

УДК 619:616.98:579.873.21Т:636.221/.28

Особливості прояву реакції мононуклеарів крові на туберкулін *in vitro* (РМК) при сенсibiliзації організму корів атиповими мікобактеріями.

Буряк Є.І., Лісовий І.П.

Одеський державний аграрний університет

*Стан параалергії до туберкуліну у великої рогатої худоби, обумовлений сенсibiliзацією організму атиповими мікобактеріями (АМБ), супроводжується низьким відсотком позитивних (0,32 – 1,54) і сумнівних (2,0 – 7,10) результатів реакції мононуклеарів крові на туберкулін *in vitro* (РМК) та зниженням інтенсивності її прояву при повторних дослідженнях.*

Ключові слова: туберкульоз, туберкулін, РМК, АМБ.

Вступ. Моніторинг епізоотичної ситуації по туберкульозу великої рогатої худоби (ВРХ) в Україні здійснюється за результатами внутрішньошкірної туберкулінової проби (ВТП), але за явища параалергії до туберкуліну, обумовленого сенсibiliзацією організму атиповими мікобактеріями (АМБ), позитивний результат ВТП не є критерієм первинної постановки діагнозу на туберкульоз. Діагноз на туберкульоз ВРХ вважається встановленим за наявності характерних для туберкульозу уражень внутрішніх органів, а за їх відсутності – виділення з біоматеріалу *M. bovis* і *M. tuberculosis*. Тому з метою відбору тварин для діагностичного забою діючою інструкцією передбачене використання допоміжних методів досліджень, зокрема реакції мононуклеарів крові на туберкулін *in vitro* (РМК). Нами [1] встановлено, що інтенсивність прояву РМК залежить від форми інфекційного процесу – реакція більш виражена при генералізованому і розповсюдженному туберкульозному процесі.

Мета досліджень:

- вивчити особливості прояву РМК за явища параалергії до туберкуліну, обумовленого сенсibiliзацією організму корів атиповими мікобактеріями;
- вивчити інтенсивність прояву РМК у корів з різним рівнем чутливості організму до ВТП;
- вивчити рівень прояву РМК за різного терміну повторних досліджень корів, сенсibiliзація організму яких обумовлена атиповими мікобактеріями.

Матеріал та методи досліджень. Дослідження проведені на маточному поголів'ї ВРХ ПСП «Дружба народів» Іванівського району Одеської області. Середньорічне поголів'я ВРХ у 2012 р. складало 650 гол., в т.ч. 369 корів.

Внутрішньошкірна туберкулінова проба (ВТП) проводилась згідно діючої настанови шляхом введення 5000МО туберкуліну ППД для ссавців (ППДТС) в об'ємі 0,1мл і обліку реакції через 72 год. шляхом визначення потовщення складки шкіри. Результат ВТП вважали позитивним за потовщення складки шкіри на 3 мм і більше, сумнівним – на 2 мм, але не вище 3 мм.

Рівень чутливості до туберкуліну організму корів визначали за розробленою нами [1] методикою, враховуючи потовщення складки шкіри на ВТП: до груп з низьким, помірним і високим рівнем чутливості відносили тварин за потовщення складки шкіри відповідно на 1-5 мм, 6-15 мм і 16 мм і більше.

РМК проводили згідно методичних рекомендацій «Реакція мононуклеарів крові на туберкулін *in vitro* (РМК) в комплексі заходів з профілактики туберкульозу великої рогатої худоби» [2]. Оцінку реакції проводили в плюсах. Результат вважали позитивним за прояву РМК в три (+++) і чотири (++++) плюси і сумнівним – в два (++) плюси та негативним за низького рівня прояву реакції - в один (+) плюс і відсутності ознак реакції (-).

Відбір тварин для діагностичного забою проводили за результатами ВТП і РМК. Патологоанатомічне дослідження і відбір біоматеріалу для бактеріологічного дослідження проводили згідно діючих правил. Бактеріологічне дослідження біоматеріалу проводилось в Іванівській РДЛВМ, Одеській ОДЛВМ і лабораторії з вивчення туберкульозу ННЦ ІЕКВМ.

Результати досліджень. За результатами моніторингу діагностичних досліджень на туберкульоз ВРХ в ПСП «Дружба народів» встановлено, що поодинокі випадки виявлення реагуючих на ВТП тварин спостерігались впродовж 2007-2009 рр., а в подальшому їх кількість різко зросла і склала у листопаді 2010 р. – 28 (8,38%) гол., у лютому, травні, вересні і листопаді 2011р. відповідно 44 (13,66%), 81 (25,63%), 144 (42,11%) і 67 (18,51%) гол., у травні 2012 р. – 73 (19,78%) гол.

Впродовж 2010 – 2012 років з числа корів, реагуючих на ВТП і в РМК, забито з діагностичною метою 31 гол. При проведенні ветеринарно-санітарної експертизи туш і органів характерних для туберкульозу патологоанатомічних змін не встановлено, бактеріологічним дослідженням біоматеріалу в районній і обласній ДЛВМ збудника туберкульозу не виділено, з матеріалу від 5 голів, забитих 17.11.11р., в ННЦ ІЕКВМ виділена культура АМБ 3 групи за Раньоном.

Відсутність характерних для туберкульозу патологоанатомічних змін в тушах і органах реагуючих на ВТП корів, забитих з діагностичною метою, негативні результати бактеріологічного дослідження на туберкульоз і виділення з матеріалу атипичних мікобактерій були підставою природу сенсibiliзації організму до туберкуліну вважати неспецифічною, а чутливість корів до туберкуліну визнати як стан параалергії організму до ППДТС.

З метою відбору тварин для діагностичного забою в комплексі діагностичних досліджень ми використали РМК. Впродовж 18 міс. в РМК проведене 3-разове дослідження всього поголів'я корів і 4-разове – вибіркоче повторне дослідження (табл. 1).

Таблиця 1.

Результати РМК при дослідженні корів ПСП «Дружба народів»

Дата дослідження	Досліджено корів	Реагувало в РМК, гол./% за інтенсивності прояву					
		+++		++		+	
		всього	в т.ч. первинно	всього	в т.ч. первинно	всього	в т.ч. первинно
18.11.10	324	5/1,54	5/1,54	23/7,10	23/7,10	52/16,04	52/16,04
24.02.11	316	1/0,32	1/0,32	17/5,30	10/3,16	45/14,24	31/9,81
17.03.11	33	1/3,03	-	4/12,12	-	22/66,67	3/9,09
1.05.11	71	1/1,23	-	7/6,4	2/2,47	28/34,57	19/23,46
30.08.11	300	1/0,33	-	6/2,00	3/1,00	41/13,67	24/8,00
8.10.11	138	-	-	13/9,42	5/3,62	46/33,33	18/13,04
16.06.12	70	-	-	-	-	6/5,7	3/4,29

За триразового дослідження в РМК всього поголів'я корів відсоток позитивно (++++) реагуючих коливався в межах 0,32-1,54; сумнівно (++) реагуючих – в межах 2,0 – 7,10 і з низьким рівнем прояву (+) – в межах 13,67 – 16,04. Вибіркові дослідження корів в РМК проводили з метою визначення терміну інтенсивності прояву реакції і відборі тварин для діагностичного забою. У вказані терміни первинно виявлено 199 корів з різним рівнем прояву РМК, з них 6 (3, 02%) у +++ плюси, 43 (21,61) – у ++ плюси і 150 (75,38%) – у + плюс.

Зважаючи на те, що імунна відповідь організму на ВТП і РМК опосередкована клітинами Т-системи імунітету, ми дослідили інтенсивність прояву РМК у корів з різним рівнем чутливості до ВТП (табл. 2).

Таблиця 2.

Інтенсивність прояву РМК при дослідженні корів з різним рівнем чутливості до ВТП.

Дата, досліджено корів, гол.	Реагувало на ППДТС					
	рівень чутливості	гол./ %	з них реагувало в РМК, гол./%			
			за інтенсивності прояву реакції			
			-	+	++	+++
2-5.11.10	низьким	20/5,99	13/65,00	4/20,00	2/10,00	1/5,00
334	помірним	8/2,40	4/50,00	3/37,50	1/12,50	-
	нечутливі	306/91,62	237/77,45	45/14,71	20/6,54	4/1,31
	низьким	34/10,60	17/50,00	11/32,35	5/14,71	1/2,94
7-10.02.11	низьким	34/10,60	17/50,00	11/32,35	5/14,71	1/2,94
322	помірним	10/3,11	7/70,00	2/20,00	1/10,00	-
	нечутливі	278/86,34	235/4,53	32/11,51	11/3,96	-
	низьким	57/18,04	32/56,14	20/35,09	4/7,02	1/1,75
13-16.05.11	низьким	57/18,04	32/56,14	20/35,09	4/7,02	1/1,75
316	помірним	24/7,59	13/54,17	8/33,33	3/12,50	-
	нечутливі	235/74,37	не досліджувались в РМК			
	низьким	51/14,91	47/92,16	4/7,84	-	-
6-9.09.11	низьким	51/14,91	47/92,16	4/7,84	-	-
342	помірним	93/27,19	57/61,29	30/32,26	5/5,38	1/1,08
	нечутливі	198/57,89	190/95,96	7/3,54	1/0,51	-
	низьким	57/15,75	37/64,91	15/26,32	5/8,77	-
14-17.11.11	низьким	57/15,75	37/64,91	15/26,32	5/8,77	-
362	помірним	10/2,76	9/90,00	1/10,00	-	-
	нечутливі	295/81,49	257/87,12	30/10,17	8/2,71	-
	низьким	57/15,45	51/89,47	6/10,53	-	-
8-11.05.12	низьким	57/15,45	51/89,47	6/10,53	-	-
369	помірним	16/4,34	16/100,0	-	-	-
	нечутливі	296/80,22	не досліджувались в РМК			

При визначенні рівня чутливості організму корів до ВТП (табл. 2) ми встановили, що у більшості реагуючих на ВТП корів спостерігається низький рівень чутливості до туберкуліну, а тварин з високим рівнем чутливості до ВТП жодного разу не виявлено: відсоток тварин з низьким і помірним рівнем чутливості до ВТП в числі реагуючих корів склав у листопаді 2010 р. відповідно 5,99 і 2,40; у лютому, травні і листопаді 2011 р. відповідно 10,60 і 3,11; 18,04 і 7,59; 15,75 і 2,76; у травні 2012 р. – відповідно 15,45 і 4,34 і лише у

вересні 2011 р. - відповідно 14,91 і 27,19, тобто в одному випадку у більшості корів спостерігався помірний рівень чутливості до ВТП.

Всього за 6-разового проведення ВТП кількість досліджень склала 2045, за яких виявлено тварин з низьким рівнем чутливості до ППДТС 276 (13,50%), з помірним – 161 (7,87%) і 1608 (88,63%) – виявились нечутливими; досліджено в РМК відповідно 276, 161 і 1077 голів. Ми не виявили кореляції рівня чутливості організму корів до ВТП і РМК: з 276 гол. з низьким рівнем чутливості до ВТП реагувало в РМК інтенсивністю в +++ плюси 3 (1,09%), в ++ плюси – 16 (5,80%), в + плюс – 60 (21,74%) і негативно – 197 (70,86%); з 161 гол. з помірним рівнем чутливості до ВТП реагувало в РМК відповідно – 1(0,62%), 10 (6,21%), 44 (27,33%) і 106 (65,4%); з 1077 нечутливих до ВТП корів реагувало в РМК відповідно 4 (0,37%), 40 (3,71%), 114 (10,50%) і 919 (85,33%).

Вибіркові дослідження корів в РМК ми проводили з метою відбору тварин для діагностичного забою і визначені терміну прояву реакції. У різні терміни досліджень первинно виявлено 190 корів з різним рівнем прояву РМК, з яких 6 (3,16 %) реагувало інтенсивністю в +++ плюси, 38 (20,0%) – в ++ плюси і 146 (76,84%) – в + плюс. Результати вивчення інтенсивності прояву РМК у первинно реагуючих корів представлені в табл. 3.

З числа первинно реагуючих в РМК корів, виявлених 18.11.10 р., інтенсивність прояву реакції в +++ виявлена у 5, в ++ - у 23 і в + - у 52. З 5 гол., які реагували позитивно (+++), одна була забита з діагностичною метою, у 4 гол., повторно досліджених через 98 діб, інтенсивність прояву реакції знизилась до рівня в ++ у 1 (20,0%), до рівня в + - у 1 (20,0%) і до ареаактивності – у 2 (40,0%); через 285 і 324 доби реакція не проявилась. З 23 гол., які реагували сумнівно (++) , при повторному дослідженні через 98 діб інтенсивність прояву реакції збереглась на початковому рівні у 1 (4,35%), знизилась до рівня в + - у 2 (8,70%) і до ареаактивності – у 20 (86,96%); через 285 діб - збереглась на початковому рівні у 1 (4,35%), знизилась до рівня в + - у 3 (13,04%) і до ареаактивності – у 19 (82,61%); через 324 доби збереглась на початковому рівні у 1 (4,35%), знизилась до рівня в + - у 3 (13,04%) і до ареаактивності – у 19 (82,61%). З 52 гол., у яких інтенсивність прояву РМК була в +, при повторному дослідженні через 98 діб інтенсивність прояву реакції збереглась на початковому рівні у 8 (15,38%), підвищилась до рівня в ++ - у 6 (11,54%) і в +++ - у 1 (1,92%) і знизилась до ареаактивності – у 37 (71,15%); через 285 діб - збереглась на початковому рівні у 6 (11,54%), підвищилась до рівня в +++ у 1 (1,92%) і знизилась до ареаактивності – у 45 (86,54%); через 324 доби збереглась на початковому рівні у 9 (17,31%), підвищилась до рівня в ++ - у 2 (3,85%) і до ареаактивності – у 41 (78,85%).

Таблиця 3.

Тривалість інтенсивності прояву РМК при повторних дослідженнях корів, сенсibilізація організму яких обумовлена АМБ .

Дата дослідження, голів	Реагувало в РМК первинно		з них реагувало в РМК повторно, гол./%								
			24.02.11			30.08.11			8.10.11.		
	ІПР	гол.	+	++	+++	+	++	+++	+	++	+++
18.11.10 324	+	52	8 15,38	6 11,54	1 1,92	6 11,54	-	1 1,92	9 17,31	2 3,85	-
	++	23	2 8,70	1 4,35	-	3 13,04	1 4,35	-	3 13,04	1 4,35	-
	+++	5	1 20,0	1 20,0	-	-	-	-	-	-	-
24.02.11 316	+	31	-	-	-	3 9,68	2 6,45	-	3 9,68	-	-
	++	10	-	-	-	1 10,0	-	-	1 10,0	-	-
	+++	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
30.08.11 300	+	24	-	-	-	-	-	-	7 29,17	3 12,50	-
	++	3	-	-	-	-	-	-	-	1 33,33	-
	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Умовні позначки: ІПР – інтенсивність прояву реакції.

З 316 корів, досліджених 24.02.11 р., реагувало в РМК первинно з інтенсивністю прояву в +++ 1, в ++ - 10 і в + - 31 гол. При повторному дослідженні корів з інтервалом 187 і 226 діб у 1 гол., первинно реагуючої в ++, інтенсивність прояву реакції знизилась до ареаактивності; з 10 гол., первинно реагуючих в ++, інтенсивністю прояву реакції через 187 діб знизилась до рівня в + - у 1 (10,0%) і до ареаактивності – у 9 (90,0%) і через 226 діб = знизилась до рівня в + - у 1 (10,0%) і до ареаактивності – у 9 (90,0%) ; з 31 гол., у яких

інтенсивність прояву РМК була в +, при повторному дослідженні через 187 діб збереглась на початковому рівні у 3 (9,68%), підвищилась до рівня в ++ - у 2 (6,45%) і знизилась до ареаактивності – у 26 (83,87%) і через 226 діб збереглась на початковому рівні у 3 (9,68%) і знизилась до ареаактивності – у 28 (90,32%).

З 300 корів, досліджених 30.08.11 р., реагувало в РМК первинно з інтенсивністю прояву в ++ - 3 і в + - 24 гол. При повторному дослідженні через 226 діб з 3 гол., первинно реагуючих в ++, інтенсивність прояву реакції збереглась на початковому рівні у 1 (33,33%) і знизилась до ареаактивності – у 2 (66,67%); з 24 гол., у яких інтенсивність прояву РМК була в +, при повторному дослідженні збереглась на початковому рівні у 7 (29,17%), підвищилась до рівня в ++ - у 3 (12,50%) і знизилась до ареаактивності – у 14 (58,33%).

Дослідження показали, що у більшості реагуючих в РМК корів з часом інтенсивність прояву реакції згасає до повної ареаактивності до туберкуліну. Тенденція згасання інтенсивності прояву РМК при повторних дослідженнях найбільш чітко проявляється у позитивно (+++) і сумнівно (++) реагуючих корів, тоді як за низького рівня прояву (+) і у ареаактивних (-) корів інтенсивність прояву інколи зростає.

Висновки.

1. Відсутність характерних для туберкульозу патологоанатомічних змін в туші і органах реагуючих на ВТП корів, забитих з діагностичною метою, негативні результати бактеріологічного дослідження і виділення з біоматеріалу атипичних мікобактерій при первинній постановці діагнозу на туберкульоз дають підставу вважати неспецифічною природу сенсibilізації організму до туберкуліну, а чутливість корів до ППДТС визнати як стан параалергії організму до туберкуліну.

2. За стану параалергії, обумовленої сенсibilізацією організму АМБ, відсоток позитивно (+++) реагуючих в РМК корів коливається межах 0,32 – 1,54; сумнівно (++) реагуючих – в межах 2,0 – 7,10 і з низьким рівнем чутливості (+) – в межах 13,67 – 16,04; в числі первинно реагуючих в РМК корів інтенсивність прояву реакції в +++ плюси виявлена у 3,16%, у ++ = у 20,0% і в + - у 76,81%, що вказує на низький рівень сенсibilізації.

3. При сенсibilізації організму АМБ не виявлено кореляції рівня чутливості організму корів до ВТП і РМК: з числа корів з низьким рівнем чутливості до ВТП реагувало в РМК позитивно 1,09%, сумнівно – 5,80%, з низьким рівнем прояву (+) – 21,74% і виявились ареаактивними – 70,86%; з числа корів з помірним рівнем чутливості до ВТП – реагувало відповідно 0,62%, 6,21%, 27,33% і виявились ареаактивними 65,4%; з числа корів нечутливих до ВТП реагувало в РМК позитивно 0,37%, сумнівно – 3,71% з низьким рівнем прояву – 10,5% і виявились ареаактивними – 85,33%.

4. У більшості реагуючих в РМК корів, сенсibiliзація організму яких обумовлена АМБ, інтенсивність прояву реакції з часом згасає до повної ареактивності до туберкуліну. Цей феномен найбільш чітко проявляється у корів, які первинно реагували в РМК позитивно і сумнівно.

Список літератури

1. Буряк Є.І. Імунодіагностика туберкульозу великої рогатої худоби. Одеса: ВМВ, 2010.-248 с.

2. Буряк Е.І., Лісовий І.П. Реакція мононуклеарів крові на туберкулін *in vitro* (РМК) в комплексі заходів з профілактики і ліквідації туберкульозу великої рогатої худоби. Методичні рекомендації. – Одеса. Друкарський дiм. 2006. – 36 с.

Особенности проявления реакции мононуклеаров крови на туберкулин *in vitro* (РМК) при сенсibiliзации организма коров атипичными микобактериями.

Буряк Е.И., Лисовой И.П.

*При параалергии к туберкулину у коров, сенсibiliзация организма которых обусловлена атипичными микобактериями (АМБ), наблюдается низкий процент положительных (0,32 - 1,54) и сомнительных (2,0 - 7,10) результатов реакции мононуклеаров крови на туберкулин *in vitro* (РМК) и снижение интенсивности ее проявления при повторных исследованиях.*

Ключевые слова: туберкулез, туберкулин, РМК, ПТП, АМБ.

Features manifestation reaction mononuclear blood cells on tuberkulin *in vitro* (RMBC) for sensitization of the organism cows atypical mycobacterias.

Buryak E.I., Iisoviy I.P.

*The condition of paraallergic to tuberculin in cattle caused by sensitization with atypical mycobacteria (АМБ), accompanied by a low percentage of positive (0.32 - 1.54) and questionable (2.0 - 7.10) reaction to tuberculin blood mononuclear cells *in vitro* (RMBC) and a decrease in the intensity of its manifestation in repeated studies.*

Key words: tuberculosis, tuberculin, RMBC, АМБ.