



## Проблема діагностики туберкульозу сільськогосподарських тварин у сучасних умовах

**Г.М. ДЯЧЕНКО**, кандидат ветеринарних наук  
Інститут сільськогосподарської мікробіології УААН, м. Київ

Аналіз даних з проблеми діагностики туберкульозу сільськогосподарських тварин показує, що класичні методи діагностики довготривалі й мають низьку ефективність (від 0,8 до 54,2%).

За даними ряду авторів, метод ПЛР виявив недостатню чутливість порівняно з культуральним методом за умови

використання двох або трьох живильних середовищ для посіву досліджуваного матеріалу.

Досі не знайдено оптимальної маркерної послідовності у геномі збудника туберкульозу, яка б забезпечувала максимальну специфічність і чутливість ПЛР. ■

**В.М. ШЕВЧУК**, аспірант  
Національний аграрний університет,  
м. Київ

У неблагополучних щодо туберкульозу стадах великої рогатої худоби специфічні імунологічні та характерні патолого-анатомічні зміни розвиваються у телят з 10-денного віку. Такі телята до їх виявлення за інструктивними положеннями є джерелом збудника інфекції. ■

УДК 619:616.93:579.673.21:636

## КОНТАМІНАЦІЯ ТВАРИННИЦЬКИХ ОБ'ЄКТІВ СТЕПОВОЇ ЗОНИ УКРАЇНИ ЗБУДНИКОМ ТУБЕРКУЛЬОЗУ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ

**Геннадій ХІЛЬЧЕНКО**, аспірант  
**Олексій ТКАЧЕНКО**, доктор ветеринарних наук  
Дніпропетровський державний аграрний університет  
**Леонід КОРОЛЕНКО**, кандидат ветеринарних наук  
Управління ветеринарної медицини в Дніпропетровській області

Епізотології туберкульозу великої рогатої худоби суттєве значення мають випадки повторного виникнення хвороби. Це може бути обумовлено різноманітними факторами, в т. ч. й недостатньою ефективністю заключних оздоровчих заходів. Хімічні дезінфектанти, що застосовуються в практичних умовах, володіють недостатньою бактерицидною активністю щодо патогенних мікобактерій. А території пасовищ, літніх таборів та вигульних майданчиків знезаражуються практично лише шляхом інсоляції [4].

І хоча в літературі є досить даних щодо термінів виживаності патогенних мікобактерій у навколишньому середовищі, проте всі вони мають значні розбіжності. Так, за одними публікаціями [7] період життєздатності збудника туберкульозу бичачого виду в ґрунті становить 4 дні, а за іншими [5] — 2 роки. Щодо збереження ним вірулентних властивостей також не існує єдиної думки. Деякі вчені [2] вважають, що патогенність збудника зберігається протягом усього періоду його перебування в сприятливих умовах, у той же час існують повідомлення [3] про те, що патогенні мікобактерії втра-

чають вірулентність у 2–3 рази швидше, ніж життєздатність. Це якоюсь мірою може пояснюватися різноманітністю кліматичних, агрохімічних та ряду інших умов, на фоні яких проводилися дослідження.

**МЕТА РОБОТИ** — вивчити контамінацію патогенними мікобактеріями тва-

ринницьких об'єктів оздоровлених і неблагополучних щодо туберкульозу великої рогатої худоби господарств степової зони.

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Лабораторні дослідження проводили в навчально-дослідній лабораторії кафедри



епізоотології Дніпропетровського агроуніверситету. Для дослідження було відібрано 88 проб із тваринницьких приміщень та територій ферм наступних господарств:

№1 — неблагополучне щодо туберкульозу великої рогатої худоби — приміщення тваринницької ферми вивільнялися від інфікованого поголів'я протягом 5 років, останніх тварин вивезено за 3 міс. до відбору проб, на вивільненій фермі проведено заключну дезінфекцію, досліджено 51 пробу;

№2 — неблагополучне щодо туберкульозу — проби відбиралися в присутності скомпрометованої щодо інфекції худоби, дезінфекція проводилася після кожного виділення реакуючих на туберкулін тварин — 11 проб;

№3 — оздоровлене від туберкульозу за рік до відбору матеріалу, дезінфекція не проводилася — 26 проб.

У день відбору проби обробляли послідовно 4%-м розчином їдкою натру та 10%-м — сірчаної кислоти для знищення сапрофітної мікрофлори. З осаду готували мазки, які фарбували загальноприйнятим методом за Цілем—Нільсеном і проглядали в світловому біокулярному мікроскопі під масляною імерсією. Після цього проводили висів суспензії на два яєчні живильні середовища з рН 7,1 та 6,5. Середовища були підготовлені й перевірені на стерильність за тиждень до висіву матеріалу. Залишком суспензії після її нейтралізації заражали морських свинок масою 300—350 г. Біопробу проводили згідно із діючими рекомендаціями [6], при цьому об'єднували суспензії з двох проб, відібраних із різних точок одного й того ж вигульного майданчика чи об'єкта тваринницького приміщення, та вводили двом лабораторним тваринам.

Для вивчення залежності між життєздатністю і вірулентністю мікобактерій виконували пасажі через організм

**2. Властивості виділених культур**

Група	Виділено культур мікобактерій	Швидкість росту генерацій, день		Характер колоній	Стійкість до саліцилату натрію	Активність			Термостійкість каталази
		перший	наступні			каталазна	пероксидазна	нітроредуктазна	
1	5	9—23	2—3	S та R	+	+	—	+	+
2	14	14—27	12—21	R	—	—	—	—	—

**Примітка:** «+» — позитивна, «—» — негативна реакція; S — вологий ріст (S-форма), R — сухий ріст (R-форма)

морських свинок виділених культур, які не викликали патолого-анатомічних змін у дослідних тварин, але за культуральними та біохімічними властивостями були віднесені до збудника туберкульозу бичачого виду.

У виділених культур вивчали тинкторіальні, морфологічні, культуральні властивості, швидкість росту культури при пересівах, ріст на середовищі із саліцилатом натрію (Ильина, 1973), пероксидазну, каталазну (Зимин, 1966) та нітроредуктазну (Tsukamura, 1966) активність, термостійкість каталази (Макаревич, 1973).

**РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ**

Під час проведення бактеріоскопічного дослідження передвисівного матеріалу було виявлено поодинокі червоні зернисті палички розміром 1—3×0,2—0,5 мкм та незначні їх скупчення в пробах, відібраних із годівниць тваринницьких приміщень господарства №2. Це вказує на високий ступінь контамінації навколишнього середовища мікобактеріями, оскільки загальновідомо, що збудник туберкульозу виявляється при даному дослідженні тільки за наявності в 1 см<sup>3</sup> патологічного маз-

теріалу 100 000 і більше бактеріальних клітин.

Культуральним методом було виділено 19 штамів мікобактерій (табл. 1). При цьому на стандартному середовищі (рН 7,1) отримано позитивний результат у 9,1% випадків, а на середовищі з рН 6,5 — у 12,5%.

У господарстві №1 мікобактерії були виділені в пробах із годівниць — 3 культури та з кормового проходу — 2. У господарстві №2 9 культур ізольовано з проб годівниць. При дослідженні матеріалу, відібраного з об'єктів оздоровленого господарства, мікобактерії виділили в 3 пробах із гнійного жолоба і 2 — з годівниць. З проб, відібраних у приміщеннях, де утримувалася скомпрометована щодо туберкульозу худоба, виділено найбільшу кількість культур мікобактерій. Це пояснюється тим, що збудник постійно виділяється зі слизом і мокротинням хворої та інфікованої худоби, внаслідок чого підтримується висока концентрація, в першу чергу в годівницях і кормових проходах.

При бактеріоскопічному дослідженні виділених штамів мікобактерій практично в кожному мазку виявили різноманітні за морфологією червоні палички — від кокоподібних до 5—6 мкм завдовжки та 0,3—0,6 мкм завширшки.

Водночас біопробу на морських свинках туберкульоз було встановлено в 6 об'єднаних пробах із годівниць господарства №2, що збігається з результатами культуральних досліджень. Крім того, відмічалася реакція на туберкулін у двох морських свинок, заражених об'єднаною суспензією з гнійного жолоба, та однієї — з годівниць корівника оздоровленого господарства, з яких, до того ж, було виділено і культури мікобактерій. Проте по закінченні досліду при патолого-анатомічному розтині лабораторних тварин змін, характерних для туберкульозної інфекції, не було виявлено. Культуральними дослідженнями патологічного матеріалу від згаданих свинок виділено дві культури мікобактерій, які за тинкторіальними та морфологічними власти-

**1. Контамінація об'єктів навколишнього середовища мікобактеріями**

Місце відбору матеріалу	Досліджено проб на туберкульоз				
	всього	виділено культур мікобактерій на середовищах з рН			
		7,1		6,5	
		n	%	n	%
Грунт вигульних майданчиків	8	—	—	—	—
Тваринницькі приміщення:					
годівниці	18	6	3,33	8	44,4
кормові проходи	10	1	10	1	10
гнійні проходи	8	—	—	—	—
гнійні жолоби	16	1	6,2	2	12,5
стіла	9	—	—	—	—
вікна	4	—	—	—	—
стіни	15	—	—	—	—
<b>Всього</b>	<b>88</b>	<b>8</b>	<b>9,1</b>	<b>11</b>	<b>12,5</b>

востями не відрізнялися від культур, виділені з об'єктів навколишнього середовища даного господарства. Паралельне зараження морських свинок залишком суспензії дало негативний результат. У наступному було проведено ще три аналогічні дослідження, за результатами яких тільки при четвертому пасажуванні було зареєстровано падіж морських свинок на 63-й та 78-й день із характерними для туберкульозної інфекції патолого-анатомічними змінами.

Отже, нами встановлено, що в природних умовах у першу чергу мікобактерії втрачають вірулентну здатність, яка у життєздатних мікроорганізмів за незначної кількості пасажів через сприйнятливий макроорганізм достатньо легко повністю відновлюється.

Провівши диференціацію виділених культур за культуральними, біологічними та біохімічними властивостями, ми розподілили їх на 2 групи: мікобактерії, що формували перші колонії при пересівах на 2–3-й день культивування й не викликали сенсibiliзації морських свинок до туберкуліну — 5 культур; 14 штамів мікобактерій мали різний ступінь патогенності для лабораторних тварин і при культивуванні макроскопічний ріст розпочинався на 12–21-й день дослідження (табл. 2).

Мікобактерії першої групи при культивуванні на живильних середовищах формували як гладкі, випуклі, блискучі, вологі колонії з рівними краями (S-форма), так і горбкуваті, матові, сухі, крихкоподібні (R-форма). При пересівах ці культури мали високу інтенсивність росту і на 10–14-й день культивування численні колонії зливалися, вкриваючи до 2/3 поверхні живильного середовища. Колір колонії колівався від блідо-жовтого до сіро-білого. Культури другої групи набували лише R-форми, сіруватого та кремового кольору. При пасажуванні спостерігався повільний ріст поодиноких колоній.

Проведенням біохімічних і культуральних досліджень удалося віддиференціювати атипові мікобактерії (1 група) від патогенних. А за часом формування колоній на живильних середовищах при пасажуванні їх було віднесено до IV групи за класифікацією Раніона. В той же час негативна нітроредуктазна активність мікобактерій другої групи дозволила виключити наявність серед них *M. tuberculosis*.

Отже, нами було виділено мікобактерії з 19 досліджених проб об'єктів навколишнього середовища, з них 5 атипових (із матеріалу, відібраного в господарстві №1) та 14 — бичачого виду (9 — з матеріалу із господарства №2 і 5 — із господарства №3).

Одержані дані свідчать про наявність збудника туберкульозу на території тваринницької ферми господарства №3, оздоровленого від даної інфекції понад рік. При відсутності або неякісному проведенні дезінфекції це, без сумніву, може викликати спалах туберкульозу тварин. Така ж проблема спостерігається і в господарстві №2, де відмічали найвищий рівень контамінації об'єктів навколишнього середовища *M. bovis*. Постійне виділення та циркуляція серед поголів'я патогенних мікобактерій зводить нанівець результати оздоровлення шляхом виділення із стада реагуючої худоби після чергової туберкулізації. При цьому в іншому неблагополучному господарстві (№1) після проведення якісної заключної дезінфекції патогенні мікобактерії не були виділені із тваринницьких приміщень та прифермської території. Тут було ізольовано лише 5 культур атипових мікобактерій, що ще раз підтверджує дані про їх значно вищу резистентність до різноманітних фізико-хімічних факторів порівняно зі збудником туберкульозу бичачого виду.

Таким чином, проведені дослідження засвідчили, що патогенні мікобактерії досить часто знаходяться на об'єктах навколишнього середовища господарств із різною епізотичною ситуацією, що диктує необхідність проведення подальших, більш поглиблених у методичному аспекті, досліджень в умовах експерименту.

## ВИСНОВКИ

1. Мікобактерії виділено в 21,6% досліджених проб навколишнього середовища тваринницьких об'єктів, з них в 26,3% — атипові та 73,7% — бичачого виду. На середовищі з рН 6,5 при культивуванні виділили на три штами мікобактерій більше, ніж на стандартному (рН 7,1).

2. *M. bovis* у приміщеннях молочно-товарних ферм при незадовільному проведенні санітарно-ветеринарних заходів залишається життєздатним не менше ніж рік. Збудник туберкульозу, який втратив патогенність під впливом сприятливих факторів навколишнього середовища, після четвертого пасажу через сприйнятливий макроорганізм знову набуває вірулентних властивостей.

3. Перед зняттям карантинних обмежень із сільськогосподарських підприємств необхідно провести лабораторне дослідження проб з об'єктів на наявність збудника туберкульозної інфекції.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Ильина Т.Б., Шапо Э.С., Циммер Б.Я. Дифференциация *M. tuberculosis* и *M. bovis* с помощью салицилатного теста и редукции

нитратов // Пробл. туберкулёза. — 1987. — №1. — С.57–60.

2. Козлов В.С. Биологические свойства микобактерий разных видов, выделенных из почвы // Пробл. туберкулёза. — 1982. — №3. — С. 65–68.

3. Кольчев Н.М. Экологические особенности микобактерий туберкулёза // Сб. науч. тр. «Совершенствование систем и методов в борьбе с бруцеллёзом и туберкулёзом животных». — Новосибирск, 1987. — С.113–122.

4. Кольчев Н.М., Сухотина В.П. Диагностика, патогенез и лечение инфекционных и инвазионных заболеваний с.-х. животных. — Омск, 1984. — С.39–47.

5. Овсянов Н.И., Овладеева М.А., Наумова К.Н. и др. Выживаемость микобактерий туберкулёза бычьего вида в почве в естественных условиях // Сб. науч. тр. «Совершенствование систем и методов в борьбе с бруцеллёзом и туберкулёзом животных». — Новосибирск, 1987. — С. 86–92.

6. Савченко П.Е. Лабораторная диагностика туберкулёза животных: Практич. пособие. — Чернигов, 1998. — 64 с.

7. Jackson R., De disie G. W., Morris R. S. A study of the environmental survival of *Mycobacterium bovis* on a farm in New Zealand // N. Z. veter. j. — 1995. — V. 43, №7. — P. 346–352.

## РЕЗЮМЕ

Контаминация животноводческих объектов степной зоны Украины возбудителем туберкулёза крупного рогатого скота. Г.И. Хильченко, А.А. Ткаченко, Л.С. Короленко.

Обнаружено, что патогенные микобактерии бычьего вида при несоблюдении соответствующих ветеринарно-санитарных требований выживают в условиях животноводческих помещений не менее одного года. При этом их вирулентность значительно снижается, но сенсibiliзирующие свойства возбудителя проявляются в полной мере. Четырехкратное пассажирование данных микобактерий через восприимчивый макроорганізм восстанавливает их патогенность.

Contamination of cattle breeding object of Ukrainian steppe area by cattle tuberculosis activator. G.I. Hilchenko, O.A. Tkachenko, L.S. Korolenko.

It is discovered that the pathogenic mycobacteria of bovine type survive in conditions of cattle — breeding housings without observing the corresponding veterinary and sanitary requirements not less than a year. Thus, the virulence is considerable reduced, but sensitizing activator behavior is indicated in full measure. Four — multiple passaging of the given mycobacteria through susceptible macroorganism rebuilds their pathogenic activity. ■