

КУЛЬТУРАЛЬНО-БИОХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ВЫДЕЛЕННЫХ КУЛЬТУР МИКОБАКТЕРИЙ ОТ ДОМАШНЕЙ И ЗООПАРКОВОЙ ПТИЦЫ

Гологурская О.И.¹

Национальный научный центр «Институт экспериментальной и клинической ветеринарной медицины», г. Харьков

Приведены результаты культурально-морфологических и биохимических исследований выделенных культур микобактерий от домашней и зоопарковой птицы.

Несмотря на то, что Украина с 1972 года считается благополучной по туберкулезу птиц, наши исследования, а также данные других ученых [1-4] показывают случаи выявления туберкулеза птиц. Это в первую очередь связано с постоянной циркуляцией возбудителя в природе. Кроме того, *M. avium* свойственна значительная устойчивость к действию различных факторов внешней среды. Возбудитель туберкулеза птиц длительное время может сохраняться в почве и воде, не теряя при этом жизнеспособности и патогенности. Контаминированные выделениями больных птиц почва, выгулы, помещения, корма и вода играют большую роль в распространении этой инфекции. Так, микобактерии туберкулеза *M. avium*, попадая с секретами и экскретами во внешнюю среду, могут оставаться жизнеспособными довольно длительное время, а попадая в организм животных и птиц алиментарным путем, вызвать новые случаи заболевания [5,6,7,8].

Мало изучены вопросы прижизненной диагностики туберкулеза зоопарковых птиц, несмотря на его значительное распространение среди диких, экзотических и декоративных птиц, особенно содержащихся в условиях неволи [9].

Микобактерии, вызывающие туберкулез птиц (*M. avium*), представляет собой тонкие, прямые или слегка изогнутые кислотоустойчивые палочки, иногда ветвящиеся, нефотохромогенные, относятся к III группе по классификации Раньона. С помощью современных методов электронной микроскопии подтверждено наличие развитого липидного покрова, обволакивающего отдельные микобактерии и их группы. Микобактерии *M. avium*-аэробы, не способны к кордообразованию или обладают этой способностью в незначительной мере, что больше характерно для вирулентных штаммов [10,11].

Для постановки диагноза на туберкулез у птиц применяют эпизоотологический, клинический, аллергический, патологоанатомический и бактериологический методы исследований. Как дополнительные методы могут быть использованы серологический и молекулярно-генетический (ПЦР).

Необходимо изучить и тот факт, что *M. avium* циркулирует среди дикой и синантропной птицы, которая фуражирует на территориях и в поме-

¹ Научный руководитель — Завгородний А.И., профессор, чл.-кор. НААН Украины

шениях где содержится домашняя и зоопарковая птица, а также существует большое количество факторов передачи, которые обеспечивают поддержание этого возбудителя, что создаёт постоянную угрозу для заражения восприимчивых к туберкулезу животных и птиц. Особенно это касается личных подсобных хозяйств граждан, в которых домашняя птица содержится от 1 до 3 лет и не исследуется на туберкулез, а данные ветеринарной отчетности по этим вопросам отсутствуют.

Определение вида выделенной культуры микобактерий туберкулеза имеет не только теоретическое, но и практическое значение: для выявления источников инфекции, проведения санитарно-профилактических мероприятий и т. п.

Целью наших исследований было изучить культурально-морфологические и биохимические свойства у выделенных культур микобактерий от домашней и зоопарковой птицы.

Материалы и методы. Аллергическое исследование на туберкулез проводилось в личных подсобных хозяйствах граждан и Харьковском зоопарке.

Для туберкулинизации использовали туберкулин очищенный (ППД) для птиц. Аллерген вводили одноразовыми инсулиновыми шприцами в левую сережку в дозе 0,1 см³. Учет аллергических реакций проводили через 36 часов. Крове-капельную реакцию агглютинации (ККРА) путем нанесения на обезжиренное предметное стекло 15 мкл антигена *M. avium* и 30 мкл пробы крови, отобранных с подкрыльцовой вены от реагирующей на туберкулин птицы. Реакцию учитывали в течении 2-3 минут.

Кроме того, отбирали образцы помета от птицы содержащейся в личных подсобных хозяйствах граждан Дергачевского района Харьковской области, а также разных видов зоопарковой птицы.

Отобранные пробы помета обрабатывали 18 % серной кислотой и после деконтаминации высевали на яичную питательную среду для культивирования микобактерий.

Предпосевную обработку 12 проб патологического материала (печень, селезенка, кишечник) проводили по методу А.П. Аликаевой с использованием 10 % серной кислоты [13].

После обработки патологического материала каждую в отдельности пробу высевали на яичную питательную среду для культивирования микобактерий.

Пробирки с посевами культивировали в термостате при температуре +37°C. Учет роста колоний проводили через каждые 5-7 дней на протяжении 3 месяцев.

У выделенных культур микобактерий изучали культурально-морфологические, а также биохимические свойства:

- скорость и характер роста при посеве на яичную питательную среду для культивирования микобактерий при температурах 25, 37, 45 °C;
- морфологию колоний (размеры, форму, консистенцию, характер поверхности);
- тинкториальные свойства;
- устойчивость к 5 % хлористому натрию по методу Kestle D. et al., (1967);

- каталазную активность по методу Middlebrook C. (1954);
- реакцию редукции телурита калия по методу Kulburn J. et al. (1969);
- реакцию гидролиза твин-80 по методу Wayne G. (1962);
- амидазную активность по методу Taeguet et al. (1967) в модификации Ильиной А.Б. (1978).

Мазки-отпечатки из патологического материала, а также мазки из выделенных культур микобактерий, окрашивали по методу Циля-Нильсена и микроскопировали с использованием светового микроскопа.

Результаты исследований. Аллергическим методом на туберкулез было исследовано 216 голов кур, 154 головы фазанов, 49 голов хищной птицы.

Результаты аллергических, серологических и бактериологических исследований представлены в таблице 1.

Таблица 1 — Результаты аллергических, серологических и бактериологических исследований

<i>Виды птиц</i>	<i>Исследовано гол.</i>	<i>Реагировали на туберкулин</i>		<i>Реагировали в ККРА</i>	<i>Кол-во исследованных проб</i>		<i>Выделено культур</i>			
		<i>гол</i>	<i>%</i>		<i>пат. мат-ла</i>	<i>помета</i>	<i>пат. мат-ла</i>	<i>%</i>	<i>помета</i>	<i>%</i>
Куры	216	12	5,6	2	12	4	2	16,6	1	25,0
Фазаны	154	14	9,09	-	-	4	-	-	4	100,0
Хищная	49	8	16,3	-	-	47	-	-	6	12,8
всего	419	24	5,72	2	12	55	2	16,6	11	20,0

Примечание «-»исследование не проводили

Из материалов таблицы видно, что при аллергическом исследовании на туберкулез, было выявлено 12 кур, 14 фазанов, и 8 голов хищной птицы, положительно реагирующих на внутрикожное введение туберкулина.

Из 12 голов кур, реагирующих на подкожное введение туберкулина были исследованы 2 пробы крови с антигеном *M. avium* в крове-капельной реакции агглютинации (ККРА). Положительную реакцию наблюдали в двух случаях.

Из патологического материала на яичной питательной среде от 12 голов кур было выделено 2 культуры. Кроме этого, из проб помета от птиц были выделены культуры микобактерий в 11 случаях, в том числе 1 культура от курицы, 4 культуры от фазанов и 6 культур от хищной птицы.

При этом первичный рост культур микобактерий из патологического материала на яичной питательной среде для культивирования микобактерий наблюдали от курицы на 28-30 день, а из помета на 32-41 день, от хищной птицы на 57-63 день, и от фазанов на 45-54 день. Выделенные культуры микобактерий от кур вырастали на поверхности среды в виде влажных, гладких, блестящих светло-бежевого цвета колоний. Изолированные культуры микобактерий в первой генерации от хищ-

ных птиц вырастали на поверхности среды округлой формы, с неровной поверхностью, светло-серого цвета колоний. Культуры микобактерий изолированные из помета от фазанов вырастали на поверхности среды единично от 6 до 8 колоний, в виде гладких, блестящих колоний маслянистой консистенции.

При пересеве на яичную питательную среду для культивирования микобактерий у выделенных культур от кур на поверхности среды рост колоний отмечали на 12-13 сутки, а от хищных птиц и фазанов — на 17-19 сутки.

При микроскопии мазков, окрашенных по методу Циля-Нильсена, в поле зрения были видны длинные, тонкие, кислотоустойчивые палочки, с закругленными краями, некоторые с зернистостью в центре, которые располагались в поле зрения единично или группами и окрашивались в ярко-красный цвет.

При патологоанатомическом вскрытии птицы, которая реагировала на внутрикожное введение туберкулина, а также реагировала в ККРА, в печени были выявлены патологические изменения, характерные для туберкулеза. Результаты культуральных, биохимических исследований у выделенных культур микобактерий от домашней и зоопарковой птицы представлены в таблице 2.

Из приведенных в таблице данных видно, что при культивировании при температуре 25 °C на яичной питательной среде скудный рост колоний отмечали на 14 день после посева у культур, изолированных от кур в виде влажных, гладких, блестящих колоний. От хищной птицы первичный рост колоний наблюдали на 15 день в виде влажных, гладких, округлой формы, блестящих матовых колоний маслянистой консистенции, культуры микобактерий выделенные от фазана №2 и филина при температуре 25 °C не росли.

При температуре 37 °C на яичной питательной среде для культивирования микобактерий первичный рост колоний микобактерий от кур наблюдали на 10–11 день в виде влажных, гладких, блестящих колоний, а от хищной птицы рост колоний отмечали на 10–13 день в виде морщинистых, округлых, матовых колоний светло-серого цвета с кремоватым оттенком, а видимый рост колоний при температуре 45 °C у выделенных от кур наблюдали на 13–14 день, тогда как от хищной птицы культуры вырастали после посева на 15–18 день, от фазанов на 14–16 день.

При посеве культур микобактерий на среду с салицилатом Na, скудный рост культур микобактерий выделенных от кур отмечали на 13–15 день, на 16–17 день от хищной птицы и на 15–18 день от фазанов. Через 26–28 дней культивирования интенсивность роста увеличилась.

При культивировании изолированных 13 культур микобактерий на среде с 5 % NaCl ни в одном случае роста не было выявлено, а также реакция с гидролизом Твин-80 и каталазная активность у всех культур была отрицательной.

Выделенные 13 культур микобактерий не обладали фотохромогенными свойствами, имели положительную реакцию с теллуридом калия, никотинамидом, пиразинамидом.

Таблица 2 — Результаты культуральных и биохимических исследований культур микроорганизмов

Выделенные культуры от птицы	Рост при температурах			Формы колоний	Реакция с теллуритом	Гидролиз Твин-80	Амидазная активность			Толерантность к 5 % NaCl	Рост с салицилатом Na	Катализаторная активность
	25°C	37°C	45°C				н	п	м			
Беркут1	+	+	+	S	+	-	+	+	-	-	+	-
фазан1	+	+	+	S	+	-	+	+	-	-	+	-
фазан2	-	+	+	S	+	-	+	+	-	-	+	-
фазан3	+	+	+	S	+	-	+	+	-	-	+	-
фазан4	+	+	+	S	+	-	+	+	-	-	+	-
Филин	-	+	+	S	+	-	+	+	-	-	+	-
Гриф	+	+	+	S	+	-	+	+	-	-	+	-
Сыч	+	+	+	S	+	-	+	+	-	-	+	-
Степной Орел	+	+	+	S	+	-	+	+	-	-	+	-
Канюк	-	+	-	S	+	-	+	+	-	-	+	-
Курица1	+	+	+	S	+	-	+	+	-	-	+	-
Курица2	+	+	+	S	+	-	+	+	-	-	+	-
Курица зоопарковая	+	+	+	S	+	-	+	+	-	-	+	-

Примечание «+» — положительный результат, «-» — отрицательный результат

Выводы. 1. При идентификации 13 выделенных культур микобактерий из патологического материала, а также из помета от домашней и зоопарковой птицы при изучении культурально-морфологических, тинкториальных и биохимических свойств, все изолированные культуры микобактерий отнесены к виду возбудителя туберкулеза *M. avium*.

2. На основании проведенных исследований, установлена циркуляция возбудителя туберкулеза *M. avium* среди домашней и зоопарковой птицы.

Список литературы

1. Алексеева, Н.В. Проблема туберкулеза сельскохозяйственной птицы в личных подсобных хозяйствах // Збірник наукових праць Луганського НАУ. — 2005.-50\73. — Луганськ. — С.7-18. 2. Завгородний, А.И., Позмогова С.А., Заболотная В.П., Алексеева Н.В. Туберкулез птиц // Міжвідомчий науковий збірник ІЕКВМ, № 85. Харків. — 2005. — С.44-444. 3. Кравченко, Н.О. Трансваріальна передача мікобактерій різних видів адаптованих до організму курей: Автореф.дис. ...канд.вет.наук:16.00.03.-К.,2003. — 19 с. 4. Мельник, В.М. Туберкулез на Украине: состояние, проблемы и прогноз (медико-статическое исследование). Проблемы туберкулеза — 2000. — № 5. — С.28-32. 5. Аллахвердиев, И.И. Опасность зараженного возбудителем туберкулеза выгульного двора для здоровых кур: учен.зап. / И.И. Аллахвердиев, С.Г. Ахмедов; Азерб. с.-х ин-та. — 1973, 1974. — № 1: Сер. Ветеринария. — С.96-97. 6. Бояджан, Г.К. Возникновение и течение туберкулеза у цыплят, содержащихся в инфицированном помещении / Г.К. Бояджан // Ветеринария. — 1958. — № 10 — с.56. 7. Козлов, В.С. Изменчивость и выживаемость *M. avium* в почве / В.С.Козлов // Пробл. Туберкулеза, 1974. — № 10. — с.78. 8. Павлова, И.Б. Выживаемость и размножение *M. avium* на объектах окружающей среды / И.Б. Павлова, Н.Д. Архипова // Ветеринария. — 2003. — №5. — С.50-52. 9. Рожнятовская, О.И. Изучение эпизоотологии и диагностики при туберкулезе птиц: Автореф.дис. ...канд.вет.наук.: М. 1979 — 17 с. 10. Левченко, Т.Н. Ультроструктурная организация микобактерий туберкулеза / Т.Н. Левченко // Проблемы туберкулеза. — 1991. — №12. — С.42-45. 11. Определитель бактерий Берджи Т.2. — под. Ред. Дж. Хоулта, Н. Крига, П.Смита и др. — изд. 9-е.-М.:Мир,1997. — 368 с. 12. Ротов, В.И. Туберкулез птиц. К., «Урожай», 1976, С. 18-21. 13. Аликаева, Л.П. Упрощенный метод выделения и выращивания чистых культур туберкулезных бацилл из патологического материала // Сов. Ветеринария. — 1940. — № 11. — с.12.

CULTURAL-AND-BIOCHEMICAL FEATURES OF ISOLATED CULTURES OF MIKOBAKTERIA FROM DOMESTIC AND ZOO BIRDS

Golgurskaya O.I.

National Scientific Center «Institute of Experimental and Clinical Veterinary
Medicine», Kharkiv

Results of cultural-and-biochemical investigations of isolated cultures of mikobakteria from domestic and zoo birds are presented in the article.