

TO THE QUESTION OF VALIDATION OF THE METHODS FOR INTRAVITAL DIAGNOSTICS OF BOVINE LEUCOSIS

Busol V.O., Melnichuk S.D., Blazhko A.P., Kozachenko O.I. National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv

On the basis of literary information and our own researches the comparative estimation of characteristics of methods for diagnostics of bovine leucosis has been conducted. The variety of factors, which influence the diagnostic value of AGID, ELISA and PCR have been set. The necessity of careful validation of diagnostic test-system before introduction in practice has been shown.

УДК 619:616.98.579.873.21

ЕКОЛОГІЯ *MYCOBACTERIUM BOVIS*

Бусол В.О., Шевчук В.М., Мазур В.М.

Національний університет біоресурсів і природокористування України, м. Київ

*У статті наведено дані аналітичних та експериментальних досліджень з екології *M. bovis*. Показано поліпатогенність даного виду мікобактерій щодо ссавців, виживання його в організмі живих істот різних родин. Встановлено, що однією з екологічних ніш мікобактерій туберкульозу є вільноживучі ондатри. Виділений штамп «Ондатра» вірулентний для морських свинок, кролів і курей.*

Знання біологічних властивостей збудників туберкульозу епізоотологія використовує при оцінці етіології, патогенезу та епізоотичного процесу інфекції та враховує при формуванні та проведенні протиепізоотичних заходів. Такі епізоотологічні поняття як «резервуар збудника» і «біологічний господар патогену» безпосередньо пов'язані з екологією – наукою, яка вивчає взаємовідносини мікроорганізмів з біотичним й абіотичним середовищами, які обумовлюють їх виживання, розмноження, еволюційний розвиток і патогенність [1, 2, 7].

Аналіз монографічних публікацій ХХ [3, 11, 16, 17, 18] і ХХІ [6] століть вказує на відсутність комплексного екологічного підходу до висвітлення епізоотологічних характеристик туберкульозу великої рогатої худоби. Тільки в монографії [17] присвячено цьому питанню невеликий розділ.

У зв'язку з цим ми ставили за мету вивчити екологію *M. bovis* на основі узагальнення матеріалів публікацій і результатів власних досліджень щодо встановлення природного резервуару патогенних мікобактерій серед ссавців внутрішніх водоймищ України.

Матеріал і методи досліджень. У дослідженнях використовували дані наукових публікацій щодо екології та мінливості *M. bovis*, ондатр внутрішніх водоймищ, як потенційних резервуарів патогенних мікобактерій, а також лабораторних тварин (морські свинки, кролі і кури).

Основними методами досліджень були: аналітичний, епізоотологічний, бактеріологічний, біологічна проба.

Результати й обговорення досліджень. Загальноновизнаним основним господарем *M. bovis* є велика рогата худоба. Всебічний аналіз літературних джерел щодо патогенності *M. bovis* для людини й інших видів тварин вказує на поліпотенційність паразита та його здатність паразитувати в організмі різних видів ссавців і резервуватись серед деяких інших хребетних і безхребетних істот, які населяють земну кулю. Зокрема, встановлено розвиток туберкульозного процесу при спонтанному інфікуванні цим видом мікобактерій людей, мавп, овець, кіз, козуль, коней, свійських і диких свиней, слонів, верблюдів, оленів, газелей, маралів, кролів, котів, собак, леопардів, лам, тигрів, ховрахів, лисиць, норок, тхорів, хом'яків, їжаків, морських свинок, домашньої птиці [8, 11, 15, 17, 18].

Таблиця – Сприйнятливість тварин до різних видів патогенних мікобактерій

Сприйнят- ливість (умовні одиниці)	Мікобактерії, види тварин		
	<i>M. bovis</i>	<i>M. tuberculosis</i>	<i>M. avium</i>
5	люди-дикуни, мавпи, морські свинки, кролі, кажани, норки, тхори, хом'яки	люди-дикуни, мавпи, морські свинки, хом'яки	
4	велика рогата худоба, буйволи, кози, свині, коти		кролі
3	слони, вівці, верблюд	слони	домашня птиця
2	сучасна людина, коні, осли, мули, собаки, миші	сучасна людина, свині, собаки, миші	морські свинки, кози, вівці, свині, коти, тхори
1	щури, домашня птиця	кролі, кажани, велика рогата худоба, буйволи, кози, вівці, верблюд, домашня птиця, коні, осли, мули, коти, норки, тхори, щури	люди-дикуни, мавпи, кажани, сучасна людина, велика рогата худоба, буйволи, верблюд, коні, осли, мули, хом'яки, миші
0,5			щури
0			собаки

Серед мікобактерій, патогенних для людини, домашніх ссавців та птиці, найбільш високу патогенність мають мікобактерії бичачого виду. На ці особливості дослідники звернули увагу ще в 20–30-ті роки ХХ століття. Уже в 1958 році *J. Francis* [19] публікує матеріали багаторічної праці щодо систематизації тварин за чутливістю до мікобактерій туберкульозу (*M. bovis*, *M. tuberculosis*, *M. avium*), а через два роки *A. G. Karlson* [20] вносить деякі доповнення до цієї класифікації. В кінці ХХ століття *Ш.О. Тоен* [15] друкує зведені дані щодо основних показників сприйнятливості різних видів тварин до *M. bovis*, *M. tuberculosis* і *M. avium* в умовних одиницях від 5 і менше. Дані таблиці характеризують відмінності у сприйнятливості різних видів тварин до хвороботворних мікобактерій.

Дані засвідчують, що за патогенністю на першому місці знаходиться, *M. bovis*, на другому – *M. tuberculosis*, на третьому – *M. avium*. Бичачий вид мікобактерій еволюційно найбільш адаптувався паразитувати в організмах теплокровних. У цих мікобактеріях вірулентність (інвазивність) і патогенні властивості досягли найвищого ступеня [9]. Дослідники вважають, що менш виражена сприйнятливості різних видів тварин до *M. tuberculosis* вказує на перебування цього паразита на більш низькому щаблі еволюції.

Еволюційний процес у царстві хвороботворних мікобактерій продовжується в напрямку підвищення паразитизму та розширення кола сприйнятливих біологічних об'єктів як серед ссавців, так і холоднокровних, безхребетних, комах та інших живих істот. Це обумовлюється міграцією мікобактерій в антропогенній і дикій фауні, функціонуванням трофічних зв'язків на різних рівнях біоценозу. В харчових ланцюгах дикої фауни мікобактерії туберкульозу мігрують від трав'янистих до хижаків, птахів, безхребетних, в абіотичне середовище і, як наслідок, їх виділяють з торфу, комбікормів, силосу, ґрунту вигульних майданчиків неблагополучних щодо туберкульозу ферм великої рогатої худоби [12]. Мікобактерії, виділені від прісноводних риб деяких водойм, які за біологічними властивостями мають схожість з мікобактеріями туберкульозу теплокровних тварин та людини, а також з атипovими міко-

бактеріями, дали підставу [5] стверджувати, що прісноводні риби в природі можуть бути екологічною нішою мікобактерій туберкульозу.

Однією з екологічних ніш для мікобактерій туберкульозу серед безхребетних є дощові черв'яки та личинки травневого хруща [14]. Циркуляції мікобактерій туберкульозу сприяють деякі види іксодових і аргасових кліщів. На можливість трансмісивного шляху передачі мікобактерій вказує А.А. Поляков [10]. За даними Я.А. Благодарного [1] в організмі заражених кліщів мікобактерії людського виду зберігаються та не знижують своєї вірулентності більше 2 років, а пташиного – 5 років. Особливістю такого природного резервуару мікобактерій є те, що останні передаються через усі фази розвитку кліщів у процесі метаморфозу – від личинок до статевозрілої форми. За даними Е.Н. Павловського (цит. за [17]) мікобактерії туберкульозу можуть перебувати в тілі багатьох комах (чорних тарганів, постільного клопа, борошняного хруща, мух, бджолоїної молі та ін.).

При вивченні екології збудника туберкульозу великої рогатої худоби з позицій еволюції формування паразитичних властивостей мікобактерій було звернуто увагу на внутрішні водойми з їх біоценозом. Природні водоймища надзвичайно багаті невідомими і потенційно патогенними для наземних тварин мікроорганізмами, що мають унікальні механізми адаптації в обох середовищах. У досліджах О. В. Бухарина, В. Ю. Литвина [2] доведено, що зоопланктон (дафнії, циклопи) та бентосні тварини (кільчасті черви, молюски, личинки комах) забезпечують циркуляцію збудника псевдотуберкульозу у водній екосистемі та підтримують його чисельність на більш високому рівні, ніж у ґрунті або воді. Дослідники вважають, що навіть вищі водяні рослини здатні «інфікуватися» через кореневу систему та зберігати патоген у вегетативних системах.

Важливими для розуміння екології мікобактерій і епізоотологічного значення водоймищ є дослідження групи авторів [7]. Ними доведено, що у личинок кровосисних комарів спостерігається трансфазова передача атипичних мікобактерій, а самі вони є добрим середовищем для розвитку та збереження мікобактерій у природі. Зважаючи на те, що личинки цих комах розвиваються у водоймах, розташованих поблизу тваринницьких приміщень і на пасовищах, інфіковані личинки через воду можуть потрапляти в організм тварин і птахів. Ці дані підтверджують пізніші повідомлення про роль водоймищ в епізоотичному процесі туберкульозу великої рогатої худоби та виділення патогенних і атипичних мікобактерій з проб води, взятих зі ставків, канав і калюж та використаної для напування тварин [4].

Нас цікавила участь інших біонтів водоймищ у підтримці епізоотичного неблагополуччя сільськогосподарських тварин щодо туберкульозу. Епізоотологічні дослідження [13] орієнтували нас на доцільність пошуку природного резервуару *M. bovis* серед ондатр.

У виловлених ондатр при проведенні патологоанатомічного розтину не виявлено патологічних ознак хвороб. У той же час, при висіві суспензії внутрішніх органів тварини на щільне живильне середовище виявлено первинні ознаки росту мікобактерій на 50 добу. Зрілі колонії мікроорганізмів мали дисгонічний тип росту, кулясту форму, колір слонової кістки з гладенькою поверхнею.

При мікроскопії отриманого ізоляту відмічали прямі, короткі, товсті, рубіново-червоні палички, розташовані поодинокі або скупченнями. Фенотипові ознаки мікобактерій були характерні для *M. bovis*.

Для встановлення виду отриманого ізоляту поставлено біопробу на кролях, курях і морських свинках. Доза та шлях введення культури відповідали вимогам загальноприйнятої методики. Заражені тварини загинули або були вимушено евтаназовані: кролі на 9–10 доби, кури на 21–22, а морські свинки – 50–125 доби від початку дослідження. У кролів інфекційний процес розвивався з ознаками сепсису; у курей – виснаженням, викривленням кильової кістки, туберкульозним ураженням печінки і селезінки; у морських свинок – формуванням поодиноких туберкул на печінці, пневмонією, ураженням шкіри та розвитком некрозу на місці введення суспензії.

Отриманні дані свідчать про те, що ондатри, які заселяють прісні водоймища України можуть приймати активну участь в екологічних процесах збудника туберкульозу, виступаючи у формі його природного резервуару.

Висновки. 1. Екологічними особливостями *M. bovis* є: відсутність абсолютності у спеціалізації до паразитування в організмі окремого виду тварин; велика кількість сприйнятливих тварин; здатність циркулювати в різновидових популяціях тварин; використання для збереження виду біотичних і абіотичних середовищ; багатовекторність екологічних ніш; формування асимптоматичного носійства у деяких видів тваринного світу. 2. Багатофакторність екологічних характеристик *M. bovis* не сприяє ефективній реалізації довгострокових національних, регіональних і глобальних програм з ліквідації туберкульозу. 3. Вперше виявлена екологічна ніша хвороботворних мікобактерій у диких ссавців водної фауни – ондатр. Виділений ізолят має універсальні патогенні властивості для тварин і птиці, рекомендованих для диференціації видів мікобактерій – морські свинки, кролі і кури, що не уможливило знайти для нього нішу в класифікаторі мікобактерій.

Список літератури

1. Благодарний, Я.А. Источники туберкулёза и меры профилактики [Текст] / Благодарный Я.А. — Алма-Ата : Казахстан, 1980. — 245 с.
2. Бухарин, О.В. Патогенные бактерии в природных экосистемах [Текст] / Бухарин О.В., Литвин В.Ю. — Екатеринбург, 1997. — 302 с.
3. Вишне夫斯基, П.П. Туберкулёз крупного рогатого скота [Текст] / Вишне夫斯基 П.П. — М. : Сельхозгиз, 1937. — 248 с.
4. Власенко, О.А. Проблеми і перспективи оздоровлення неблагополучних господарств Сумської області від туберкульозу великої рогатої худоби [Текст] / Власенко О.А. // Вет. медицина України. — 2007. — № 7. — С. 13–14.
5. Григорьев, М.М. Ветеринарно-санитарная оценка пресноводных рыб [Текст] / Григорьев М.М. // Современные проблемы зоонозных инфекций. — М., 1981. — С. 82.
6. Донченко, А.С. Диагностика туберкулёза крупного рогатого скота [Текст] / Донченко А.С., Овдиенко Н.П., Донченко Н.А. — Новосибирск, 2004. — 309 с.
7. Поляков, В.А. Трансфазовая передача атипичных микобактерий у кровососущих комаров [Текст] / Поляков В.А., Гольшевская В.И., Ермакова Р.М. // Сб. науч. тр. Всерос. НИИ вет.-сан. гигиены и экологии. — 1995. — Т. 97. — С. 3–9.
8. Матвеев, В.Н. Малообследуемые источники туберкулёзной инфекции [Текст] / Матвеев В. Н. // Вопросы туберкулёза. — М., 1929. — № 8. — С. 3–7.
9. Модель, Л.М. Биология туберкулёзных микобактерий и иммунология туберкулёза [Текст] / Модель Л.М. — М., 1958. — 299 с.
10. Поляков, А.А. Ветеринарно-санитарные мероприятия в системе оздоровления животных от туберкулёза и бруцеллёза [Текст] / Поляков А.А. // Состояние и перспективы науч. исслед. по диагностике, профилактике туберкулёза и бруцеллёза и меры борьбы с этими болезнями с.-х. животных. — М., 1980. — С. 16.
11. Ротов, В.И. Туберкулёз сельскохозяйственных животных [Текст] / Ротов В.И., Кокуричев П.И., Савченко П.Е. — К. : Урожай, 1973. — 384 с.
12. Румачик, И.И. Динамика аминокислотного состава питательных сред при культивировании микобактерий [Текст] / Румачик И.И., Литвяк В.С. // Санаторное лечение больных туберкулёзом. — Минск, 1982. — С. 121–129.
13. Ситнік, В.А. Епізоотологія та профілактика туберкульозу великої рогатої худоби в сучасних умовах ведення тваринництва [Текст] : автореф. дис. ... канд. вет. наук : 16.00.08 / Ситнік, В.А. — К., 2003. — 21 с.
14. Солонко, А.А. Характеристика микобактерий, выделенных от свиней с туберкулёзоподобными изменениями [Текст] / Солонко А.А. // Санаторное лечение больных туберкулёзом. — Минск, 1982. — С. 138–141.
15. Тоен, Ш.О. Туберкулёз у диких и домашних млекопитающих [Текст] / Тоен Ш.О. // Туберкулёз. Патогенез, защита, контроль : пер. с англ. / Под ред. Барри Р. Блума. — М. : Медицина, 2002. — С. 167–173.
16. Туберкулёз животных и меры борьбы с ним [Текст] / Кассич Ю.Я. [и др.] ; под ред. Кассича Ю.Я. — К. : Урожай, 1990. — 304 с.
17. Тузова, Р.В. Туберкулёз сельскохозяйственных животных и птицы [Текст] / Тузова Р.В. — Минск : Ураджай, 1983. — 263 с.
18. Юсковец, М.К. Туберкулёз сельскохозяйственных животных и птиц [Текст] / Юсковец М.К. — Минск. 1963. — 451 с.
19. Fracis, J. Tuberculosis in animals and man: a study in comparative pathology [Text] / Fracis J. — London : Cassell & Co Ltd., 1958. — P. 145–162.
20. Karlson, A.G. Tuberculosis caused by human, bovine and avian tubercle bacilli in various animals [Text] / Karlson A.G. // Proc. U. S. Live-stock Sanitary Assoc. — 1960. — P. 194–201.

ECOLOGY OF *MYCOBACTERIUM BOVIS*

Busol V.O., Shevchuk V.M., Mazur V.M.

National University of Life and Natural Environment of Ukraine, Kyiv

The article represents the analytical and experimental studies on M. bovis ecology. M. bovis pathogenicity for many mammalian has been defined. The survival ability of the causative agent in the bodies of animals of different families has been shown. It has been found that one of ecological niches of mycobacterium tuberculosis is wildlife muskrats. Isolated M. bovis strains called «Muskrat» possess high virulence for guinea pigs, rabbits and chickens.