УДК 619:576.8.078:616-025

* **Лысенко А.П.,** д.вет. н., профессор ©
** **Власенко В.В.,** д.б. н., профессор
*** **Власенко І.Г.,** д.мед. н., доцент
**РНИУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н.Вышелесского НАН Беларуси», г. Минск,Республика Беларусь;*
**Винницкий национальный аграрный университет;*
****Винницкийторгово-економическийинститут КНТЕУ*

ВЫДЕЛЕНИЕ ИЗМЕНЕННЫХ ФОРМ МИКОБАКТЕРИЙ ИЗ КРОВИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА ПОСЛЕ ВВЕДЕНИЯ ТУБЕРКУЛИНА

У даній статті розглядається одна із причин реагування на туберкулін великої рогатої худоби в благополучних стадах та шляхи прискореного виявлення латентної туберкульозної інфекції у тварин з використанням середовища ВКГ і моноспецифічного набіру антисироваток.

Ключові слова: *туберкульоз, середовище ВКГ, моноспецифічні антисироватки, алергія.*

В течение продолжительного периода изучения возбудителей туберкулеза млекопитающих накопились сведения о значительном полиморфизме микобактерий. Однако из-за трудностей культивирования, и обнаружения измененных форм возбудителя туберкулеза эти данные не находили достойного практического применения. Благодаря исследованиям В.В.Власенко (1998) и разработке питательной среды ВКГ появилась возможность культивирования и обнаружения возбудителя туберкулеза со сниженной жизнеспособностью и ферментативной активностью [1]. Установлено, что на питательной среде ВКГ микобактерии туберкулеза проходят несколько морфологически отличающихся стадий развития – фильтрующиеся формы, шароподобные, амебоподобные образования, кокки и полиморфные палочки, не окрашивающиеся по Циль-Нильсену. При неблагоприятных условиях эти структуры могут образовывать протопласты или гигантские клетки, а при благоприятных - синтезировать подобие воско-липидной оболочки, что делает их заметными при микроскопии в виде диплококков.

Особый интерес представляет получение роста на среде ВКГ препаратов, инактивированных автоклавированием и содержащих до 0,5% фенола. Установлено, что автоклавированная культуральная жидкость M.bovis 8 давала на среде ВКГ рост мелких восковидных колоний. В мазках обнаруживали единичные, удлиненные и «надорванные» рубиново-красные палочки на фоне синих полиморфных палочек и кокков [2]. Подобный рост давали все исследованные препараты туберкулинов для млекопитающих отечественных и зарубежных производителей. Таким образом, действие высоких температур в режиме автоклавирования не оказывает полного стерилизующего воздействия на

© Лысенко А.П., Власенко В.В., Власенко І.Г., 2011

микобактерии, содержащиеся в культуральной жидкости M.bovis 8. Целью наших исследований было изучение вероятности инфицирования животных жизнеспособными структурами, находящимися в туберкулине при его диагностическом введении животным, с использованием питательной среды ВКГ и диагностического набора антисывороток в пластинчатой реакции агглютинации.

Материалы и методы.

Объектом исследования послужилПД туберкулин для млекопитающих производстваКурской биофабрики серии 29, который после инкубирования в смеси со стимулятором роста в термостате при 37^0С в течении 48 часов, высевали в чашки Петри со средой ВКГ. Рост на среде ВКГ наблюдали на 2 – 7 сутки во всех пробах в виде сплошного восковидного налета. При окраске по Циль-Нильсену преобладали синие палочки и кокки, встречались также красные палочки с синей зернистостью, синие палочки с красной зернистостью и другие морфологические формы. В мазках приготовленных из 25 дневной культуры, выявлялись классические по морфологии палочки. При пересеве полученных культур со среды ВКГ на среду Гельберга через 45 суток был получен характерный рост для микобактерий M.bovis. В мазках окрашенных по Циль-Нильсену, обнаружены тонкие, нежные палочки ярко-розового цвета на фоне синих палочек и кокков.

Не менее важный интерес представили результаты биопробы на пяти морских свинках. Морским свинкам ввели суспензию микроорганизмов снятых со среды ВКГ после посева туберкулина, приготовленную на минеральном масле в дозе по 1 мл подкожно. На протяжении двух месяцев вели ежедневное наблюдение за состоянием здоровья морских свинок. К концу второго месяца провели туберкулиновую пробу. С этой целью им вводили 0,1 мл стандартного раствора ППД туберкулина для млекопитающих Курской биофабрики серии 29 с активностью 100 МЕ. Учет реакции проводили через 24 часа.

Для выяснения возможного влияния элементов содержащихся в туберкулине, способных к репродукции на организм животных провели опыт на 10 коровах различного возраста и физиологического состояния. Для этого от этих коров отобрали кровь до и после туберкулинизации (через 72 часа), и провели посев крови на питательную среду ВКГ с исследованием в реакции агглютинации.

В результате проведенного испытания был получен следующий результат

Таблица 1.

Результат испытания на морских свинках.

№п.п	Вес свинок до заражения, г.	Вес свинок после заражения, г.	Результат туберкулиновой пробы, размер эритемы в мм.
1	720	700	22
2	310	285	27
3	350	330	0
4	370	345	0
5	380	354	0

Таблица 2.

Результат испытания на коровах

№ п.п.	Инвентарный №.	До туберкулинизации		После туберкулинизации	
		Рост на среде ВКГ	РА с а.с.* M.bovis	Рост на среде ВКГ	РА с а.с M.bovis
Дойные					
1	6293	-	-	+	+++
2	6274	-	-	-	-
Сухостойные					
3	6201	-	-	-	-
4	6680	-	-	-	-
5	7957	-	-	+	++++
6	6574	-	-	-	-
Нетели					
7	6153	-	-	+	+++
8	6189	-	-	+	+++
9	6114	-	-	-	-
10	6248	-	-	-	-
Итого		**-**	**-**	**4 (40%)**	**4 (40%)**

Примечание:
А.с.* - антисыворотка

Из таблицы №1 видно, что две морские свинки, зараженные суспензией микроорганизмов снятых со среды ВКГ после посева туберкулина, приготовленной на минеральном масле в дозе по 1 мл подкожно были сенсибилизированы, и при введении им диагностической дозы туберкулина на месте введения образовалась четко выраженная эритема.

Из таблицы №2 видно, что при посеве крови крупного рогатого скота, взятой до туберкулинизации, роста на среде ВКГ и положительных реакций агглютинации не наблюдалось. В то же время при исследовании проб крови от этих же коров через 72 часа после введения диагностической дозы туберкулина, на среде ВКГ наблюдался характерный рост в виде сплошного серо-белого восковидного налета и в виде отдельных колоний S-формы, блестящих, серо-белого цвета. В пластинчатой реакции агглютинации, с применением моноспецифической сыворотки к микобактериям M.bovis 8, с выросшими культурами был получен четкий крупнозернистый агглютинат, с полным просветлением жидкости, с оценкой:(++++).

После туберкулинизации, у 40% из числа исследованных короов был обнаружен рост на среде ВКГ, что свидетельствует о том, что, возможно, плановое поголовное аллергическое исследование животных с применением ППД туберкулина является одной из причин персистирования возбудителя туберкулеза у животных и постоянного выделения реагирующего скота в благополучных стадах.

Кроме того, такие результаты показывают вероятность существования адаптивных форм возбудителя туберкулеза, устойчивых к действию высокой температуры и свидетельствуют о возможности применения среды ВКГ для

получения культур этих форм из различных биологических объектов, в том числе и из крови животных.

Выводы:

1. Адаптивные формы туберкулеза устойчивы к воздействию высоких температур, сохраняя свою жизнеспособность.
2. Плановое поголовное аллергическое исследование животных с применением ППД туберкулина, возможно, является одной из причин персистирования возбудителя туберкулеза у животных.
3. Среда ВКГ и диагностический набор антисывороток с высокой степенью достоверности определяет наличие адаптивных форм возбудителя туберкулеза в различных биологических объектах.

Литература

1. Власенко В.В. Микробиология туберкулеза в фокусе проблем современности. – Винница: «Гипанис». – 1999 – 224 с.
2. А.П. Лысенко, В.М. Безгин, В.Е. Козлов, А.Н. Притыченко. Получение высокоактивного и специфичного аллергена для массовой диагностики туберкулеза у крупного рогатого скота с помощью ультрафильтрации // Ветеринарная медицина Беларуси. – 2001-2002. – №4-1. - С. 12-14.

Summary

In given article rates one of the sides of the reasons of occurrence of reacting cattle in safe herds, and as ways of the accelerated revealing of the latent tubercular infection at animals with application of VKG environment and a monospecific set of antiwheys is considered.

Key words: *tuberculosis, medium VKG, monospecificantiwheys, allergy.*

Рецензент – д.б.н., проф. Маслянко Р.П.