

мыши, состояние животных удовлетворительное. При инактивации антигена в течение 21-30 дней, он являлся безвредным для белых мышей, общее состояние животных было удовлетворительным.

Заключение. В результате проведенной нами работы установили, что концентрация антигена 5 млрд. микробных клеток/мл обеспечивает формирование длительного иммунитета. Для изготовления вакцины оптимальной схемой инактивации антигена является внесение в него 0,4% формалина и инактивация при 37°C в течение 21 дня.

Литература. 1. Абовян, А.В. Изучение инфекционного атрофического ринита в Армении: Автореф. дис. ... канд. вет. наук: 16.00.03 / А.В. Абовян. - Ереван, 1965 - 16 с. 2. Медведев, А.П. Основы получения противобактериальных вакцин и сывороток / А.П. Медведев, А.А. Вербицкий. - Витебск: ВГАВМ, 2010.-200с. 3. Пейсак, З. Болезни свиней / Зигмунт Пейсак; пер. с польского Д.В. Потапчука. - Брест: ОАО «Брестская типография», 2008. - 424с. 4. Разработка средств специфической профилактики инфекционных болезней животных / В. В. Максимович [и др.] // Научные труды / Институт экспериментальной ветеринарии им. С.И. Вышелесского НАН Беларуси. - Минск, 2005. - Вып. 38 : Ветеринарная наука - производству. - С. 359-361. 5. Справочник по применению вакцин, зарегистрированных в Республике Беларусь, против инфекционных болезней крупного рогатого скота, свиней, мелкого рогатого скота, лошадей, плотоядных и животных разных видов / сост. В.В. Максимович [и др.]. - Минск : Техноперспектива, 2006. - 166 с. 6. Bauwems, J.E. *Bordetella bronchiseptica pneumonia and bacteremia following bone marrow transplantation* / J.E. Bauwems, D.H. Spach D.H., T.W. Schacker // *Journal clin. Microbiol.* - 1992. - Vol.30. - № 9. - P. 2474-2475. 7. Dugal, F. *Adherence of Bordetella bronchiseptica 276 to uorcine trachea maintained in organ culture* / F. Dugal, C. Girard, M. Jacoues // *Applied and Environmental Microbiology.* - 1990. - Vol.56. - № 6. - P.1523-1529. 8. Magyar, L. *The role of a Bordetella bronchiseptica cytotoxin in the pathogenesis of turbinate atrophy in pigs* / L. Magyar, N. Chanter, J.M. Rutter // *Acta Microbiologica Hungarica.* - 1988. - Vol. 35. - № 2. - P. 178.

Статья передана в печать 03.09.2012 г.

УДК:619:616.98

ПРОБЛЕМА ПРИЖИЗНЕННОЙ ДИАГНОСТИКИ ТУБЕРКУЛЕЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

*Власенко В.В., **Лысенко А.П., ***Врохмейер Л., *Березовский И.В., *Власенко И.Г., *Войцицкая О.М.,
Притыченко А.Н., ****Кузнецов Н.А.

*Винницкий государственный аграрный университет, г. Винница, Украина,

**Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н.Вышелесского, г. Минск, Республика Беларусь,

***N.Y. Institute of Medical Research in Bayside, New York, USA,

****УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь,

*****Гродненский государственный аграрный университет, г. Гродно, Республика Беларусь

В результате проведенного мониторинга туберкулинодиагностических исследований установлено, что бактериологически диагноз на туберкулез был подтвержден всего лишь у 1,7 % позитивно реагирующих животных. Результаты исследований указывают на то, что специфичность и чувствительность аллергической пробы очень низкая. При этом рутинные методы диагностики не позволяют своевременно обнаружить возбудителя в продуктах животноводства. Предложен метод прижизненной диагностики туберкулеза у животных с использованием крови, стимулятора роста и питательных сред ВКГ и «Микофаст». Поэтому применение прижизненного посева крови у коров представляет интерес как альтернативный метод диагностики.

The monitoring studies for the diagnosis of tuberculosis is established that the bacteriological diagnosis of tuberculosis was confirmed by only 1,7 % responding positively to animals. Research results indicate that the specificity and sensitivity of the allergy test is very low. In this case, the routine diagnostic methods do not allow early detection of the pathogen in livestock products. A method of in vivo diagnosis of tuberculosis in animals with blood, growth factors and growth media and VCG and Mikofast. Therefore the use of in vivo blood culture in cows is of interest as an alternative method of diagnosis.

Введение. Для прижизненной диагностики туберкулеза в ветеринарной медицине применяется метод аллергической пробы. Этот метод получил название туберкулинодиагностики. История изготовления аллержена и использования туберкулинодиагностики тесно связана с открытием Р. Кохом в 1882 году возбудителя туберкулеза. Через 8 лет после его открытия Кох предложил в качестве лечебного препарата туберкулин. Надежды автора на высокую эффективность туберкулина не оправдались, но этот препарат в течение многих лет используется с диагностической целью [1, 2, 3].

В ветеринарной медицине давно существует проблема положительных реакций на туберкулин у коров при отсутствии у них видимых патологических изменений и отрицательных результатах бактериологического посева патологического материала на общепринятые питательные среды [4, 5, 6]. Выделение атипичных микобактерий не всегда может объяснить причину возникновения таких реакций. Использование методов выявления L (CWD) форм микобактерий туберкулеза показало, что причиной туберкулиновых реакций у коров может быть латентная туберкулезная инфекция [7].

Российские ученые [8] в 1997 году изучали методы выявления возбудителя туберкулеза в животноводческом сырье. Перед убоем на мясо животных подвергали туберкулинодиагностике, а после убоя исследование проводили бактериологическим методом с использованием различных питательных сред. По результатам исследований у 95,85 % животных, у которых была положительная реакция на

туберкулин, микобактерий не было выделено [8].

В Алтайском крае Луницин В.Г. и другие [9] изучали биоматериал, доставленный с ферм крупного рогатого скота. Как отмечают авторы, у крупного рогатого скота, который реагировал на туберкулин, диагноз не подтвердился. По сообщениям некоторых ученых [9, 10, 11, 12], при проникновении в организм атипичных микобактерий и некоторых других микроорганизмов возможна положительная реакция на туберкулин. Необходимость совершенствования аллергической диагностики туберкулеза крупного рогатого скота отмечают ряд авторов [13, 14, 15, 16].

Одним из главных мероприятий по оздоровлению неблагополучных по туберкулезу хозяйств является своевременное выявление и изъятие из группы больных животных. Установление диагноза иногда бывает сложным, особенно в благополучных по туберкулезу группах крупного рогатого скота. Диагноз считается установленным, если у реагирующих (или не реагирующих) на туберкулин животных при вскрытии найдены признаки туберкулеза поражения, в случае выделения из патологического материала *M. bovis* или *M. tuberculosis*, а также при положительных результатах биологической пробы. Самое большое беспокойство вызывает несовершенство прижизненных методов диагностики туберкулеза у животных, которые убиты, при этом наносится большой урон животноводству. Но без применения методов выделения измененных форм возбудителя туберкулеза, особенно прижизненного, невозможно добиться реального оздоровления стад и искоренения латентной туберкулезной инфекции.

В целом, с учетом неблагоприятных тенденций эпидемиологической и эпизоотической ситуации в мире, повышение эффективности бактериологической диагностики за счет выявления измененных форм МБТ – актуальная задача, решение которой может помочь в глобальной борьбе с туберкулезной инфекцией.

На наш взгляд, одна из причин недооценки диагностической значимости выявления измененных форм МБТ связана с трудностями их выделения и идентификации. Считается, что питательные среды для выделения маркеров L-форм туберкулеза (CWDF МБТ) должны удовлетворять их специфические потребности в питательных веществах [17]. Для выделения CWDF МБТ использовали глицериновый агар, бульоны с сывороткой крови и декстрозой, PPLO, среду Kirchner с сахарозой и ионами Mg, среду Murohashi-Yoshida [18]. Считалось, что CWDF МБТ лучше растут на жидких средах с глицерином и твином 80 с добавлением сыворотки (лошади, свиньи, овцы или человека) и осмотических стабилизаторов (сахарозы) [19, 20]. В Советском Союзе для выделения L-форм микобактерий туберкулеза использовалась полужидкая среда Школьниковой в модификации И.Р. Дорожковой [21].

На наш взгляд, для повышения эффективности бактериологической диагностики туберкулеза, представляет интерес прием предварительной стимуляции ростовых факторов микобактерий, находящихся в исследуемом материале. Известно, что *M. tuberculosis* и *M. bovis* имеют гены, продуцирующие факторы роста, активные в пиколярных (в отдельных случаях субпиколярных) концентрациях, при росте на минимальных средах или при посеве микроорганизмов в очень низкой концентрации, стимулирующие размножение дормантных клеток [22].

Еще в 1931 г. F. Miller показал, что *M. tuberculosis*, *M. bovis* могут становиться НКУ и быстро расти при добавлении в посевной материал стерильного экстракта хромогенного штамма H-37 *M. tuberculosis* [23]. С конца 90-х годов нами были проведены исследования по разработке методов стимуляции роста МБТ и питательных сред, позволяющих за 2-5 дней выделять их из любого патологического материала [24]. Были разработаны стимуляторы роста и специальные питательные среды [25]. Оказалось, что после 24-48 ч. инкубации в стимуляторах роста микобактерии туберкулеза, находящиеся в патологическом материале, приобретают способность к быстрому росту (2-5 суток), но преимущественно в CWDF. Последнее определило одну из возникших проблем – идентификацию изолятов. Haudurov D. and Tanner A. при туберкулезе обнаружили кокковидные формы, собранные в тетрады, или в скопления [26]. Плеоморфные крупные глобулярные CWD формы микобактерий туберкулеза (4-5 микрон) с включениями кислотоустойчивых гранул находили *in vitro* [27].

В зависимости от условий выделения и культивирования исследователи обнаруживали у CWDF МБТ разную морфологию и степень кислотоустойчивости, причем по внешним признакам их было трудно отнести к микобактериям [28].

По данным, приведенным в обзоре Beran V. et al (2006), CWDF (L-формы) МБТ по их способности реверсировать в классическую форму делят на стабильные (не реверсирующие спонтанно) и нестабильные (способные спонтанно реверсировать) [29]. Кроме того, согласно степени изменений их клеточной стенки, выделяют протопласты и сферопласты.

Целью нашей работы было изучить результаты мониторинга аллергических исследований и выделения возбудителя туберкулеза от положительно реагирующих на туберкулин животных на территории Украины за период с 2000 по 2010 годы.

Материал и методы исследований. Материалом для анализа качественных показателей туберкулинодиагностических исследований служили статистические данные Министерства аграрной политики Украины.

Исследование крови коров. Из яремной вены с соблюдением стерильности брали кровь, которую смешивали 1:1 со стимуляторами роста ВКГ и Микофаст и после 24 ч инкубации при 37 °С высевали на среды ВКГ и Микофаст.

Питательные среды и стимуляторы роста. Стимулятор роста и питательная среда ВКГ, «Ганза» (патент Украины №43467), стимулятор роста и питательная среда «Микофаст» («Doctor Vremia», Республика Беларусь).

Стимуляторы роста – стерильные, прозрачные жидкости. Питательные среды представляли собой мелкодисперсный порошок, который суспензировали в деионизованной воде, расплавляли, фильтровали, автоклавировали 15 мин при 121 °С, фасовали в стерильные пластиковые чашки Петри или стеклянные бактериологические пробирки и использовали после 48-часового контроля на стерильность. Готовые

питательные среды представляли собой прозрачный желтоватый гель на основе агара. Срок их использования не превышал 14 дней.

Результаты исследований. Результаты анализа проведенного мониторинга по выявленным туберкулинопозитивным животным по годам в Украине приведены в таблице 20.

Таблица 20

Частота выявления положительно реагирующих на туберкулин животных в Украине за 2002-2010 гг.

№ п/п	Период исследований	Наличие КРС на начало года (тыс. гол.)	Положительно реагирующих (гол.)	Убито реагирующего скота (гол.)	Выделено культур			% Подтверждение диагноза %
					<i>M.tuberculosis</i>	<i>M.bovis</i>	<i>M.avium</i>	
1	01.01.2002	9421,1	11 367	12 325	12	210	26	2,0
2	01.01.2003	9108,4	7 076	8 746	0	131	33	1,9
3	01.01.2004	7712,1	6 043	7 322	1	53	5	0,8
4	01.01.2005	6902,9	6 889	4 663	0	126	0	2,7
5	01.01.2006	6514,1	7 388	5 853	29	66	1	1,6
6	01.01.2007	6175,4	6 342	3 638	0	97	0	2,6
7	01.01.2008	5079,0	2718	2 736	0	78	0	2,8
8	01.01.2009	4917,6	848	1 646	0	40	0	2,4
9	01.01.2010	4823,7	315	1 337	0	12	1	0,9

Как видно из таблицы 1, всего было убито 12325 гол. крупного рогатого скота, который реагировал на туберкулин в 2001 году, а бактериологическим методом выделено 284 культуры возбудителя туберкулеза, т. е. бактериологическим методом диагноз подтвержден в 2 % случаев от реагирующего скота, что отрицательно сказалось на воспроизводстве стада. Следует отметить, что начиная с 2003 года поголовье крупного рогатого скота уменьшалось и составило на начало 2003 г. 9108,4 тыс. голов, в течение 2002 года было убито реагирующего на туберкулин скота 8746 голов, но бактериологическим методом выявлено всего 164 культуры возбудителя туберкулеза, из которых отнесены к *M.bovis* – 131, к *M.avium* – 33, т. е. бактериологическим методом диагноз подтвержден у 1,9 % убитых животных, реагирующих положительно на туберкулин. Анализируя результаты таблицы 1, следует отметить, что подтверждение диагноза на туберкулез бактериологическим методом по годам колебалось в пределах от 0,85 до 2,8 % от числа убитых положительно реагирующих на туберкулин животных. Иная картина наблюдалась в 2008 году, когда при уменьшении поголовья крупного рогатого скота до 4917,6 тыс. голов убито реагирующего на туберкулин 1646 гол. При этом выделены бактериологическим методом только 40 культур *M.bovis*. В 2009 году сохранялась аналогичная тенденция – было убито реагирующего скота 1337 голов, а выделено бактериологическим методом только 12 культур бычьего вида, что составляет 0,9 %.

Результаты исследований показали, что всего убито реагирующего скота 48266 голов, а подтвержден диагноз бактериологическим методом у 1,7 %, то есть 47445 голов убили необоснованно и тем самым недополучили продукции животноводства и потеряли воспроизводство поголовья крупного рогатого скота, что приводит к значительному урону продовольственной безопасности страны. При этом происходил спад производства основных видов продовольствия, особенно животного происхождения, и в настоящее время объемы производства продукции сельского хозяйства составляют меньше дореформенного уровня. Производство наиболее ценных продуктов питания уменьшилось: мяса – с 1985,4 (1990 г.) до 453,5 тыс. тонн (2009 г.), молока – с 17274,3 (1990 г.) до 11348,8 тыс. тонн. (2009 г.). Эффективность производства животноводческой продукции в 2009 году, по объемам которой не обеспечиваются рациональные нормы питания населения Украины, показано в таблице 21.

Таблица 21

Эффективность производства сельскохозяйственной продукции в 2009 году, по объемам которой не обеспечиваются рациональные нормы питания населения Украины

Виды продукции по которой не обеспечиваются рациональные нормы питания	Рациональные нормы питания на одного человека в год, кг	Фактическое потребление на одного человека в год, кг	Обеспечение, %
Мясо – всего	83	49,7	59,9
В том числе:			
КРС	X	9,6	X
Свиней	X	16,1	X
Птицы	X	23,0	X
овец и коз	X	0,5	X
Молоко	380	212,4	55,9
Яйца, шт.	290	272	93,8

Концепция обеспечения продовольственной безопасности Украины (мясом – на 59,9 %, молоком – на 55,9 %) в нынешних условиях довольно сложная. Противоречивый процесс требует многовекторных поисков безопасности продуктов питания. Существующие рутинные методы не позволяют своевременно определить биобезопасность продуктов питания животного происхождения. В результате проведенного

анализа установлено, что в последние годы в неблагополучных по туберкулезу хозяйствах наблюдается выделение реагирующих на туберкулин животных, а при ветеринарно-санитарной экспертизе туш и органов характерных для туберкулеза изменений не наблюдается. Результаты комплексной диагностики туберкулеза крупного рогатого скота в областях Украины на 01.10.2008 г. приведены в таблице 22.

Таблица 22

Ветеринарно-санитарная экспертиза туш положительно реагирующих на туберкулин животных, убитых с диагностической целью в областях Украины, на 01.10.2008 г.

Область	Исследовано аллергически (голов)	Выявлено реагирующих на туберкулин		количество голов	Обнаружено с патолог. изменениями, голов
		всего голов	в т.ч. коров		
1	2	3	4	5	6
АР Крым	96437	0	0	0	-
Винницкая	190143	655	407	174	-
Волынская	266944	15	15	5	-
Днепропетровская	82029	24	18	8	-
Донецкая	108974	48	46	62	-
Житомирская	178877	152	147	141	12
Закарпатская	154043	0	0	0	-
Запорожская	136824	7	2	7	-
Ивано-Франковская	26385	0	0	0	-
Киевская	174506	153	121	138	-
1	2	3	4	5	6
Кировоградская	65862	16	8	14	-
Луганская	124334	88	85	83	-
Львовская	36358	0	0	0	-
Николаевская	47279	7	7	2	-
Одесская	119237	120	87	120	-
Полтавская	341692	28	23	16	-
Ровненская	67688	40	34	40	-
Сумская	166398	204	136	51	-
Тернопольская	55332	37	29	34	-
Харьковская	246130	152	137	98	-
Херсонская	151006	72	68	42	-
Хмельницкая	239100	103	88	103	-
Черкасская	206870	604	514	493	22
Черновицкая	24070	5	4	5	-
Черниговская	257930	132	116	130	-
Всего:	3564448	2662	2092	1766	34

Как видно из таблицы 3, было исследовано аллергической пробой 3564448 гол., а выявлено реагирующих 2662, в том числе 2092 коров. Животные, которые реагировали положительно на туберкулин, были отправлены на диагностический убой в количестве 1766 гол. Из них только у 34 (1,9 %) обнаружены патологоанатомические изменения.

Следует отметить, что при диагностическом убое 141 головы в Житомирской области были обнаружены патологоанатомические изменения лишь в 1 случае, тогда как в Черкасской области из 493 – у 22 голов.

Известно, что бактериологическое исследование дает положительный результат, когда в 1 см³ суспензии исследуемого материала находится не менее 50 тысяч клеток микобактерий.

Исходя из вышеизложенного, мы приступили к анализу бактериологических исследований туш и органов животных, положительно реагирующих на туберкулин. Результаты исследований приведены в таблице 23.

Таблица 23

Бактериологическое исследование туш животных, которые положительно реагировали на туберкулин

Область	Исследовано аллергически, голов	Выделено реагирующих		Биопроба	Результаты бактериологических исследований		
		всего голов	в т.ч. коров		Количество проб посева, голов	выделено культур	
						<i>M. bovis</i>	Атипичных культур
АР Крым	96437	0	0	0	0	-	-
Винницкая	190143	655	407	174	174	-	-
Волынская	266944	15	15	5	5	-	-
Днепропетровская	82029	24	18	23	8	-	-
Донецкая	108974	48	46	62	62	-	-

Житомирская	178877	152	147	74	141	1	2
Закарпатская	154043	0	0	0	0	-	-
Запорожская	136824	7	2	7	7	-	1
Ивано-Франковская	26385	0	0	0	0	-	-
Киевская	174506	153	121	246	138	-	12
Кировоградская	65862	16	8	13	14	-	-
Луганская	124334	88	85	116	83	-	4
Львовская	36358	0	0	0	0	-	-
Николаевская	47279	7	7	2	2	-	-
Одесская	119237	120	87	133	120	-	-
Полтавская	341692	28	23	16	16	-	-
Ровненская	67688	40	34	40	40	-	1
Сумская	166398	204	136	161	51	5	-
Тернопольская	55332	37	29	10	34	-	-
Харьковская	246130	152	137	88	98	-	3
Херсонская	151006	72	68	48	42	-	1
Хмельницкая	239100	103	88	59	103	-	-
Черкасская	206870	604	514	493	493	-	3
Черновицкая	24070	5	4	4	5	-	-
Черниговская	257930	132	116	129	130	-	1
Всего:	3564448	2662	2092	1903	1766	6	28

Как видно из таблицы 4, в Украине на 1.10.2008 г. было проведено 1903 экспертизы бактериологическим методом, путем проведения биопробы, и 1766 проб посева от животных, которые положительно реагировали на туберкулин, а выделили культуру возбудителя туберкулеза лишь в 6 пробах.

Конечно, затрачены очень большие материальные и человеческие ресурсы, а результат оказался мизерным. Довольно интересно то, что в Черкасской области при контрольном диагностическом убое (4393 головы) в результате ветеринарно-санитарной экспертизы выявлено 22 животных с патологическими изменениями, характерными для туберкулеза, но при бактериологических исследованиях культуры возбудителя туберкулеза не были выделены. При сравнении выявления патологических изменений в тушах и органах животных, убитых с диагностической целью и бактериологически исследованных, совпадения диагноза не обнаружено. Только в Житомирской области, из 141 диагностически убитого животного патологические изменения обнаружены у 12 голов, причем только в одном случае выделен возбудитель туберкулеза бактериологическим методом.

Есть мнение ученых, что атипичные микобактерии, если они находятся в организме животных, могут вызвать сенсбилизацию организма к туберкулину.

Как показали исследования (анализ), из 1766 бактериологических экспертиз материала от животных, которые положительно реагировали на туберкулин, выделено всего 6 культур возбудителя туберкулеза и за 9 месяцев 2008 г. выделено положительно реагирующих на туберкулин 2662 животных (0,2 %) (Отчетные материалы гос. комитета вет. медицины). Такое количество положительно реагирующих на туберкулин животных трудно объяснить лишь влиянием атипичных микобактерий.

Можно предположить, что существующие рутинные методы исследований для выявления возбудителя туберкулеза в экологически сложных условиях Украины являются малопригодными для установления биобезопасности пищевого сырья животного происхождения. Существующие современные технологии за рубежом сложные и дорогостоящие, а потому малодоступны для специалистов Украины. Поэтому разработка современных методов детекции возбудителя туберкулеза в Украине является актуальной проблемой.

Нами предложен метод прижизненной диагностики туберкулеза у животных с использованием крови, стимулятора роста и питательной среды ВКГ, «Ганза» (патент Украины № 43467), стимулятора роста и питательной среды «Микофаст» («Doctor Vremia», Республика Беларусь). При посеве на среду ВКГ 85 проб крови туберкулин-положительных коров неблагополучного по туберкулезу стада «В» в 61 случае (71,6 %) на 2-4 сутки был получен рост восковиных колоний или тонкого «газона» (таблица 5). Изоляты были представлены крупными синими кокками, синими зернистыми палочками, похожими на классический возбудитель туберкулеза, прозрачными и темно-красными кокками. Иногда в мазках встречались рубиново-красные кокки и палочки.

При убое всех 85 коров у 16, на вскрытии были обнаружены видимые туберкулезные изменения. Оказалось, что пробы крови 12 таких животных (75 %) дали характерный рост на среде ВКГ и агглютинацию выросшей бактериальной массы антисывороткой *M.bovis*.

При исследовании 226 проб крови туберкулинотрицательных коров характерный рост на среде ВКГ обнаружен в 64 случаях (28,3 %). При убое всех 226 туберкулинотрицательных коров туберкулезные изменения были обнаружены у 7. Пробы крови этих животных на среде ВКГ в 5 случаях (71,4 %) дали характерный рост колоний и положительный результат РА.

Таблица 24

Результаты посева крови коров неблагополучного стада «Б» на среду ВКГ, РА и аутопсии

Группы животных	Исследовано проб крови	Рост на среде ВКГ	РА изолятов со среды ВКГ с антисывороткой <i>M.bovis</i>	Выявлен туберкулез при аутопсии
Туберкулинопозитивные коровы	85	61 (71,8%)	61 (71,8%)	16
Туберкулинонегативные коровы	226	64 (28,3%)	64 (28,3%)	7

Таким образом, чувствительность посева крови на среду ВКГ по неблагополучному стаду «В» составила: у туберкулинопозитивных коров – 71,6 %, у коров с туберкулезными изменениями – 71,4-75 %.

Выявление 28,3 % инфицированных особей среди 226 не реагирующих на туберкулин коров показало, что посев крови на среду ВКГ существенно дополняет аллергическую диагностику болезни.

Туберкулезная природа изолятов была подтверждена в биопробе на морских свинках, которым вводили культуры (по 1 мг бактериальной массы подкожно) из крови двух явно больных коров. Морские свинки пали через 19-20 суток от генерализованного туберкулеза. Вместе с тем после заражения изолятами от трех коров без туберкулезных изменений явного заболевания у морских свинок не отмечено (срок наблюдения – 3 месяца).

При посеве 178 проб крови коров, не реагирующих на туберкулин, из неблагополучного стада «Z» в 55,1 % случаев получен рост характерных колоний на среде ВКГ. Все изоляты из крови реагировали в РА с антисывороткой *M.bovis*.

В таблице 6 представлены результаты посева крови 12 коров неблагополучного стада «VI» на среду ВКГ, в том числе 5 коров, у которых на убое были обнаружены изменения, свойственные туберкулезу. Кровь всех животных (100 %), включая и туберкулинотрицательную корову, у которой были туберкулезные изменения, дала рост на среде ВКГ. Изоляты реагировали в РА с антисывороткой *M.bovis*, имели специфические участки ДНК, выявленные в ПЦР с праймерами MPB 70.

По нашему мнению, метод представляет особую ценность для ветеринарной медицины, где не делается различий между активной и латентной туберкулезной инфекцией и инфицированные коровы должны удаляться из стада. В существующей практике такие состояния выявляют с помощью туберкулиновой пробы. Однако ее чувствительность составляет в наших исследованиях 1,7 %, с другой стороны, актуальной остается проблема ложноположительных реакций [30]. Отсутствие явного заболевания, скорее всего, объясняется ежегодной двукратной туберкулинизацией и убоем реагирующих коров. Имунная система в таких условиях держит под контролем МБТ, трансформируя их в CWDF, поэтому инфекция протекает в скрытой форме. Если не применять методы выявления такого состояния, реальное оздоровление может продолжаться еще много лет.

Таблица 25

Посев крови коров неблагополучного стада «VI» на среду ВКГ и результаты идентификации изолятов в РА и ПЦР

Номер коровы	Утолщение кожной складки на ППД туберкулин (мм)	Рост крови на среде ВКГ	РА изолята с антисывороткой <i>M.bovis</i>	ПЦР MPB 70
4578Т*	3	+	+	+
600Т*	3	+	+	+
3868Т*	7	+	+	+
3885Т*	9	+	+	+
3805Т*	0	+	+	+
4523\4338	4	+	+	ни
3870	7	+	+	+
3831\3863	5	+	+	+
7426\4545	4	+	+	+
5712\3853	2	+	+	+
4072\4545	4	+	+	ни
4070\4076	6	+	+	+

Примечание: Т* – коровы, у которых на убое были обнаружены изменения, свойственные туберкулезу.

Поэтому применение прижизненного посева крови у коров представляет интерес как альтернативный метод диагностики. Авторами этой статьи разработаны новые методы выявления противотуберкулезных антител иммуноферментным методом, скрининговой диагностики «тест-фактор», что дает возможность в маже крови инфицированного (больного) животного обнаружить стадию развития возбудителя туберкулеза с последующим выделением чистой культуры за 2-3 дня и определить чувствительность к лекарственным средствам, что даст возможность своевременно и эффективно провести диагностику и лечение больных и определить биобезопасность пищевых продуктов.

Заключение. Внутрикожная туберкулиновая проба – не достаточно информативный диагностический тест, так как ее чувствительность (совпадение с бактериологическими исследованиями) составляет в наших исследованиях 1,7 %. Кроме того, метод позволяет глубже взглянуть на проблему ложноположительных реакций в стадах, считающихся благополучными по туберкулезу. Существующие

рутинные методы исследований для выявления возбудителя туберкулеза в экологически сложных условиях Украины являются малоприменимыми для установления биобезопасности пищевого сырья животного происхождения. Поэтому разработка прижизненных современных методов детекции возбудителя туберкулеза является актуальной проблемой. Проведенные исследования показали, что с помощью стимуляторов роста и питательных сред ВКГ и Микофаст достаточно просто и быстро можно выделить маркер туберкулезной инфекции. Установлено, что в стадах с туберкулезной инфекцией метод позволяет выделить маркеры туберкулеза (CWDF МБТ) из крови в 71,6-100 % случаев и дополнительно выявить 28,3-55,1 % инфицированных среди туберкулиноотрицательных животных. Поэтому применение прижизненного посева крови у коров представляет интерес как альтернативный метод диагностики.

Литература: 1. Вишневский, П. П. Туберкулин (историческая справка, изготовление и применение в ветеринарной практике) / П. П. Вишневский // Биопрепараты для сельскохозяйственных животных. – М., 1935. – С. 299-327; 2. Ткаченко, О. А. Специфічність та активність туберкуліну при діагностиці туберкульозу великої рогатої худоби / О. А. Ткаченко, Л. С. Короленко // Ветеринарна медицина України. – 1998. - № 7. – С. 12-13; 3. Кассіч, Ю. Досягнення науки і практики в застосуванні методу алергічної діагностики туберкульозу великої рогатої худоби / Ю. Кассіч, П. Фукс // Ветеринарна медицина України. – 2001. - № 5. – С. 11-14; 4. Anon. The tuberculin test. *Vet. Rec.* – 1942. – Vol. 54. – P. 191-192; 5. Anon. A comparison between the double intradermal comparative test and the single intradermal comparative test // *Vet. Rec.* – 1947. – Vol. 59. – P. 95-100; 6. Dalling, T. Tuberculin and tuberculin testing / T. Dalling // *Vet. Rec.* – 1948. – Vol. 60. – P. 527-536; 7. Baiteriakova, T. I. Persistence of mycobacteria in cattle (In Russian) / T. I. Baiteriakova, I. N. Rubtsova, I. A. Makarov // *Problemy Tuberculeza i Bolezni Legkikh.* – 1982. – Bd. 11. – P. 59-60; 8. Ходун, Л. М. Оптимизация аллергической и лабораторной диагностики туберкулеза крупного рогатого скота : автореф. дис. д-ра вет. наук / Л. М. Ходун. – Казань, 1997. – 31 с.; 9. Ткаченко, О. Проблема атипичних мікобактерій і зумовленої ними мікобактеріозної інфекції / О. Ткаченко // Ветеринарна медицина України. – 1999. - № 3. – С. 18; 10. Ткаченко, О. Шейдкоростучі *M.bovis* у проблемі туберкульозу / О. Ткаченко // Ветеринарна медицина України. – 2004. - № 7. – С. 14-17; 11. Лысенко, А. П. Антигенный состав и дифференциация штаммов *Mycobacterium bovis* от атипичных микобактерий по наличию специфических антигенов / А. П. Лысенко // Вопросы туберкулеза и бруцеллеза животных. – Новосибирск, 1997. – С. 50-58; 12. Мартма, О. В. Атипичные микобактерии и их диагностическое значение при туберкулезе крупного рогатого скота : автореф. дис. д-ра вет. наук : 16.00.03 «Микробиология» / О. В. Мартма. – М., 1991. – 46 с.; 13. Руманчик, И. И. Совершенствование дифференциальной аллергической диагностики туберкулеза у крупного рогатого скота / И. И. Руманчик // Материалы научн.-практ. конф. (23-24 окт. 1997 г.). – Минск, 1997. – С. 67-68; 14. Руманчик, И. И. Проведение плановых исследований крупного рогатого скота на туберкулез с одновременной дифференциацией туберкулиновых реакций / И. И. Руманчик // Труды БелНИИЭВ. – Минск, 1996. – Вып. 32. – С. 94-96; 15. Харитонов, М. В. Неспецифические реакции на туберкулин и факторы, обуславливающие их / М. В. Харитонов, Р. Г. Гамцов, С. А. Хамитова // *Вет. врач.* – 2002. - № 4(12). – С. 34-37; 16. ТУУ 24.4-00497087-697-2003. Алерген сухий очищений із атипичних мікобактерій (ААМ). – Затверджені Головою Державного департаменту ветеринарної медицини 29 липня 2003 року. – К., 2003. – 18 с.; 17. Cell wall deficient forms of mycobacteria: a review / V. Beran [et al.] // *Veterinarni Medicina.* – 2006. – Vol. 51(7). – P. 365-389; 18. Chandrasekhar, S. Studies on cell-wall deficient non-acid fast variants of *Mycobacterium tuberculosis* / S. Chandrasekhar, S. Ratnam // *Tuber Lung Dis.* – 1992. – Vol. 73(5). – P. 273-279; 19. Sheroplastic phase of mycobacteria isolated from patients with Crohn's disease / S. J. Chiodini [et al.] // *J. of Clinical Microbiology.* – 1986. – Vol. 24. – P. 357-363; 20. Markesich, D. C. Progress in culture and subculture of shero-plasts and fastidious acid-fast bacilli isolated from intestinal tissues / D. C. Markesich, D. Y. Graham, H. H. Yoshimura // *J. of Clinical Microbiology.* – 1988. – Vol. 26. – P. 1600-1603; 21. Земскова, З. С. Латентные туберкулезные инфекции / Зю Сю Земскова, И. Р. Дорожкова. – М. : Медицина, 1984. – 221 с.; 22. A family of autocrine growth factors in *Mycobacterium tuberculosis* / G. Mukamolova [et al.] // *Molecular Microbiology.* – 2002. – Vol. 46(3). – P. 623-635; 23. Miller, F. R. The induced development of non-acid forms of *Bacillus tuberculosis* and other mycobacteria / F. R. Miller // *J. Exp. Med.* – 1932. – P. 411-424; 24. Vlasenko, V. V. Tuberculosis in focus of problem contemporarity / V. V. Vlasenko. – Vinnica : Nauka, 1998. – 350 p.; 25. Patent Ukrainian № 43467; 26. Haudurov, D. Une Coloration différentielle des Mycobacteries; la coloration d'Alexander modification a cette coloration / D. Haudurov, A. Tanner // *Resultats Compt. Rend. Soc. Biol.* – 1948. – Vol. 24(142). – P. 1510; 27. Mattman, L. H. Cell wall deficient forms of mycobacteria / L. H. Mattman // *Ann. N.Y. Acad. Sc.* – 1970. – Vol. 174. – P. 852; 28. Власенко, І. Г. Детекція збудника туберкульозу в системі крові : монографія / І. Г. Власенко. – Вінниця : Едельвейс, 2009 – 300 с.; 29. Cell wall deficient forms of mycobacteria: a review / V. Beran [et al.] // *Veterinarni Medicina.* – 2006. – Vol. 51(7). – P. 365-389; 30. Adams, L. G. In vivo and in vitro diagnosis of *Mycobacterium bovis* infection / L. G. Adams // *Rev. sci. off int. Epiz.* – 2001. – Vol. 20(1). – P. 304-324.

Статья передана в печать 09.07.2012 г.

УДК 619:615.37:636.5:612.119

ДИНАМИКА ЕСТЕСТВЕННОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ПРОБИОТИКА «ВЕТЛАКТОФЛОР»

Гласкович А.А., Капитонова Е.А., Притыченко А.В., Аль-Акаби А. Аамер
УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»
г. Витебск, Республика Беларусь, 210026

В настоящее время уже доказана эффективность применения пробиотиков в промышленном птицеводстве. При применении пробиотиков снижается процент заболеваний желудочно – кишечного тракта, увеличивается сохранность птицы, темпы прироста живой массы птицы.

Выпаивание исследуемого средства, разведенного как молоком, так и сывороткой, в технологическом цикле выращивания цыплят-бройлеров способствует нормализации основных биохимических показателей, таких как общий белок, мочевая кислота, кальций и фосфор, увеличению