619:616.98:579.873.21Т

В Україні та за кордоном відмічається виразна тенденція до зростання захворюваності не лише тварин різних видів, а й населення. Досить часто хвороба закінчується летально. Особливість поширення лептоспірозу серед людей в останні роки — підвищена захворюваність міських жителів порівняно із сільськими.

ВИСНОВОК

Лептоспіроз сільськогосподарських тварин має значне і нерівномірне поширення у світі. Полігамна етіологічна структура інфекції та адаптаційна мінливість лептоспір ускладнюють діагностику і проведення протиепізоотичних заходів.

ЛІТЕРАТУРА

1. **Бакулов И.А., Таршис М.Г.** География болезней животных зарубежных стран. — М.: Колос, 1971. — 200 с.
2. **Барышников П.И., Резниченко З.М., Апалькин В.А. и др.** Эпизоотический процесс при лептоспирозе сельскохозяйственных животных // Ветеринария. — 2000. — № 7. — С. 7—9.
3. **Бублій О.** Серологічна діагностика і вакцинопрофілактика лептоспірозу великої рогатої худоби в господарстві «Христинівське» // Ветеринарна медицина України. — 2000. — № 7. — С.12—13.
4. **Зон Г.А., Шуршина В.М.** Моніторинг спектра серологічного відгуку на лептоспірозні антигени у сільськогосподарських тварин // Проблеми зооінженерії та вет. мед. Збірник наук. праць (Вет. науки) ХЗВІ. — Х.: РВВ ХЗВІ, 2001. — Вип. 7(31). — С.183—185.
5. **Зон Г., Часник М., Татарінцева О. та ін.** Щодо епізоотичної ситуації та етіологічних факторів лептоспірозу на Сумщині // Ветеринарна медицина України. — 2001. — № 1. — С. 21—22.
6. **Малахов Ю.А.** Лептоспироз животных. — М.: Агропромиздат, 1992. — 239 с.
7. **Малахов Ю.А., Соболева Г.А. и др.** Эпизоотологическая ситуация по лептоспирозу в России // Ветеринария. — 2000. — № 7. — С.6—8.
8. **Соболева Г.Л., Панин А.Н., Малахов Ю.А.** Распространенность и этиологическая структура лептоспироза животных в России // Ветеринария. — 2000. — № 12. — С.11—14.
9. **Темирова Ж.Н.** Лептоспироз сельскохозяйственных животных в Киргизской республике // Ветеринария. — 2000. — № 7. — С. 8—10.
10. **Чирний В.И., Хайтович А.Б., Евстратов Ю.В.** Мышевидные грызуны — носители лептоспироза серогруппы Icterohaemorrhagiae на Украине // Тезисы докл. респ. конф. «Вет. мед.: эконом., соц. и эколог. проблемы.» — Х., 1990. — С.112—113.
11. http:// **www.oie.int** ■

УДК 619:616.93:579.673.21:636

619:616.98:579.873

ЕФЕКТИВНІСТЬ МЕТОДУ ЗБАГАЧЕННЯ ПЕРЕДПОСІВНОГО МАТЕРІАЛУ ТА ЕПІЗООТОЛОГІЧНА ДОЦІЛЬНІСТЬ ЙОГО ВИКОРИСТАННЯ ПРИ ДІАГНОСТИЦІ ТУБЕРКУЛЬОЗУ

Олексій ТКАЧЕНКО,
доктор ветеринарних наук
Дніпропетровський державний аграрний університет

Достеменне визначення епізоотичної ситуації з туберкульозу тварин і зокрема встановлення етіології алергічних реакцій можливе тільки при лабораторному дослідженні біологічного матеріалу.

Методи бактеріологічних досліджень на мікобактеріальні інфекції (туберкульоз і мікобактеріозна інфекція великої рогатої худоби), які нині широко використовуються в мікробіологічній практиці ветеринарної медицини, передбачають спочатку подрібнення лише частини біологічного матеріалу (лімфатичні вузли) [2, 3], а в наступному використання тільки його частини (10—15%). Всередині шматочків, що обробляються, і в частинах тканин, які не використовуються, може локалізуватися збудник інфекції, котрий у подальшому не потрапляє в матеріал для культуральних та біологічних досліджень. Це значно знижує їх діагностичну цінність.

Відомий також радіометричний спосіб [4] дослідження біологічного матеріалу, результати якого безпосередньо свідчать про недосконалість існуючих методів. Частота підтвердження етіології алергічних реакцій, зокрема туберкульозу, в цьому випадку збільшується на 24,4% порівняно із традиційними способами. Проте недоліком є висока вартість, що стримує його впровадження в практику ветеринарної медицини. Отже, пошуки більш ефективного і досить простого методу обробки біологічного матеріалу для дослідження на мікобактеріальні інфекції є актуальною проблемою.

Найбільш вірогідним і перспективним шляхом розробки такого методу було вдосконалення існуючих через максимальне звільнення збудника від максимальної кількості біологічної тканини. Це можливо було здійснити тільки розчиненням (лізуванням, ферментуванням) біологічної тканини й її збагаченням седиментацією вірогідно локалізованого в ній збудника.

У результаті проведених досліджень нами у співпраці з доктором ветеринарних наук В.О.Бусолом, кандидатом ветеринарних наук В.А.Матузенком та ін. розроблено методику способу, яку описано у відповідній настанові [1, 2].

МЕТА ДОСЛІДЖЕНЬ — визначення ефективності розробленого способу передпосівної обробки біологічного матеріалу.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

У роботі використано музейний епізоотичний штам M.bovis та біологічний матеріал (лімфатичні вузли) від реагуючої на туберкулін великої рогатої худоби з благополучних і неблагополучних щодо туберкульозу господарств.

Визначення епізоотологічної ефективності розробленої методики здійснювали різноваріантними експериментальними та виробничими дослідженнями із застосуванням традиційних у ветеринарній медицині прийомів і способів досліджень. Контролем слугував метод передпосівної обробки біологічного матеріалу для бактеріологічних досліджень на туберкульоз А.П.Алікаєвої, який за ефективністю практично дорівнює іншому традиційному способу Гона—Левенштейна—Суміоші [2].

© О.О.ТКАЧЕНКО, 2002

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Дослідження впливу ферментації концентрації штучного шлункового соку, який в оптимальний термін лізує лімфатичну тканину, на культуральні властивості мікобактерій провели з використанням суспензії M.bovis у концентрації 1 млн бактерійних клітин в 1 мл фізіологічного розчину в таких варіантах:

1. Після тригодинної обробки культури мікобактерій методом ферментації підготовлений матеріал висівали в кількості 0,1 мл на середовище Левенштейна—Йєнсена (10 пробірок) і заражали підшкірно двох морських свинок.

2. Також після тригодинної обробки культури, але з лімфатичною тканиною від здорової великої рогатої худоби підготовлений матеріал висівали в кількості 0,1 мл на вищезгадане живильне середовище та інокулювали морським свинкам.

3. Суспензію музейного штаму збудника, виготовлену на фізіологічному розчині без попередньої обробки, висівали на живильне середовище та вводили дослідним тваринам.

Облік початку росту колоній мікобактерій проводили через 2—3 доби протягом перших 10 днів та через 5 діб у наступні 80 днів. Ріст колоній мікобактерій спостерігався водночас в усіх пробірках із практично однаковою інтенсивністю — на 16-й день у кожному із варіантів. Усі заражені морські свинки загинули від генералізованого туберкульозу: в першому варіанті на 72—90-й день, у другому — на 31—47-й, в третьому — на 35-й день. Наведені дані свідчать про можливий вплив шлункового соку на культуральні властивості збудника.

Для вивчення впливу методу на частоту висіву мікобактерій з лімфатичних вузлів від реагуючої на ППД-туберкулін для ссавців великої рогатої худоби господарств з різною епізоотичною ситуацією щодо туберкульозу і на результати біологічної проби порівняно з методом А.П.Алікаєвої дослідили водночас 40 проб.

Встановлено (табл. 1), що при обробці методом збагачення (ферментації) біологічного матеріалу з патолого-анатомічними змінами, відібраного на секції від трьох тварин неблагополучного гурту, в усіх випадках були одержані культури мікобактерій туберкульозу і позитивні результати біологічної проби.

При обробці матеріалу за методом А.П.Алікаєвої відповідні дані культуральних і біологічних досліджень отримано у двох пробах із трьох. При дослідженні біологічного матеріалу без макроскопічних уражень від 26 тварин, що реагували на туберкулін, з неблагополучних щодо туберкульозу господарств позитивний результат при культуральних дослідженнях одержано в п'яти (19,2%) пробах, а при біологічних — у 16 (61,5%), які оброблялися методом ферментації. За способом А.П.Алікаєвої подібні результати одержано відповідно в трьох (11,5%) і п'яти (19,2%) пробах. Одночасне дослідження обома способами частин лімфатичних вузлів, відібраних від реагуючих на алерген тварин благополучних господарств, дало негативний результат.

Ріст колоній мікобактерій на живильному середовищі з обробленого двома способами біологічного матеріалу, де локалізувалися туберкульозні ураження, спостерігався водночас на 30-ту добу. При дослідженні біологічного матеріалу без туберкульозних уражень також не відмічено вірогідної (P>0,05) різниці в строках початку росту колоній мікобактерій туберкульозу. Ці дані свідчать про відсутність впливу штучного шлункового соку на біологічні властивості мікобактерій туберкульозу.

Аналіз досліджень кожної проби за способом А.П.Алікаєвої не виявив вірогідної різниці (P>0,05) між результатами культуральних і біологічних досліджень. Так, із семи проб, в яких одержано позитивні результати на туберкульоз за біологічними дослідженнями, ріст колоній на живильному середовищі був відсутній лише у двох. У той же час при дослідженні розробленим способом такий ріст був відсутній в 11 пробах, що в 5,6 раза більше, ніж за традиційним (P<0,01). Таким чином, підвищення результативності розробленого способу відбувається в основному внаслідок проведення біологічних досліджень.

У табл. 2 наведено результати біологічних досліджень згаданих проб. Із неї видно, що при зараженні морських свинок біологічним матеріалом, який підготовлено за традиційним способом, протягом трьох місяців спостереження, починаючи з 50-го дня після зараження, загинуло від туберкульозу сім (8,7%) дослідних тварин, а при зараженні матеріалом, підготовленим за розробленим способом, починаючи з 30-го дня — 15 (18,7%), що в два рази

1. Результати досліджень матеріалу розробленим та контрольним методами

Характеристика досліджуваного біологічного матеріалу	Досліджено проб	Позитивні							
		культуральні				біологічні			
		Ф	%	А	%	Ф	%	А	%
З неблагополучних господарств: всього,	29	8	27,6	5	17,2	19	65,5	7	24,1
у т.ч. з патзмінами	3	3	100	2	66,7	3	100	2	66,7
без змін	26	5	19,2	3	11,5	16	61,5	5	19,2
З благополучних господарств	11	—	—	—	—	—	—	—	—
Всього	**40**	**8**	**20,0**	**5**	**12,5**	**19**	**47,5**	**7**	**17,7**

Примітка. Тут і далі: Ф — метод ферментації; А — метод А.П.Алікаєвої

2. Порівняльні дані строків падежу і патолого–анатомічного розтину загиблих і забитих морських свинок

Досліджений матеріал	Досліджено проб	Кількість заражених тварин	Загинуло протягом 3-х міс. з туберкульозними ураженнями														Забито по закінченні 3-х міс.			
			всього		у т.ч. на день												всього		встановлено зміни	
					30—40		41—50		51—60		61—70		71—80		81—90					
			Ф	А	Ф	А	Ф	А	Ф	А	Ф	А	Ф	А	Ф	А	Ф	А	Ф	А
З неблагополучних господарств: всього,	29	116	15	7	2	—	—	2	2	—	9	4	—	1	2	—	43	51	19	5
у т.ч. із змінами	3	12	4	2	1	—	—	2	2	—	1	—	—	—	—	—	2	4	2	2
без змін	26	104	11	5	1	—	—	—	—	—	8	4	—	1	2	—	41	47	17	3
З благополучних господарств	11	44	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	22	22	—	—
Всього	**40**	**160**	**15**	**7**	**2**	**—**	**—**	**2**	**2**	**—**	**9**	**4**	**—**	**1**	**2**	**—**	**65**	**73**	**19**	**5**

більше, ніж у першому випадку. Ці дані отримано при дослідженні біологічного, без макроскопічних змін, матеріалу тварин з неблагополучних господарств. У цих дослідах кількість захворілих тварин, заражених матеріалом, який підготовлено за розробленим способом, виявилася у 3,5 раза більшою, ніж у контролі.

У всіх випадках спостерігався збіг результатів бактеріологічних досліджень за методом А.П.Алікаєвої з результатами, одержаними методом ферментації.

З метою вивчення можливого впливу шлункового соку на вірулентні властивості збудника проведено дослідження шести культур мікобактерій туберкульозу, ізольованих із трьох проб матеріалу, виділених паралельно: методом А.П.Алікаєвої (три культури) і ферментації (три культури). Для цього заражено морських свинок 1 мг суспензії мікобактерій туберкульозу із кожної з виділених культур.

Результати показали, що всі тварини, заражені культурами, виділеними методом ферментації й А.П. Алікаєвої, загинули протягом трьох місяців. При цьому загибель дослідних свинок, заражених культурами, виділеними методом А.П.Алікаєвої, відбувалась протягом 56,8±5,7 діб, а ферментації — 60,0 ± 9,4 діб (P>0,05). Це свідчить про відсутність будь-якого впливу штучного шлункового соку на вірулентні властивості мікобактерій туберкульозу. На це вказують і результати попередніх досліджень.

Отже, встановлено, що лізис біологічного матеріалу сприяє звільненню мікобактерій із тканин лімфатичних вузлів, збагаченню ними осаду при седиментації. Саме через це при біологічній пробі туберкульоз встановлюється частіше, ніж при культуральних дослідженнях цим же методом, оскільки для одержання позитивного результату на морських свинках достатньо п'яти мікобактерій туберкульозу, а для росту колоній на живильних середовищах — 20—100 [3]. Більш вірогідна різниця у співвідношенні біологічної проби з культуральними дослідженнями при використанні методу ферментації порівняно з контрольним свідчить про звільнення і наявність згаданої мінімальної кількості збудника в 1 мл досліджуваного матеріалу. Ця кількість збудника сприяє розвитку туберкульозного процесу в морських свинок, у той час як при культуральних дослідженнях отримуємо негативні результати. Цього не спостерігається при дослідженні традиційним методом, де швидше звільняється така кількість мікобактерій, ін'єктованих дослідним тваринам, яка в більшості випадків забезпечує і ріст їх колоній на живильних середовищах.

Як видно з табл. 3, за розробленим способом позитивні результати бактеріологічних досліджень на туберкульоз одержані в 47,5% проб, а за традиційним, який широко використовується у практиці ветеринарної медицини, — в 17,5% проб біологічного матеріалу, що в 2,7 раза менше, ніж за методом, що вивчається.

Експериментальні дані були перевірені на епізоотологічному матеріалі в двох неблагополучних господарствах: в одному паралельно дослідили вищевказаними методами дворазово п'ять, а в другому одноразово 26 проб біологічного матеріалу без макроскопічних змін.

У результаті з п'яти проб позитивні результати методом ферментації одержані при першому відборі в двох (20%), при другому — в одній (10%), а за методом А.П.Алікаєвої —відповідно в одній (10%) та в жодній (0,0%) пробі.

При дослідженні 26 проб туберкульоз виявлено в чотирьох (15,38%) пробах, у т.ч. методом ферментації в чотирьох (15,38%), а А.П. Алікаєвої — в одній (3,8%) пробі, що в чотири рази менше, ніж за попереднім методом. Крім того, за методом ферментації ізольовано одну (3,8 %) культуру (M. fhlei) атипових мікобактерій, віднесену до IV групи за класифікацією Раніона.

На базі двох обласних державних лабораторій ветеринарної медицини (Дніпропетровської й Луганської областей) з дев'яти господарств із різною епізоотичною ситуацією з туберкульозу дослідили біологічний матеріал від 70 тварин без макроскопічних змін. За методом ферментації туберкульоз виявлено в 11,4% проб, у т. ч. культури M.bovis ізольовано в 12,5% проб, а за методом А.П.Алікаєвої одержано негативні результати. Поряд із цим в 21 (30%) і 17 (24,3%) пробах відповідно ізольовано культури атипових мікобактерій IV групи за класифікацією Раніона.

3. Порівняльна ефективність методів досліджень

Методи	Досліджено проб	Узагальнені результати			
		позитивні	%	негативні	%
Ф	40	19	47,5	21	52,5
А		7	17,5	33	82,5

ВИСНОВОК

Запропонований метод підготовки передпосівного біологічного матеріалу і відповідно бактеріологічних досліджень у цілому більш ефективний за традиційний. Його використання в практичних лабораторіях ветеринарної медицини епізоотологічно виправдано, оскільки виділення мікобактерій та своєчасне визначення справжньої природи алергічних реакцій при мікобактеріозній інфекції може вірогідно запобігти їх поширенню в неблагополучних господарствах та необгрунтованому забою високопродуктивних, здорових щодо туберкульозу тварин благополучних ферм.

ЛІТЕРАТУРА

1. **А.с. 1734699 СССР,** А 61 В 10/00, С 12 Q 1/02. Способ обогащения биологического материала при бактериологическом исследовании на туберкулёз / В.А.Матузенко, В.А.Бусол, А.А.Ткаченко и др. — № 479912; Заявлено 11.03.90; Опубл. 23.05.92, Бюл. №19. — 10 с.

2. **Настанова** по діагностиці туберкульозу / В.М.Манченко, З.Р.Троценко, М.С.Павленко й ін. — Київ, 1994. — 39 с.

3. **Туберкулез** сельскохозяйственных животных / Под ред. В.П.Шишкова, В.П.Урбана — М.: Агропромиздат, 1991. — 255 с.

4. **Hiell S.D., Hanna J., O'Brien J.J.** Radiometric dedaction of mycobacteria in abbatoir specimens taken from tuberculin reactive cattle // Vet. Rec. — 1986. — V.118, № 11. — P. 304—306.

РЕЗЮМЕ

Эффективность метода обогащения предпосевного материала и эпизоотологическая целесообразность его использования при диагностике туберкулеза. А.А.Ткаченко.

Проведено сравнительное изучение эффективности и целесообразности использования метода ферментации (обогащения) при подготовке предпосевного биологического материала для бактериологических исследований на туберкулез.

The efficiency of presowing material enriching method and the epizootological expediency of its use for tuberculosis diagnostics. A.A. Tkachenko.

The article represents the study of comparative effectiveness and the expediency of fermentation (enriching) method use attached to the preparation of presowing biological material for tuberculosis bacteriological researches. ■