальна загроза для тварин зоологічних колекцій, оскільки хвора птиця виділяє величезну кількість вкрай стійкого збудника в навколишнє середовище.

Зоопаркові тварини тривалий час (іноді усе життя) перебувають в умовах, віддалених від середовища їх природного перебування, що накладає певний відбиток на особливості можливого виникнення захворювань різної етіології, у тому числі інфекційних. У зв'язку з цим, треба постійно проводити заходи сприяючі запобіганню виникнення та поширення хвороб [3].

Чітко розробленої системи профілактики інфекційних захворювань у різних видів тварин, що утримуються в неволі, немає. Проблема додатково ускладнюється рідкістю і, як наслідок цього, високою вартістю диких тварин, складністю обробки кліток, вольєрів та інших приміщень, де утримуються високоцінні дикі тварини. При цьому новоприбулі дикі тварини можуть бути ймовірним джерелом хронічної або з тривалим інкубаційним періодом інфекції, яка може проявитися вже після закінчення терміну профілактичного карантинування.

З урахуванням складної епідеміологічної ситуації по туберкульозу актуальність проведення системи моніторингу мікобактеріальних інфекцій зоопаркових тварин, значно зростає. На необхідність контролю захворюваності туберкульозом тварин, що містяться в зоопарках, вказують і зарубіжні дослідники [4-7].

Мета досліджень – провести моніторинг мікобактеріальних інфекцій серед тварин зоологічної колекції зоозони комунального закладу «Парк культури і відпочинку ім. Т.Г. Шевченка», міста Дніпропетровська.

Матеріал і методи досліджень. Робота виконувалася згідно наукової тематики кафедри

епізоотології та інфекційних хвороб тварин ДДАЕУ “Розробка системи профілактики та боротьби з туберкульозом тварин” (номер державної реєстрації (0110U2413) у лабораторії кафедри.

Моніторинг мікобактеріальних інфекцій у тварин зоопарків проводили із застосуванням внутрішньо шкірної проби (IDT) та бактеріологічного дослідження проб фекалій й матеріалу з об’єктів зовнішнього середовища, вольєрів і кліток із різними видами зоопаркових тварин.

Для проведення внутрішньо шкірної проби використали «Туберкулін очищений (ППД) для ссавців у стандартному розчині» з біологічною активністю 50000 ± 10000 МО / мг виробництва ДП “Сумська біофабрика”, дата виготовлення 22.07.2014, серія № 30, придатний до 22.07.2016 р.

Туберкулін вводили внутрішньошкірно ін’єктором механічним безголковим БІ-7М ООО «Компанія Асоль» та шпигами ємністю 1 см^3 у дозі 5000 МО (міжнародних одиниць) в об’ємі $0,1 \text{ см}^3$

Козам і вівцям алерген вводили внутрішньопальпально в нижню повіку; поні, оленям та віслюку – у шкіру середньої третини шиї; верблюду – у шкіру верхньої третини черева; лисицям та єнотоподібній собаці – у шкіру в ділянці внутрішньої поверхні стегна.

Перед введенням туберкуліну проводили вистригання та обробку шкіри в місці ін’єкції 70 % розчином етилового спирту. Складку шкіри у місці введення брали між великим та вказівним пальцями, вимірювали кронциркульом та записували розмір.

Облік результатів у кіз, овець, лисиць, єнотоподібної собаки проводили через 48 годин після введення препарату, а у верблюду, оленів, поні і віслюка – через 72 години. Інтерпретацію результатів здійснювали згідно з чинною Інструкцією з профілактики та боротьби з туберкульозом тварин, затвердженої наказом Державного комітету ветеринарної медицини України 03.09.2009 № 316.

Бактеріологічне дослідження застосували як сигнальний метод, для визначення благополуччя щодо мікобактеріальних інфекцій зоопаркових тварин, особливо, яким внаслідок агресивності та неможливості фіксації внутрішньошкірну пробу не вдалося провести.

Бактеріологічне дослідження проб фекалій та матеріал з об'єктів зовнішнього середовища із вольєрів і кліток проводили згідно «Настанови по діагностиці туберкульозу тварин та птиці», 1994 р., що включало мікроскопію та вивчення особливостей культурального росту.

Мікроскопічне дослідження проводили методом світлової мікроскопії, для чого готували мазки, які висушували на повітрі, фіксували над полум'ям, фарбували за Цілем-Нільсеном та проглядали під мікроскопом. Для фарбування використали «Набір реагентів для диференціального забарвлення мікобактерій» науково-виробничого підприємства «Філістін-Діагностика», м. Дніпропетровськ, з терміном придатності до 01.2017 р. та скло предметне для мікроскопії № 7102, фірми Micromed.

Результати досліджень та їх обговорення.

На мікобактеріальні інфекції досліджено: 11 кіз у тому числі кози пекарі, які утримувалися у семи вольєрах; 7 овець та 3 барани, зокрема 4 вівці азіатські (гірські), які утримувалися у трьох вольєрах; 3 поні, які знаходилися у двох вольєрах; 1 віслиук, 1 верблюд, 2 олені, 1 лама, які утримувалися у п'яти вольєрах; 2 дикі кабани у 2 вольєрах; 1 ведмідь в окремому вольєрі, 4 вовки у 2 вольєрах; 5 лисиць, що знаходилися у 3 вольєрах; 1 єнотоподібна собака та 2 єноти-полоскуни, які утримувалися у двох вольєрах і двох клітках.

Відповідно до затверджених нормативних документів основним методом захиттевої діагностики туберкульозу тварин є внутрішньошкірна проба. Однак, його проведення серед зоопаркових тварин зоопарків (дикий кабан, ведмідь, вовки, єноти-полоскуни) не представляється можливим, через високу агресивність тварин і, як наслідок цього, небезпеки, яку вони представляють для людини. Нами від таких тварин були відібрані проби фекалій і матеріал з об'єктів зовнішнього середовища (вольєрів і кліток).

За інтерпретації результатів проведеної нами внутрішньошкірної проби в жодному випадку не встановлено позитивної або сумнівної реакцій. У всіх досліджених алергічним методом зоопаркових тварин не спостерігалось жодних клінічних проявів хвороби та потовщення складки шкіри більше 2 мм.

Для культурального дослідження відібраного матеріалу (n=60) з об'єктів зовнішнього середовища (вольєрів і кліток) та проби фекалій піддали попередній обробці.

Проби фекалій (n=25) масою 30 г. заливали водою у співвідношенні 1:4, перемішували та відстоювали за кімнатної температури упродовж 1-2 годин. Проби фекалій від лисиць, диких кабанів, ведмеда, вовків, єнотів-полоскунів відстоювали упродовж 2 годин. Потім із верхнього освітленого шару відбирали 10 см³ рідини у центрифужні пробірки та центрифугували 30 хв. за 1500 об./ хв. Була використана центрифуга ОПЗ-3. Надосадову рідину зливали, осад обробляли кислотою з подальшим центрифугуванням за того ж режиму, із загальною експозицією дії кислоти не більше 30 хвилин, надосадову рідину зливали, а осад двічі промивали стерильним фізіологічним розчином, а потім використали для посіву.

Проби з об'єктів зовнішнього середовища (із вольєрів і кліток) (n=35) масою 30 г. заливали водою у співвідношенні 1:4, перемішували та відстоювали за кімнатної температури упродовж 30-45 хв. З середнього освітленого шару відбирали 10 см³ рідини у центрифужні пробірки та центрифугували 30 хв. за 1000 об./ хв. Надосадову рідину зливали, осад обробляли кислотою з подальшим центрифугуванням за того ж режиму, із загальною експозицією дії кислоти не більше 25-30 хв., надосадову рідину зливали, а осад двічі промивали стерильним фізіологічним розчином, а потім використали для посіву.

Оброблений матеріал висівали у 5 пробірок з яечним живильним середовищем Мордовського «Нове». Висів проводили бактеріологічною петлею, обережно втираючи посівний матеріал по всій поверхні живильного середовища. Засіяні пробірки закривали стерильними пробками та поміщали у термостат за 37 °С, де перші дві доби витримували у похилому положенні. Пробірки у яких з'являвся ріст сторонньої мікрофлори, видаляли. За посівами спостерігали упродовж 3-х місяців та проглядали не рідше одного разу на тиждень, для виявлення первинного росту мікобактерій.

Облік росту виділених культур проводили за наступною схемою: термін виявлення первинного росту, характеристика колоній

(форма, поверхня), консистенція, пігментування, емульгованість у фізіологічному розчині, тинкторіальні властивості при фарбуванні за Цілем-Нільсеном, морфологія мікобактерій.

За результатами проведеного бактеріологічного дослідження 60 проб матеріалу об'єктів зовнішнього середовища (із вольєрів і кліток) та фекалій зоопаркових тварин, збудників мікобактеріальних інфекцій виявлено не було.

На підставі проведених досліджень та отриманих результатів, нами зроблено заключення, що тварини зоологічної колекції зоозони комунального закладу «Парк культури і відпочинку ім. Т.Г. Шевченка», міста Дніпропетровська не інфіковані збудниками мікобактеріальних інфекцій, які також відсутні в об'єктах зовнішнього середовища.

Висновки та перспективи подальших розробок. Проведені моніторингові дослідження тварин зоологічної колекції зоозони комунального закладу «Парк культури і відпочинку ім. Т.Г. Шевченка» (м. Дніпропетровськ) із застосуванням внутрішньошкірної туберкулінової проби і бактеріологічного дослідження матеріалу (n=60) з об'єктів зовнішнього середовища (вольєрів і кліток), проб фекалій, свідчать про їх благополуччя щодо *M. bovis*.

Перспективи подальших розробок – дослідити на мікобактеріальні інфекції птицю зоопарку. Вже проведено алергічне дослідження, відібрані проби посліду та матеріал з об'єктів зовнішнього середовища вольєрів і кліток. Відібраний для бактеріологічного дослідження матеріал оброблено, висіяно на живильні середовища та ведеться спостереження.

ЛІТЕРАТУРА

1. Альшинецкий М. В. Диагностика туберкулёза зоопарковых животных / М. В. Альшинецкий // Ветеринарная патология. – 2004. – № 1-2. – С. 147–148.
2. Донченко А. С. Туберкулез крупного рогатого скота, верблюдов, яков, овец и пантовых оленей / А. С. Донченко, В. Г. Луницын – Новосибирск, 1994. — 353 с.
3. Макарова М. В. Нетуберкулезные микобактерии: классификация, эпидемиология, патология у людей и животных, лабораторная диагностика / М. В. Макарова // Проблемы туберкулеза и болезней легких. – 2007. – № 10. – С. 7-17.
4. Stetter M. D. Epizootic of *Mycobacterium bovis* in a zoological park / M. D. Stetter, S. K. Mikota, A. F. Gutter et all. // J. Am. vet. med. assoc. 1995. – № 207. – P. 1618–1621.
5. Maslow J. Tuberculosis and other mycobacteria as zoonoses / In Proc. American Association of Zoo Veterinarians Annual Conference // Houston, Texas, 1997. – P.110–115.
6. Rastogi N. The mycobacteria: an introduction to nomenclature and pathogenesis. In *Mycobacterial infections in domestic and wild animals* / N. Rastogi, E. Legrand, C. Sola et all. // Rev. sci. tech. off int. Epiz. – 2001. – № 20 (1). – P. 21–54.
7. Lecu A. Mycobacterial infections in zoo animals: relevance, diagnosis and management / A. Lecu, R. Ball // International Zoo Yearbook. – V. 45. – 2011. – № 1. – P. 183-202.

МОНИТОРИНГ МИКОБАКТЕРИАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЙ ЖИВОТНЫХ ЗООЛОГИЧЕСКИХ КОЛЛЕКЦИЙ

Алексеева Н.В., Сосницкий А.И., Шулешко А.А., Седой А.С., Панченко А.А.

Днепропетровский государственный аграрно-экономический университет, г. Днепропетровск

Определено эпизоотическое состояние в отношении микобактериальных инфекций животных зоологических коллекций. В результате мониторинга благополучия зоопарковых животных на туберкулез проводили путем применения внутрикожной туберкулиновой пробы и бактериологического исследования материала из объектов внешней среды (вольеров и клеток) и проб фекалий, *M. bovis* не выявили.

Микобактериальные инфекции, зоопарковые животные, эпизоотологическое благополучие, внутрикожная проба, исследования объектов внешней среды

MONITORING MYCOBACTERIAL INFECTIONS ANIMALS ZOOLOGICAL COLLECTIONS

N. Alekseeva, A. Sosnitskiy, A. Shuleshko, A. Sydoy, A. Panchenko

Dnipropetrovsk State Agrarian and Economic University, Dnipropetrovsk

Determining cases of epizootic disease, mycobacterial infections of animals zoological collections. Monitoring welfare zoo animal tuberculosis was performed by applying the intradermal tuberculin test and biological research material objects from the environment (cages and cells) and fecal samples.

The diagnostic problem of animal tuberculosis in the zoological collection is one of the main components of the conservation, restoration of rare and endangered species very important issue.

The zoos are usually found in big cities and serve the cultural and educational institutions, which are visited by large numbers of people (usually children). The concentration of a variety of animals in confined spaces pose difficult task veterinary specialists to develop new diagnostics and prevention of various infectious diseases and wild animals, especially tuberculosis.

Zoo animals for a long time (sometimes a lifetime) are in conditions far from their natural environment stay, which imposes certain effect on the possible features of diseases of different etiologies, including infectious. In this regard, we must constantly carry out activities contributing to preventing the emergence and spread of disease.

Unfortunately, well-developed system of prevention of infectious diseases in different species of animals kept in captivity there. The problem is further complicated by rare and, consequently, the high cost of wildlife, the complexity of processing cells, cages and other facilities where detained high-value wild animals. It newcomers wild animals can be a likely source of chronic or long incubation period of the infection, which can occur after expiration of preventive quarantine.

Given the complex of the relevant epidemiological situation of tuberculosis, surveillance system of mycobacterial infections zoo animals increases significantly.

The need to fight against tuberculosis of animals in zoos, based on foreign researchers.

Monitoring mycobacterial infections in zoo animals, the use of intradermal tests (IDT), bacteriological studies stool is the object of the equipment, the environment of pens and cages with different types of zoo animals.

Bacteriological studies, what method used to determine the welfare of zoo animals suffering from mycobacterial infections, particularly due to the aggression and the inability to fix the intradermal testing and not signaling.

Because of these studies and the results obtained, we made the conclusion of these animals studied the zoological collection are not infected with pathogens such as mycobacterial infections, are also absent in the objects of the environment.

Animals tracking research, using intradermal test equipment and bacteriological studies (n = 60) of objects in the environment (cages and cells), stool samples; indicate their wellness mycobacterial infections.

Mycobacterial infection, zoo animals, epizootic welfare, intradermal test, study environmental objects
