



Science and Technology Bulletin of SRC for Biosafety and Environmental Control of AIC

Study of cultural properties and biological activity *Mycobacterium avium* IEKVM-UAAS

A.I. Sosnitskiy, A.A. Sosnitskaya

Dnipropetrovsk State Agrarian and Economics University, Dnipro, Ukraine

*Dnipropetrovsk State
Agrarian and Economic
University, 49600, Dnipro,
Mandrykivska st., 276
+38(0562)361714
E-mail:
bulletin.biosafety@gmail.com*

Mycobacterial diseases of animals and humans are emergent anthrozoonotic infectious pathologies, which bring enormous economic losses to livestock and irreparable sanitary and epidemic damage to the human population throughout the history of civilization. Despite the rapid and effective development of the biological branches of science and the emergence of molecular genetic methods of research, many, even methodologically relatively simple questions of bacteriology of mycobacteria have not been fully studied.

One of these aspects is the cultural dissociation of mycobacterial culture at perennial passages on elective nutrient media at optimal temperatures, creating sparing regimens for the growth of microbionts and incorporating the genetic program of saprophyticization. This is a banal situation for any laboratory leading a museum of living cultures. In the bioprospecting industry, in the production of anti-tuberculosis biologics, the cultural variability of reference cultures can lead to the loss of activity of diagnostic drugs. Therefore, it is necessary to monitor the cultural and morphological properties and biological activity of reference crops in the process of repeated re-entry and forecast on the basis of objective information of the biological correspondence of variability variants and its permissible variations from the initial prototype.

It has been shown that the *M. avium* IEKVM-UAAS reference culture has not changed the morphotonic, biochemical and antigenic properties in the course of many years of travel, but the virulence, as the most important component of the biological activity of the strain, has significantly decreased for standard laboratory models and it needs to culture through The organism of a susceptible animal.

In a bioassay on chickens and rabbits, the reference of saprophyticization strain exhibited heterogeneous biological activity. On an evolutionarily adapted form of chickens, the culture induced a factor type of the infectious process of low intensity, with a slightly pronounced pathogenic effect, while refreshed re-isolates were obtained. On rabbits - the infectious process was abortive with complete release from the pathogen.

Key words: *reference culture, M. avium IEKVM-UAAS, passenger, biological activity, pathogenicity, cultural properties, biological research, immunogenesis, resistance.*

Изучение культуральных свойств и иммунобиологической активности *Mycobacterium avium* ИЭКВМ-УААН

А.И. Сосницкий, А.А. Сосницкая

Днепропетровский государственный аграрно-экономический университет, г. Днепр, Украина

Микобактериальные заболевания животных и человека являются эмерджентными антропоозонозными инфекционными патологиями, приносящими колоссальные экономические убытки животноводству и невосполнимый санитарно-эпидемиологический ущерб человеческой популяции на протяжении всей истории цивилизации. Несмотря на бурное и эффективное развитие биологических отраслей науки и появлению молекулярно-генетических методов исследования многие, даже методологически относительно простые вопросы бактериологии микобактерий изучены недостаточно полно.

Citation:

Sosnitskiy A.I., Sosnitskaya A.A. (2017). Study of cultural properties and biological activity *Mycobacterium avium* IEKVM-UAAS. *Science and Technology Bulletin of SRC for Biosafety and Environmental Control of AIC*, 5(1), 54–60.

Одним из таких аспектов является культуральная диссоциация микобактериальной культуры при многолетних пассажах на селективных питательных средах при оптимальных температурах, создающих щадящие режимы вегетации микробионтов и включающих генетическую программу сапрофитизации. Это банальная ситуация для любой лаборатории ведущей музей живых культур. В биопромышленности, при производстве противотуберкулезных биопрепаратов культуральная изменчивость референс-культур может привести к потере активности диагностических препаратов. Поэтому необходим мониторинг культурально-морфологических свойств и биологической активности референс-культур в процессе многократных пересевов и прогноз на основе объективной информации биологического соответствия вариантов изменчивости и ее допустимых вариаций от исходного прототипа.

Показано, что референс-культура *M. avium* ИЭКВМ-УААН в процессе многолетнего пассажирования не изменила морфо-тинкториальные, биохимические и антигенные свойства, однако вирулентность, как важнейшая составляющая биологической активности штамма существенно снизилась для стандартных лабораторных моделей и для ее восстановления необходимо проведение культуры через организм восприимчивого животного.

В биопробе на цыплятах и кроликах сапрофитизированный референтный штамм проявил неоднородную биологическую активность. На эволюционно адаптированном виде животных – цыплятах, культура индуцировала факторный тип инфекционного процесса невысокой интенсивности, со слабо выраженным болезнетворным воздействием, при этом были получены освеженные реизолаты. На кроликах – инфекционный процесс носил абортный характер с полным освобождением от возбудителя.

Ключевые слова: референс-культура, *M. avium* ИЭКВМ-УААН, пассажирование, биологическая активность, патогенность, культуральные свойства, биологическое исследование, иммуногенез, резистентность.

УДК 619:616.98:579.873.21

Вивчення культуральних властивостей та імунобіологічної активності *Mycobacterium avium* ІЕКВМ-УААН

О.І. Сосницький, А.О. Сосницька

Дніпропетровський державний аграрно-економічний університет, м. Дніпро, Україна

Мікобактеріальні захворювання тварин та людини являють собою емерджентні антропозоозні інфекційні патології, що призводили до величезних економічних збитків тваринництву та до незворотних санітарно-епідеміологічних ушкоджень людству протягом усієї історії цивілізації. Не дивлячись на стрімкий та ефективний розвиток біологічних наук та появу молекулярно-генетичних методів дослідження, багато питань відносно бактеріології мікобактерій вивчені недостатньо.

Одним з таких аспектів є культуральна дисоціація мікобактеріальних культур при багатолітніх пасажах на селективних позитивних середовищах за оптимальною температурою, що створює м'які умови вегетації микробионтів і індукує генетичну програму сапрофитизації. Це банальна ситуація для кожної лабораторії, що веде музей живих культур. У біопромишловості, при виробництві протитуберкульозних біопрепаратів культуральна дисоціація референс-культур може призвести до втрати активності діагностичних препаратів. Тому потрібен моніторинг культурально-морфологічних властивостей та біологічної активності референс-культур у процесі довготривалого пассажування і прогноз, на підставі об'єктивної інформації, відносно біологічної відповідності змінених варіантів та їх допустимих варіацій порівняно з вихідним прототипом.

Встановлено, що референс-культура *M. avium* ІЕКВМ-УААН при багатолітньому пассажуванні не змінила морфо-тинкторіальні, біохімічні та антигенні властивості, окрім вирулентності, яка як важлива складова біологічної активності штаму, суттєво знизилась відносно стандартних лабораторних моделей і для її відновлення потрібно провести культуру через сприйнятливую тварину.

У біопробі на курчатах та кролях сапрофитизований референтний штам виявив неоднорідну біологічну активність. На еволюційно адаптованому виді тварин – курчатах, культура індукувала факторний тип інфекційного процесу невысокої інтенсивності, з слабо вираженим хвороботворним впливом, при цьому отримані активовані реізолати. На кролях – інфекційний процес мав абортний характер з повним звільненням від збудника.

Ключові слова: референс-культура; *M. avium* ІЕКВМ-УААН; пассажування; біологічна активність; патогенність; культуральні властивості; біологічне дослідження; імунітогенез; резистентність.

Вступ.

Інфекційні патології мікобактеріальної етіології, в тому числі мікобактеріозу нетуберкульозного походження, які викликаються потенційно-патогенними мікобактеріями серед людей, ссавців та птиці, а також гомойотермних тварин дуже поширені, становлять глобальну

загрозу біосферній екології, являють собою мультморбідні і міжвидові емерджентні інфекційні процеси факторного типу на еволюційно адаптованих біосистемах і класичного – на потенційних хазяїнах. В останньому випадку епідемічний потенціал інфекції зведений до мінімуму, але це не позбавляє від еволюційної

загрози неконтрольованого і безмежного розповсюдження в просторі і часі неінфектопагену [2–5, 7, 12].

Серед патогенних, туберкульозних мікобактерій, які є екстраординарними інфектопатогенами, *M. avium* розповсюджені найбільш широко, тому що володіють двофазним типом існування: патогенними антагоністичними відносинами з чутливими макроорганізмами і сапрофітним способом вегетації в навколишньому середовищі, де вони можуть підтримувати життєздатність роками і десятиліттями, як сапрофітна ферментативноактивна мікрофлора, особливо в благоприємних умовах у складі сфагнової мікробіоти. Завдяки ефективній адаптації до метаболізму організму птахів (диких, синантропних, свійських), *M. avium* здатні до глобальної експансії в мультипотентних екологічних нішах, представлених внутрішнім середовищем не тільки птахів, але також ссавців і людини, при міграції на нетипових хазяїв, які виступають як група ризику з невисоким епідемічним потенціалом інфектопатології і туберкульозоподібним симптомокомплексом [4–8, 10, 12].

Індикація і ідентифікація *M. avium* традиційними методами досить ефективна, але при довготривалому пасажуванні в лабораторних умовах референтних і виробничих штамів невідворотно наступають зміни культуральних властивостей і біологічної активності пасажованих культур відносно їх дикого попередника. Вивчення і прогнозування цих змін має важливе значення. Реєструвати культуральні властивості методологічно нескладно, на це є рутинні рекомендації, а от біологічна активність культур визначається здебільшого за терміном загибелі та секційних змін. Це малоінформативний спосіб. В наших дослідженнях вирішили визначити імунобіологічну перебудову, яку викликає референтна культура в макроорганізмі лабораторних тварин, як показник її біологічної активності [10–13, 4–8].

При мікобактеріозах в основі імуногенезу по відношенню до збудника інфекції провідна роль належить клітино-опосередкованим реакціям імунної відповіді, лімфоїдно-макрофагального походження. Для реєстрації їх функціональної активності і імунобіологічної перебудови макроорганізму, індукованої біологічними властивостями збудника, використовують клітинні реакції імуногенезу – РБТЛ і РЗМЛ (реакція бласттрансформації лімфоцитів і реакція затримки міграції лімфоцитів) [1, 3, 9, 12].

Одним з ефективних і інформативних механізмів імунобіологічної резистентності макроорганізму є функціонування натуральних

кілерів (НК, НК), спеціалізованих клонів лімфоїдних клітин, здатних знищувати інфіковані або інвазовані клітинні системи, деякі пухлинні, лейкозотрансформовані клітини, які відхиляються від норми свого диференціювання. НК їх розпізнають і знищують шляхом виділення перфору і гранзимів, роблять в поверхні мембран клітин-мішені пори, і вони гинуть від осмотичного шоку. НК визначають за звичайних цитогематологічних досліджень, вони більші за звичайні лімфоцити – великі гранулярні лімфоцити (ВГЛ), у них великий обідок цитоплазми, де знаходять 3–7 азурофільних гранул. Від загальної кількості лімфоцитів НК складають 10–15%. Вони не залежать від Т- і В-лімфоцитів, більш схожі на Т-токсичні лімфоцити і мають маркерний фенотип: CD4, CD8, CD3, НКР, Ig [1, 3, 11, 13].

Мета роботи – визначення культуральних властивостей *M. avium* ІЕКВМ-УААН при довготривалому пасажуванні на селективних поживних середовищах і реєстрація імунобіологічних змін, які індукує збудник в організмі чутливих об'єктів, як відображення стану біологічної активності культури.

Матеріал та методи дослідження.

Лабораторні дослідження культуральних властивостей і біологічної активності референтної культури *M. avium* ІЕКВМ-УААН проводили в баклабораторії кафедри епізоотології та інфекційних хвороб тварин Дніпровського ДАЕУ та лабораторії вивчення туберкульозу ННЦ “ІЕКВМ”.

Культивування *M. avium* ІЕКВМ-УААН здійснювали згідно загальноприйнятих методів на середовищі Левенштейна-Йенсена при 37°C упродовж місяця, потім після бактеріоскопічного контролю на бактеріальну чистоту і морфологічну типовість в мазках пофарбованих за Ціль-Нільсеном, культуру використовували для дослідів і впродовж 4 місяців зберігали при 4–6°C в холодильнику.

Для вивчення біологічних властивостей дослідну культуру вирощували на середовищі Павловського упродовж 30 діб. Бакпетлею переносили у попередньо зважені на аналітичних терезах стерильні флакони ємністю 200,0 см³ із бусами та визначали вагу внесеної у флакони бактеріальної маси, додавали стерильний фізрозчин до концентрації 1 мг/см³ і шоттерували 30 хв, до утворення однорідної зависі мікобактерій.

Біологічне дослідження проводили на 6-ти тримісячних курчатах білої яйценоскої породи та 4-х кролях живою масою до 2,0 кг. В якості контролю використовували інтактних тварин-аналогів, 3-х курчат і 2-х кролів. Усіх тварин перед біопробою дослідили внутрішньошкірним

алергічним методом ППД-туберкуліном для птиць, виробництва Сумської біофабрики згідно настанови. Тварини не реагували на введення алергену.

Дослідних тварин інфікували внутрішньовенним введенням суспензії *M. avium* ІЕКВМ-УААН, курчат – в підкрилову вену, кролів – в крайову вену вуха. Заражуюча доза – 1 мг/см³ зависі збудника на тварину. Контрольними тваринам так само ввели 1 см³ стерильного фізрозчину. Спостерігали за дослідними і контрольними тваринами 3 місяці.

Інфікованих тварин досліджували на туберкульоз серологічним методом із застосуванням крово-крапельної реакції аглютинації з антигеном *M. avium* та алергічним методом із застосуванням ППД-туберкуліну для птиць.

Імунобіологічне дослідження стану неспецифічної резистентності макроорганізму і біологічної активності *M. avium* ІЕКВМ-УААН, як екстраординарного патогену, за його патогенною дією на імуногенез інфікованих тварин проводили вивчаючи клітинні реакції імуногенезу – РБТЛ і РЗМЛ і функціонування НК.

Імунобіологічна сутність РБТЛ полягає в тому, що лімфоцити превентивно сенсibilізовані специфічним антигеном (ППД-туберкуліном для птиць) *in vitro*, трансформуються у бласти. Для цього використовували біопрепарат, вироблений на Сумській біофабриці. Інтерпретація: якщо в стимульованій культурі лімфоцити присутні в більш великих кількостях, ніж в у культурі без антигену, це вказує на наявність прояву клітинного імунітету проти мікобактеріального збудника [1, 9].

В основу РЗМЛ покладено біологічне явище пригнічення міграції лейкоцитів периферичної крові у сенсibilізованих тварин в присутності специфічного антигену – ППД-туберкуліну для птиці, що вказує на несприятливість макроорганізму до збудника [1, 9].

Для визначення функціональної активності НК використовували цитотоксичний тест відносно стандартних клітин-мішеней 562, а гематологічне дослідження клітин крові робили в мазках крові, забарвлених за Паппенгеймером в модифікації Крюкова [9, 11].

Лабораторних тварин, які загинули протягом експерименту досліджували патологоанатомічним і патогістологічним методами, а відібраний матеріал (печінка, селезінка) досліджували культуральним методом, за загальноприйнятими методиками.

Передпосівну обробку проб біоматеріалу здійснювали за методом Алікаєвої з використанням 5–10% сірчаної кислоти. Після

цього кожен пробу окремо висівали на середовище Левенштейна-Йенсена. Облік росту проводили кожні 5–7 діб. Мазки фарбували за методом Ціля-Нільсена.

Результати досліджень.

Референтна культура *M. avium* ІЕКВМ-УААН була ізолювана загальноприйнятими методами у 1999 році від хворої на туберкульоз курки і відтоді підтримувалась пересівами на середовищі Левенштейна-Йенсена 4 рази на рік, що в цілому склало більше 50 пересівів. За потреби, нерегулярно, раз на рік або рідше проводили біопробу на курчатах і в наступному використовували реізолювану культуру. В процесі культуральної підтримки штама провели направлену селекцію і відібрали клони з найбільшою протеїногенною активністю, які стали використовувати у біовиробництві ППД-туберкуліну для птиць, а штам був депонований у ДНКІБШМ як виробничий і референтно-культура.

Культуру вирощували на середовищі Левенштейна-Йенсена при 37°C в стаціонарних умовах рутинними методами.

Встановили, що культура *M. avium* штама ІЕКВМ-УААН володіє типовими для виду культуральними і біохімічними властивостями. Первинний ріст культур з'явився в період від 18 до 22 доби у вигляді окремих колоній світло-сірого кольору в S-формі. В мазках за Ціль-Нільсеном спостерігали кислотостійкі тонкі дрібні палички з закругленими кінцями, які розташовані в мазку скупченнями і поодинокі, деякі мали зернисту цитоплазму. Культури росли при 37 і 45°C, не росли при 25°C і з 5% NaCl. Мікобактерії давали негативну каталазну і уреазну реакції, не гідролізували Твін-80, володіли позитивною нікотинамідазною, пірамідазною активністю і давали позитивну реакцію з телуритом калію, не росли при додаванні до середовища 0,1% сінтайода.

При подальших пересівах первинний ріст з'являвся раніше, на 16–14 і навіть 12-добу. При цьому культура давала значніший приріст бакмаси. Морфо-тинкторіальні відмінності в різних генераціях культури *M. avium* ІЕКВМ-УААН не виявлено.

Для вивчення біологічної активності референтної культури провели зараження курчат і кролів суспензією збудника. За дослідними тваринами спостерігали 3 місяці і вивчали імунобіологічну відповідь макроорганізму на експансію у внутрішнє середовище емерджентного збудника.

При клінічному спостереженні за зараженими тваринами встановили декілька підйомів температури тіла, які супроводжувались погіршенням загального стану організму. Перше

підвищення температури тіла відбувалось на 5-й день після інфікування. При цьому з'явилися і перші клінічні ознаки захворювання – курчата стали мляві, малорухомі, неактивно приймали корм, реакція на зовнішні подразники знижена. З'явилась анемія гребнів та сережок і слизових оболонок. Через добу температура нормалізувалась і також покращився стан здоров'я. Було ще 4 короточасні епізоди підйому температури тіла з наступною ремісією. Симптомокомплекс експериментального туберкульозу у курчат був слабо виражений і не мав специфічних ознак, протікав у вигляді мікробної латенції з перманентною хронічною інтоксикацією сталої дії і субклінічного прояву, носив характер загального адаптивно-компенсаторного комплексу з порушенням імунного стану, індукованого інфекціогенезом пташиних мікобактерій, супроводжувався ентеральним синдромом і патолофізіологічними розладами, схудненням, періодами депресії та незадовільного споживання кормів. Характерною ознакою інфекційного мікобактеріального процесу було хвилеподібне повторення рецидивів з ремісіями. При патологоанатомічному дослідженні макроскопічних патогномонічних змін не виявлено, печінка та селезінка збільшені у 1,5–2 рази з невеликими ділянками дегенеративно-некротичного переродження тканин сірувато-білого кольору. Габітус курчат задовільний, виснаження та схуднення незначне або виражено слабо, загибелі від зараження не відбулось. Алергічна реакція макроорганізму на пташиний туберкулін була нормергічною.

У заражених кролів інфекційний процес розвивався по абортівному типу. Тобто, сапрофітизована культура емерджентного збудника була елімінована клітинними факторами лімфоїдно-макрофагальної системи макроорганізму і специфічного патологічного процесу з відповідною симптоматикою септичного туберкульозу не було. Кролики легко перенесли інфікування, клінічних проявів зараження не було, на туберкулін реакція виражена дуже слабо і не чітко, результат сумнівний. Патоморфологічним, патогістологічним і культуральним методами туберкульоз у заражених кролів не підтверджено.

Стан імунобіологічної реактивності макроорганізму при мікобактеріальному інфекційному патогенезі визначали через три місяці після зараження в порівняльному аспекті з інтактними тваринами. Встановлено, що у інфікованих курчат відмічалось активне бластоутворення – $17,2 \pm 0,4\%$, у той час у інтактних курчата – $1,9 \pm 0,2\%$.

Індекс міграції лімфоцитів з мікобактеріальним антигеном у інфікованих

курчат склав $0,72 \pm 0,2$; в той час у інтактних курчат – $1,21 \pm 0,2$.

При вивченні функціональної активності НК в крові заражених курчат встановили, що їх кількість не перебільшувала 4% від числа лімфоцитів (30–40%) і вони були не більші за великі лімфоцити, мали невеликий обідок цитоплазми і 2–3 дрібних ацидофільних гранули. Цитотоксичність цих НК була слабкою, з пухлинних клітин тесту, що контактували з ними, лізувалось не більше 12%. Звертає на себе увагу ще одна особливість цитогематологічного статусу – кількість моноцитів периферичної крові досягала 7–9%, в той час як цей показник у інтактних тварин не виходив за межі 3–4%. Також у чистих тварин лізисна активність НК була досить високою, лізису піддавалося до 78% пухлинних клітин у тесті на цитотоксичність.

У ККРА з сироватками інфікованих курчат через 1, 2 і 3 місяці після зараження отримували позитивні результати, в контролі – негативний.

Усіх тварин після закінчення терміну дослідів забили і внутрішні органи дослідили на наявність мікобактеріальної інфекції бактеріологічним методом за Алікаєвою. У результаті реізолювали дві культури збудника пташиного туберкульозу від курчат.

При патогістологічному дослідженні туберкулоподібних уражень в печінці та лімфоїдних органах заражених курчат, виявили епітеліоїдні гранульоми в яких знаходили гігантські клітини Лангерганса. Деякі гранульоми мали некротичні фокуси. Відмічали наявність великих інкапсульованих гранулом, які були імпрегновані клітинними елементами фіброзного походження і частково гіалінізовані. В мазках відбитках, пофарбованих за Ціль-Нільсеном, відмічали присутність кислотостійких тонких невеликих паличок, частина з яких знаходились в стадії деградації.

Висновки.

1. Культуральні властивості *M. avium* ІЕКВМ-УААН при пересівах кардинально не змінюються відносно дикого попередника, але при цьому посилюються процеси сапрофітизації, вірулентність знижується і зменшується потенціал приживлення у внутрішньому середовищі макроорганізму, а транзиторні здібності збудника посилюються.

2. Патогенність, як генетично детермінована видова ознака реалізується на міжвидовому рівні, але вірулентність, як кількісна міра вираженості патогенності, виявляється при взаємодії макроорганізму і культури збудника, і результат антагоністичних відносин залежить від здатності

макроорганізму протидіяти мікробіальній агресії, тобто стану імунобіологічної резистентності.

3. Сапрофітизація довготривало пасажованої референтної культури *M. avium* ІЕКВМ-УААН супроводжується кількісним перерозподілом патогенних і апатогенних клонів у бакмасі, отриманої при культивуванні на елективному поживному середовищі за температури 37°C, що виступає, як маркер та індуктор перебудови метаболізму мікробних клітин з паразитарного типу існування на сапрофітний спосіб вегетації.

Перспективи подальших досліджень.

Вивчення біологічних властивостей референтної культури *M. avium* ІЕКВМ-УААН має певне практичне і теоретичне значення, тому що цей штам використовується в біопромисловості для виготовлення пташиного туберкуліну, що є стратегічно важливим для птахівництва країни. Відомо, що мікобактерії, як і всі прокариоти здатні до фенотипових змін і генетичних мутацій під дією мультифакторного впливу навколишнього середовища. При довготривалому пасажуванні на елективному поживному середовищі можливі непередбачувані перверзії біологічних властивостей і варіативність протеїногенної активності. Моніторинг кардинальних біологічних характеристик і скринінг фізіологічних потенцій пасажованих культур в довготривалому проміжку часу є важливим завданням лабораторного ведення музейної культури збудника.

Література

1. Галактионов В.Г. Иммунология / В.Г. Галактионов // М.: Академия, 2004. – 528 с.
2. Джупина С.И. Принципиальные различия контроля эпизоотических процессов факторных и классических инфекционных болезней животных / С.И. Джупина // Вет. консультант – М., 2005. - № 2. – С. 71–75.
3. Завгородній А.І. Наукове забезпечення протитуберкульозних заходів в Україні / А.І. Завгородній // Вет. медицина України. – 2013. № 10. – С. 15–16.
4. Литвин В.И. Нетуберкулезные микобактерии / В.И. Литвин, М.В. Макарова, М.А. Краснова – М.: МНПЦБТ, 2008. – 256 с.
5. Макарова М.В. Выделение и идентификация нетуберкулезных микобактерий у пациентов фтизиатрических учреждений: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. – 2010. – 48 с.
6. Нетребко І.Д. Мікобактерії туберкульозу – найчастіший збудник паразитоценозів людини / Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини. Зб. наукових праць. – Вип. 15 (40), ч.2, Т.2. Ветеринарні науки. – Х., 2007. – С. 44–47.
7. Оттен Т.Ф. Микобактериозы / Т.Ф. Оттен, А.В. Васильева – СПб.: Мед. пресса, 2005. – 232 с.
8. Павлова И.Б. Существование *Mycobacterium avium* в окружающей среде / И.Б. Павлова, Д.А. Банникова // Ветеринарная патология. – 2004. - №4. – С. 20–24.
9. Шахов А.Г. Методические рекомендации по оценке и коррекции неспецифической резистентности животных / А.Г. Шахов, Ю.Н. Бригадиров, А.И. Ануфриев и др. // Воронеж, 2005. – 62 с.
10. Bief F. Zoonotic aspects of *Mycobacterium bovis* and *Mycobacterium avium*-intracellular complex (MAC) / F. Bief, M.L. Boschioli, M.F. Thorel et al. // Vet. Res. – 2005. – Vol. 36. – P. 411–436.
11. Dohnal V. About organization of NK / V. Dohnal, A. Jezkova // Curr. Drug. Metab. – 2008. - №1. – P. 77–82.
12. Fulton R.M. Tuberculosis / R.M. Fulton, C.O. Thoen / Diseases of Poultry // 2003. – P. 836–844.
13. Kelly S. Mediates of Perforin-dependen CM Death / S. Kelly, N.S. Waterhouse, E. Gretny et al. // S. Bid. Chem. – 2004. – Vol. 279. – P. 22236–22242.

References

- Galaktionov V.G. (2004). Immunologija. *Akademija*, 528. [in Russian].
- Dzhupina S.I. (2005). Principial'nye razlichija kontrolja jepizooticheskikh processov faktornyh i klassicheskikh infekcionnyh boleznej zhivotnyh. *Vet. konsul'tant*. 2, 71–75. [in Russian].
- Zavorodnii A.I. (2013). Naukove zabezpechennia protytuberkuloznykh zakhodiv v Ukraini. *Vet. medytsyna Ukrainy*. 10, 15–16. [in Ukrainian].
- Litvin V.I., Makarova M.V. & Krasnova M.A. (2008) Netuberkuleznye mikobakterii. *MNPCBT*. 256. [in Russian].
- Makarova M.V. (2010). Vydelenie i identifikacija netuberkuleznyh mikobakterij u pacientov ftiziatricheskikh uchrezhdenij: *Extended abstract of Doktor's thesis*. 48. [in Russian].
- Netrebko I.D. (2007). Mikobakterii tuberkulozu – naichastishyi zbudnyk parazytotsenoziv liudyny *Problemy zoonzhenerii ta veterynarnoi medytsyny*. 15(40), 2(2). *Veterynarni nauky*. Kharkiv, 44–47. [in Ukrainian].
- Otten T.F. & Vasil'eva A.V. (2005) Mikobakteriozy. *Med. Pressa*, 232. [in Russian].
- Pavlova I.B. & Bannikova D.A. (2004). Sushhestvovanie *Mycobacterium avium* v okruzhajushhej srede. *Veterinarnaja patologija*, 20–24. [in Russian].
- Shahov A.G., Brigadirov Ju.N., Anufriev A.I. et al. (2005). Metodicheskie rekomendacii po ocenke i korrekcii nespecificheskoj rezistentnosti zhivotnyh. *Voronezh*, 62. [in Russian].
- Bief F., Boschioli M.L., Thorel M.F. et al. (2005). Zoonotic aspects of *Mycobacterium bovis* and *Mycobacterium avium*-intracellular complex (MAC). *Vet. Res.* 36, 411–436.
- Dohnal V., Jezkova A. (2008). About organization of NK. 1, 77–82.
- Fulton R.M., Thoen C.O. (2003). Tuberculosis. *Diseases of Poultry*. 836–844.
- Kelly S., Waterhouse N.S., Gretny E. et al. (2004). Mediates of Perforin-dependen CM Death. *S. Bid. Chem.* 279, 22236–22242.