



ЛАБОРАТОРНАЯ ПРАКТИКА

ИДЕНТИФИКАЦИЯ КУЛЬТУР *Mycobacterium bovis*, ПОЛУЧЕННЫХ НА СРЕДЕ ВКГ В РЕАКЦИИ АГГЛЮТИНАЦИИ (РА)

А. Н. Притыченко, Н.С. Клюева (ВГАВМ), А.П. Лемиш, И.Н. Архипов (РНИУП)

В настоящее время достигнуты большие успехи в борьбе с туберкулезом. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), третья часть населения земного шара инфицирована возбудителем туберкулеза. По данным международных экспертов, в ближайшее время туберкулез может приобрести характер тотальной пандемии. В ближайшее время в мире прогнозируется не менее 90 млн. новых случаев болезни [5], а к 2020 году 70 млн. больных туберкулезом уйдут из жизни [2].

Ситуация по туберкулезу остаётся сложной, ежегодно 2-3-кратно обследуется более 1,5 млн. голов крупного рогатого скота и выявляется до 25 тыс. коров с реакциями на туберкулин и появляются пункты, неблагополучные по туберкулезу. Кроме того, ежегодно регистрируют около 200 случаев туберкулеза при диагностическом убое крупного рогатого скота [4].

В 2002 г. в Республике Беларусь апробирована питательная среда ВКГ для ускоренного выделения возбудителя туберкулеза. С помощью этой питательной среды были изолированы ранее неизвестные морфологические формы возбудителя туберкулеза, которые резко отличались по морфологии и ряду биологических свойств от классических форм [1, 3]. Однако значительной проблемой является затруднение при идентификации полученных культур.

Цель исследования - изучить возможность применения РА на стекле для идентификации выделенных изолятов.

Материалом для исследования служила стабилизированная кровь и лимфоузлы от реагировавших на туберкулин коров. Среду ВКГ готовили непосредственно перед применением в соответствии с наставлением. Кровь стерильно смешивали со стимулятором роста ВКГ - 5 мл стимулятора на каждые 5 мл суспензии. Смесь инкубировали 48 часов в термостате (37°С) и высевали на свежеприготовленную среду ВКГ, разлитую по 15 мл в чашки Петри. Чашки и пробирки с посевами заклеивали скотчем и помещали в термостат (37°С).

Из выросших колоний делали препараты-мазки, которые окрашивали по Цилю-Нильсену. Изолированные культуры испытывали в пластинчатой реакции агглютинации на стёклах с бычьими антисыворотками к *M. bovis* и к смеси антигенов атипичных микобактерий. Контролем при проведении реакции служили отрицательная сыворотка крупного рогатого скота для РСК Курской биофабрики и нормальная сыворотка крови кролика.

При появлении признаков роста бактериальную массу проверяли в пластинчатой РА с антисыворотками, полученными на бациллярные формы микобактерий. Если выросшие на среде ВКГ колонии имели сходные культуральные свойства, для идентификации делали по одному соскобу бактериологической петлёй. Если колонии отличались по морфологии, то в РА исследовали каждую разновидность.

Реакцию учитывали через 5-7 мин просматривая стёкла на темном фоне и под осветителем ОИ-19 с помощью лупы,

начиная с контроля. Если с нормальной сывороткой не отмечалась агглютинация, проводили учёт всей реакции. Положительной считали реакцию с образованием крупно- или мелкозернистого агглютината с просветлением жидкости. Отрицательной считали реакцию, если суспензия оставалась гомогенной. Интенсивность агглютинации оценивали в плюсах: “++++” - образование крупно- или мелкозернистого агглютината с полным просветлением жидкости; “+++” - образование заметного крупно- или мелкозернистого агглютината с почти полным просветлением жидкости; “++” - образование заметного крупно- или мелкозернистого агглютината, но просветление жидкости выражено слабо; “+” - образование едва заметного крупно- или мелкозернистого агглютината, жидкость мутная; “-” - нет образования агглютината, жидкость равномерно мутная;

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В целом при посеве крови от 133 коров в 28 случаях (21,7 %) выявлен рост возбудителя туберкулёза. В 7 случаях (5,26 %) получен рост микобактерий, реагировавших с общегрупповой антисывороткой (результат не интерпретируется, ввиду возможной контаминации проб). В двух случаях (1,5 %) получен неясный результат. В 4 случаях (3,0 %) выявлен рост культур, нетипизируемых в РА.

90 проб дали отрицательный результат (67,6 %).

В 1,5 % посевов отмечен пророст посторонней микрофлоры (кровь при взятии была контаминирована).

От 25 коров, в крови которых обнаружен возбудитель туберкулёза, при диагностическом убое изменений, свойственных туберкулёзу, не обнаружено.

Из лимфоузлов от этих животных на среде ВКГ в 10 пробах идентифицирован возбудитель туберкулёза (40 %).

ВЫВОДЫ

1. Питательная среда ВКГ и набор антисывороток для идентификации изоля-

тов может использоваться в ветеринарной практике для выявления инфицированных животных.

2. Прижизненное исследование крови с применением питательной среды ВКГ позволяет в короткие сроки (2-7 дней) выявить животных, представляющих опасность как источник туберкулёзной инфекции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Власенко В.В. Туберкулез в фокусе проблем современности.- Винница: - Наука, 1998.- 350 с. 2. Гарданов М.С. Туберкулез: второе пришествие: История болезни, её профилактика и лечение. - Мн.: Парадокс, 2000.- 160 с. 3. Лысенко А.П. и др. Стимулятор роста и среда ВКГ для ускоренного выделения микобактерий, культуральные, патогенные и антигенные свойства изолируемых культур//Ветеринарная медицина Беларуси. - Мн., 2003.- № 1.- С. 10-13. 4. Лысенко А.П., Высоцкий А.Э., Агеева Т.Н. Разработка и внедрение новых методов диагностики и профилактики туберкулеза в Республике Беларусь// Ветеринарная патология, современные проблемы диагностики и профилактики туберкулеза животных.- Мн., 2004.- № 1-2 (9).- С. 41-43. 5. Мельник В.М., Турченко Л.В., Фещенко Ю.И. Клиническая оценка эффективности выявления микобактерий туберкулеза на среде ВКГ// Ветеринарная патология, современные проблемы диагностики и профилактики туберкулеза животных.- Мн., 2004.- № 1-2 (9).- С. 110-113.

SUMMARY

Pritychenko A. N., Klueva N. S., Lemish A. P., Arkhipov I. N. IDENTIFICATION OF MYCOBACTER BOVIS CULTURES ISOLATED ON THE VKG MEDIUM VSING AGGLUTINATION TEST.

The article features the data on the use of agglutination test for identification of Mycobacterium bovis cultures obtained on the VKG medium.