

*На правах рукописи*

**ПАВЛОВ Николай Герасимович**

**СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ДИАГНОСТИКИ  
И КОМПЛЕКСНЫХ МЕР ПРОФИЛАКТИКИ ТУБЕРКУЛЕЗА  
КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА**

Специальность 16.00.03. – ветеринарная микробиология, вирусология,  
эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата ветеринарных наук

**Якутск - 2006**

Работа выполнена в ГУ Якутский научно-исследовательский институт туберкулеза  
МЗ РС (Я), ФГОУ ВПО «Якутская государственная сельскохозяйственная академия».

**Научный руководитель:** кандидат ветеринарных наук,  
доцент  
ПРОТОДЬЯКОНОВА Галина Петровна

**Научный консультант:** доктор медицинских наук,  
профессор, заслуженный деятель науки РС (Я)  
ТЫРЫЛГИН Михаил Афанасьевич

**Официальные оппоненты:** доктор ветеринарных наук,  
старший научный сотрудник  
СЛЕПЦОВ Евгений Семенович

доктор ветеринарных наук,  
профессор  
МАНДРО Николай Михайлович

**Ведущая организация** – ГНУ Институт экспериментальной ветеринарии Сибири и  
Дальнего Востока СО РАСХН (г. Новосибирск)

Защита состоится 30 мая 2006 года в 10 часов на заседании диссертационного  
совета К 220.071.01 при ФГОУ ВПО «Якутская государственная сельскохозяйственная  
академия» по адресу: 677007, г. Якутск, ул. Красильникова 15.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГОУ ВПО ЯГСХА.

Автореферат разослан 30 апреля 2006 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,

к.в.н., доцент



БУТКОВСКИЙ В.Ф.

2006 А

9553

## 1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность проблемы.** Туберкулез сельскохозяйственных животных в условиях экономических реформ причиняет коллективным и частным хозяйствам значительный экономический ущерб и представляет несомненную опасность для здоровья людей, что указывает на необходимость корректировки ныне существующих установок по его выявлению (М.А. Тырылгин, 1995; А.С. Донченко с соавт., 2004).

Во всех хозяйствах республики Саха (Якутия), независимо от форм собственности и своеобразия животноводческих технологий, осуществляются мероприятия по выявлению туберкулеза сельскохозяйственных животных и в этом отношении достигнуты значительные успехи (Н.И. Прокопьева, 2004). С 1988 г. республика благополучна по туберкулезу крупного рогатого скота, но в последние годы регистрируются спорадические случаи заболевания, и с позиций эпизоотических закономерностей не исключается их периодическая повторяемость (Т.Д. Каратаева, 1997; С.И. Джупина, 1996).

В предыдущие годы (1950 – 1997 г.г.) в условиях Якутии, когда длительное время регистрировали высокую пораженность туберкулезом сельскохозяйственных животных, была отмечена связь туберкулеза человека и животных. По данным Г.И. Алексеевой и В.Т. Захарова, (1996) среди штаммов микобактерий туберкулеза, выделенных от больных туберкулезом легких, бычий вид составлял за 1954 – 1997г.г. от 24,6% до 0,3%.

Поэтому проблема ликвидации заболевания в целом не может быть решена без совместных усилий медицинских и ветеринарных работников, без изучения вопросов взаимосвязи туберкулеза человека и животных.

И на этом фоне совершенствование микробиологической диагностики туберкулеза направленное на повышение чувствительности известных традиционных методов и разработку новых, ранее не используемых в микробиологической практике имеет значение и в медицине, и в ветеринарии.

Многофакторность микробиологического анализа для выявления микобактерий туберкулеза (МБТ) из диагностического материала предусматривает непрерывное совершенствование методики и технологии способов обнаружения возбудителя. Результативность последних зависит от многих причин и, в частности, от используемых искусственных питательных сред. Исследования в этом направлении ведутся разными авторами: это конструирование новых питательных сред – В.А. Аникин (1987), Е.Д. Андроникашвили (1987), Е.С. Чичебабин (1987), Е.А. Щеголева (1989), Т.Т. Попеску (1990); модификация известных – Е.А. Бибергаль (1991), Г.Л. Сигало (1992) и др.; использование стимуляторов для роста МБТ – В.Н. Донченко, С.В. Ионина, (1997), F. Evneux, (1998).

В этом отношении определенный интерес представляет использование биологически активных соединений, широко распространенных в природе. В лаборатории экологической биохимии института биологии СО РАН (М.И. Мрякянов, 1991; Н.Н. Сазонов, 2000) в течение ряда лет проводится изучение свойств сапропеля. Данные об использовании сапропеля в качестве стимуляторов роста в бактериологии отсутствуют.

В данной ситуации изыскание новых научных подходов к проблеме профилактики и диагностики туберкулеза крупного рогатого скота должно вестись комплексно медицинскими и ветеринарными работниками, в частности, установление роли больных туберкулезом людей в эпизоотологии туберкулеза. Существующие современные методы диагностики (полимеразная цепная реакция) позволяют повысить чувствительность прижизненной диагностики туберкулеза крупного рогатого скота.

Таким образом, разработки, направленные на получение новых питательных сред, модификации используемых и повышение чувствительности бактериологических методов сохраняют свою актуальность.

**Цель исследования:** Повышение чувствительности и эффективности диагностических методов выявления микобактерий туберкулеза и усовершенствование комплекса медицинских и ветеринарных противотуберкулезных мероприятий. При этом были поставлены следующие задачи:

- Изучить динамику эпизоотического процесса туберкулеза крупного рогатого скота в Якутии.
- Определить информативность молекулярно-генетического метода исследования для прижизненной дифференциальной диагностики туберкулеза у животных реагирующих на ППД-туберкулин для млекопитающих с применением полимеразной цепной реакции (ПЦР).
- Оценить чувствительность бактериологических методов, на основе разработки способа посева с сорбированием МБТ из диагностического материала и культивирования на модифицированных питательных средах с использованием биодобавок и минерального комплекса растительного происхождения.
- Усовершенствовать комплекс медико-санитарных и ветеринарно-санитарных мероприятий в очагах туберкулезной инфекции.

**Научная новизна.**

В результате проведенного исследования получены новые научные сведения о взаимосвязи эпизоотической и эпидемической обстановки по туберкулезу в современных условиях. Впервые в условиях Якутии применена и доказана целесообразность использования полимеразной цепной реакции для дифференциальной

диагностики туберкулеза у скота, реагирующего на ППД – туберкулин для млекопитающих. Впервые разработаны плотные питательные среды с применением гумата натрия на основе сапропеля, обладающего натуральными биологическими свойствами. Разработан способ посева с предварительной обработкой материала сорбентом повышающий чувствительность и эффективность микробиологической диагностики. Разработанный комплекс медицинских и ветеринарных мероприятий позволяют ускорить выявление дополнительных источников возбудителя инфекции и своевременно проводить необходимые противотуберкулезные мероприятия.

#### **Практическое значение работы.**

Предложена система медико-санитарных и ветеринарно-санитарных мероприятий в очаге туберкулеза антропонозного и зоонозного происхождения, установленного в сельской местности (в хозяйстве) и оперативного принятия комплексных мер по их оздоровлению в виде методического пособия «Комплексные противозидемические и ветеринарно-санитарные мероприятия в очаге туберкулезной инфекции животноводческих хозяйств», утвержденного и одобренного для внедрения ученым советом ГУ ЯНИИТ МЗ РС (Я), протокол № 5 от 18.05.2005 г. и НТС Департамента ветеринарии МСХ РС (Я), протокол № 250 от 20.01.2006 г.

Материалы исследования включены и опубликованы в методическом пособии «Применение энтеросгеля и гумата натрия в микробиологической диагностике туберкулеза», утвержденного и одобренного для внедрения ученым советом ГУ ЯНИИТ МЗ РС (Я), протокол № 6 от 08.06.2004 г. и НТС Департамента ветеринарии МСХ РС (Я), протокол № 250 от 20.01.2006 г.

Разработанные плотные питательные среды внедрены в бактериологических лабораториях ГУ ЯНИИТ, противотуберкулезного диспансера Мегино-Кангаласского улуса РС (Я) и в отделе бактериологии Якутской республиканской ветеринарно-испытательной лаборатории Департамента ветеринарии МСХ РС (Я). Полученные в исследованиях данные используются в учебном процессе для студентов медицинского института ЯГУ и факультета ветеринарной медицины ЯГСХА, а также для слушателей института повышения квалификации специалистов АПК РС (Я) при ЯГСХА.

По результатам исследований получен патент РФ на изобретение № 2272285 от 20.03.2006 г. «Способ выращивания микобактерий туберкулеза».

#### **Положения выносимые на защиту.**

- материалы анализа динамики эпизоотологического процесса туберкулеза крупного рогатого скота в Якутии;

- сравнительная оценка диагностической эффективности опытных и классических сред при посеве культур микобактерий туберкулеза;
- результаты повышения чувствительности выявления микобактерий туберкулеза из диагностического материала с применением сорбента - энтеросгеля;
- результаты прижизненной дифференциальной ПЦР диагностики туберкулеза крупного рогатого скота, реагирующего на туберкулин;
- разработка комплексных медицинских и ветеринарных противотуберкулезных мероприятий в очаге туберкулезной инфекции животноводческих хозяйств.

#### **Апробация работы.**

Основные материалы диссертационной работы доложены на республиканской научно-практической конференции «Вопросы формирования здоровья и патологии человека на Севере: факты, проблемы и перспективы» (Якутск, 2002); международной научно-практической конференции «Высокие технологии добычи, глубокой переработки и использования болотно-озерных отложений» (Томск, 2003); X Российско – Японском международном медицинском симпозиуме «Якутия – 2003» (Якутск, 2003); III конгрессе Европейского Региона IUATLO, XIV Национальном Конгрессе Российского Респираторного Общества (Москва, 2004); международном симпозиуме Японо-Российского медицинского обмена (Ниигата, Япония, 2004); региональной научно-практической конференции «Экология и здоровье человека на Севере» (Якутск, 2004); республиканской научно-практической конференции «Разработка и внедрение новых технологий по проблеме туберкулеза в республике Саха (Якутия)» (Якутск, 2004); XV Национальном Конгрессе Российского Респираторного Общества, I - м Учредительном конгрессе Евроазиатского респираторного общества (Москва, 2005); международной научно-практической конференции «Повышение эффективности лечения и профилактики акушерско-гинекологических заболеваний и биотехники размножения животных» (Вятск, 2005), заседаниях ученых советов ГУ ЯНИИТ МЗ РС (Я), ФГОУ ВПО ЯГСХА (2002-2006 г.г.) и НТС Департамента ветеринарии МСХ РС (Я) (2006 г.).

**Публикации.** По тематике диссертации опубликовано 18 научных работ в материалах международных, всероссийских, региональных и республиканских научных конференций и других научных изданий.

**Личный вклад автора.** В представленной работе складывается из непосредственного участия в выборе направления научного поиска, разработки плана и задач исследований, самостоятельного выполнения комплекса исследований по диагностике и профилактике туберкулеза крупного рогатого скота, а также из обоснования полученных результатов.

**Объем и структура диссертации.** Диссертация изложена на 170 страницах машинописи и включает: введение, обзор литературы, 6 глав собственных исследований, заключение, выводы, практические предложения, библиографию и приложения. Работа иллюстрирована 18 таблицами, 6 диаграммами, 3 рисунками и 1 схемой. Библиография включает 263 источника, в том числе 62 зарубежных

## **2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ**

### **2.1. Материалы и методы исследования**

Данная работа выполнена в бактериологической лаборатории Якутского НИИ туберкулеза МЗ РС (Я), кафедре паразитологии и эпизоотологии сельскохозяйственных животных факультета ветеринарной медицины ЯГСХА, республиканской ветеринарно-испытательной лаборатории Департамента ветеринарии МСХ РС (Я) и хозяйствах Республики Саха (Якутия) в 2002 – 2005 г.г.

В проведении работ использованы результаты комплексных экспедиций, выездов и круглогодичных наблюдений, а также методы эпизоотологического, клинико-диагностического, бактериологического, молекулярно-генетического исследований.

Для изучения эпизоотической обстановки по туберкулезу крупного рогатого скота в Якутии нами обобщены и проанализированы материалы годовых статистических отчетов Департамента ветеринарии МСХ РС (Я), отчетных данных улусных ветеринарных управлений.

При анализе проявления эпизоотического процесса учитывали изменения годовых показателей поголовья животных, реагирующих на ППД – туберкулин для млекопитающих выявленных в течение года, а также количество новых и оздоровленных неблагополучных пунктов, число пунктов, оставшихся неблагополучными на конец года, за 1965 – 2004 г.г.

Полученные данные систематизировали и представили в виде таблиц, выраженных в абсолютных величинах и процентных соотношениях. Обобщенные показатели проявления эпизоотического процесса подвергали эпизоотическому анализу.

Прижизненную диагностику туберкулеза проводили в соответствии с «Наставлением по диагностике туберкулеза животных» (М., 1986, 2002). Исследовано аллергическим методом всего 55 тыс. голов крупного рогатого скота, в т. ч. общественного сектора 10 тыс. и частного сектора 45 тыс. Бактериологическим, молекулярно-генетическим методами исследования изучено 750 проб патологического материала от людей и реагирующих на ППД-туберкулин для млекопитающих животных.

Бактериологические исследования проводили согласно рекомендациям «Лабораторная диагностика туберкулеза» (1988), «Наставлению по диагностике туберкулеза животных» (М., 1986, 2002), Приказу МЗ РФ №109 «О совершенствовании противотуберкулезных мероприятий в РФ» (2003)

Исследования по разработке опытных вариантов плотных питательных сред проводили в бактериологической лаборатории ГУ ЯНИИТ.

При конструировании опытных сред за основу была взята технология приготовления среды Финн – 2. Опытные среды готовили с использованием 1% раствора гумата натрия (вытяжки из сапропеля), любезно предоставленного нам Институтом биологических проблем криолитозоны СО РАН (г.Якутск), содержащей его биологические и минеральные компоненты. Всего было приготовлено 3 варианта опытных питательных сред. Модификация 1 варианта опытной среды (ОВ-1) заключалась в замене солевой основы среды Финн-2 автоклавированным раствором гумата натрия. Во втором варианте опытной среды (ОВ-2), раствор гумата натрия вносили непосредственно в состав среды Финн-2 в соотношении 1:1 к солевому раствору. В 3-м варианте опытной среды (ОВ-3) – в автоклавированном растворе гумата натрия растворяли минеральные соли по росписи среды Финн-2. Общими компонентами опытных вариантов сред были куриные яйца и глицерин.

В качестве контрольных сред применяли традиционные питательные яичные среды для выращивания микобактерий туберкулеза (МБТ) – Левенштейна-Йенсена (Л-И) и Финн-2 (Ф-2).

Эффективность опытных вариантов сред определялась сроками появления первичного и интенсивного роста культур микобактерий туберкулеза. Для проверки информативности питательных сред были использованы штаммы культур МБТ. *M. bovis* (шт. БЦЖ), музейный штамм *M. tuberculosis* (шт. Академия) и 70 клинических штаммов МБТ, выделенные от больных туберкулезом легких в бактериологической лаборатории ЯНИИТ. Посев на пробирки со средами осуществляли путем внесения суспензии культур микобактерий (шт. БЦЖ и шт. Академия), приготовленной по оптическому стандарту мутности – 500 млн. кл/мл в количестве 0,2 мл в каждую пробирку. Посевы клинических штаммов культур МБТ производили в разведении 50 млн. кл/мл в количестве 0,2 мл в каждую пробирку. Засевали по 10 пробирок каждого варианта опытных и контрольных сред. Сроки наблюдения составляли 30-40 дней. До появления первичного роста пробирки с посевами просматривали каждый день, затем – 1 – 2 раза в неделю на протяжении опытов. Все эксперименты проводили в 2-3 повторностях. Всего произведено 2500 посевов.

Проведены опыты по изучению воздействия энтеросгеля на скорость появления первичного роста и накопления биомассы культуры микобактерий туберкулеза на традиционных питательных средах Финн-2 и Левенштейна-Йенсена.

В первой серии опытов проводили испытания для доказательства сорбционной способности предлагаемого вещества. Для этого использовалась небациллярная мокрота больных. Мокроту предварительно обрабатывали 0,05% раствором ХГБ (хлоргексидинбиглюконата) в соотношении 1:1, в течение 18 часов при комнатной температуре для разжижения и деконтаминации вторичной микрофлоры. Обработанный материал по 4 мл стерильными пипетками вносили в центрифужные пробирки, после чего в каждую из них добавляли по 1 мл соответствующего разведения дикого штамма МБТ – 5 стандарта мутности,  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  и  $10^{-5}$  степени. В опытные пробирки добавляли по 1 мл энтеросгеля. Встряхивали на шейкере, затем центрифугировали 15 мин., при 3 тыс оборотов/мин. Надосадочную жидкость сливали, оставляя в пробирке осадок, к осадку добавляли по 1 мл жидкой среды Пскольникова. Стерильной пипеткой переносили по 0,4 мл в пробирки с плотной яичной средой Финн-2 и Левенштейна-Йенсена. Инкубировали при 37<sup>0</sup>С, просматривали посеы ежедневно. Учитывали появление начального роста и массивность или интенсивность роста МБТ. Далее из оставшегося осадка изготовляли мазки для люминесцентного микроскопирования, учитывали количество МБТ в полях зрения.

Предложенный способ апробирован на диагностическом материале 297 больных туберкулезом органов дыхания. Для выявления микобактерий туберкулеза методом посева исследовано 284 образца мокроты; 2- промывных вод бронхов; 8 смывов с бронхов; 2 операционных материала, 1 – плевральная жидкость.

Выделенные штаммы культур МБТ исследовали по следующим тестам:

- а) морфология МБТ;
- б) пигментообразование;
- в) характер роста;
- г) рост при различных температурных режимах;
- д) лекарственная чувствительность к противотуберкулезным препаратам;
- е) вирулентность;
- ж) видовая принадлежность (биохимическими методами – ниациновая проба в модификации Я.А. Благодарного (1980), реакция редукции нитратов по Tsukamiga и биологическим методом).

Молекулярно-генетический метод исследования использовали для определения диагностической ценности обнаружения ДНК микобактерий туберкулеза методом ПЦР в

пробах от крупного рогатого скота из благополучных по туберкулезу хозяйств республики, ранее бывших неблагополучными, где выявляется большое количество реагирующих на ППД-туберкулин для млекопитающих животных.

В благополучных по туберкулезу хозяйствах для выяснения реакций на туберкулиновую пробу у крупного рогатого скота и отбора для диагностического убоя из числа реагирующих с наиболее выраженной реакцией на туберкулин животных прижизненно брали пробы крови на исследование молекулярно-генетическим методом (ПЦР). Молекулярно-генетический метод исследования с применением полимеразной цепной реакции (ПЦР) проводили согласно «Наставлению по диагностике туберкулеза животных» (2002), «Наставлению по применению тест-системы для выявления и дифференциации *M. bovis* и *M. tuberculosis* методом полимеразной цепной реакции (ПЦР)» (2002).

Молекулярно-генетическим методом (ПЦР) исследован диагностический материал от 394 голов крупного рогатого скота под руководством Г.П. Протодяковой. Для выявления и дифференцирования ДНК *M. bovis* и *M. tuberculosis* в биоматериалах от животных использовали тест-систему разработанную НПО «Нарвак»

При статической обработке полученных данных использованы общепринятые методы вариационной статистики и таблицы Стьюдента.

Методы отдельных исследований, опытов и экспериментов подробно изложены в соответствующих разделах диссертации.

## **2.2. Анализ динамики эпизоотологического процесса туберкулеза крупного рогатого скота в Якутии**

Впервые туберкулез крупного рогатого скота в Якутии согласно ветеринарной отчетности официально зарегистрирован в 1922 году (А.В. Лысков с соавт., 1980). Первые плановые диагностические исследования крупного рогатого скота на туберкулез проведены в 1929 г., а бактериологическим методом заболевание начали диагностировать с 1936 г. в 9 улусах Якутской АССР. Тогда было выявлено 189 голов крупного рогатого скота больных туберкулезом.

В 1940 г. в республике туберкулез был зарегистрирован в 92 неблагополучных пунктах, было выявлено 706 больных туберкулезом животных. Количество неблагополучных по туберкулезу улусов увеличилось и их стало 13.

В 1945 г. туберкулез крупного рогатого скота был распространен в 17 улусах республики, в т.ч. инфекция была зарегистрирована в северных улусах: Момском – 2

пункта, Абыйском – 7, Оймяконском – 7, Среднеколымском – 2 и Эвено-Бытантайском – 3 пункта.

С 1950 г. выявляемость животных больных туберкулезом увеличилась, туберкулез КРС был распространен во всех крупных животноводческих улусах республики. Количество неблагополучных улусов дошло до 27, неблагополучных пунктов до 97.

Анализируя эпизоотологию туберкулеза крупного рогатого скота того периода можно сказать, что причиной, столь сильного распространения туберкулеза в такой короткий срок было:

- во первых, в годы Великой отечественной войны из-за засухи и голода было проведено перемещение ряда стад крупного рогатого скота из неблагополучных по туберкулезу 10 районов в благополучные районы и наоборот;
- во вторых, в послевоенный период образование новых районов, хозяйств и колхозов создало новое перемещение по разным местам большого количества сельскохозяйственных животных;
- в третьих, в те годы противотуберкулезные мероприятия в основном ограничивались только аллергическими исследованиями и убоем выявленных больных животных, а также имела место длительная передержка реагирующих животных.

На основании проведенного нами анализа эпизоотологической ситуации по туберкулезу сельскохозяйственных животных в регионе Якутии можно выделить четыре ее основных периода: первый 1965 – 1974 г.г., второй 1975 – 1984 г.г., третий 1985 – 1994 г.г., и четвертый с 1995 по 2004 г.г.

По данным ветеринарной статистики за 1965-1974гг. заболеваемость туберкулезом КРС в среднем составляла 0,14 % и не превышала 0,56 %. Туберкулез в эти годы протекал в виде спорадических случаев и не оказывал существенного влияния на развитие скотоводства. В различных районах пораженность туберкулезом животных была неравномерной и в 1970 году составила в Мирнинском – 9,0%, в Намском – 1,1%, Якутском – 2,4 %, но в отдельных хозяйствах пораженность доходило до 53 % (Хатассы). В сложившейся обстановке районы республики можно разделить на 3 группы: 1 группа – районы свободные от туберкулеза, где проводилась профилактическая и противотуберкулезная работа; 2 группа – районы повышенной эпизоотической опасности по туберкулезу; 3 группа – районы со стойкими эпизоотологическими очагами туберкулеза (Н.И. Прокопьева, 1986).

За 1975 – 1984 г.г. констатирована следующая обстановка: в 1975 году заболеваемость составила 0,48 % и в последующие годы пораженность увеличилась до 0,6% (1978). Всего за 10 лет было выявлено и убито 10826 животных. Уменьшение

процента пораженности туберкулезом скота и количества выявленных больных животных можно объяснить оздоровительными мероприятиями и увеличением кратности аллергических исследований в хозяйствах. Можно предположить, что в разных хозяйствах источники заражения при новых вспышках неодинаковы, но во всех случаях они имслись в самих хозяйствах и сводятся к следующим причинам:

- неполное выявление больных туберкулезом животных, несвоевременная их изоляция;
- неудовлетворительное обеззараживание животноводческих помещений и окружающей территории;
- неполный учет других источников заражения.

В некоторых хозяйствах, несмотря на систематически проводимую туберкулинизацию и удаление реагирующих на туберкулин животных наблюдались новые вспышки, особенно в зимний период. Основным источником заражения служит большой туберкулезом скот и длительное неблагополучие по туберкулезу связано с некачественным проведением диагностических исследований.

В следующий период, в результате кропотливой и трудоемкой работы специалистов практической и научной ветеринарии, выполнения совместных ветеринарно-медицинских программ в 1988 г. констатировано полное оздоровление республики от туберкулеза сельскохозяйственных животных.

Количество реагирующих на ППД-туберкулин для млекопитающих животных за 10 лет снижается с 1516 (0,26 %) в 1985 г. до 274 (0,08 %) в 1994 г. Однако несмотря на то, что были ликвидированы все неблагополучные пункты по туберкулезу, полное оздоровление от инфекции не наступило, сохраняется определенное количество реагирующих на ППД-туберкулин для млекопитающих животных, что указывает на наличие не выявленных источников туберкулезной инфекции.

В создавшейся эпизоотической ситуации по туберкулезу крупного рогатого скота улусы республики можно разделить на 2 группы:

1 группа – районы, где крупный рогатый скот реагирует на ППД-туберкулин для млекопитающих и туберкулез бактериологически верифицируется;

2 группа – районы, где имеется большое количество животных, реагирующих на ППД-туберкулин для млекопитающих, но туберкулез бактериологически не верифицируется.

По мере оздоровления скота от туберкулезной инфекции, в республике стала актуальной проблема так называемой «неспецифической реактивности» скота к туберкулину. Случаи выявления туберкулеза, массовое реагирование животных на

туберкулиновую пробу в благополучных стадах и на отдельных подворьях вносят неясность в эпизоотическую ситуацию по туберкулезу и вызывает необоснованный убой продуктивных животных.

Четвертый период (1995 – 2004 г.г.) период относительного благополучия по туберкулезу крупного рогатого скота, хотя в последние годы регистрируются спорадические случаи заболевания крупного рогатого скота и количество реагирующих на туберкулиновую пробу животных не уменьшается, сохраняясь на одном уровне с предыдущими годами. При этом процент реагирующих на ППД-туберкулин для млекопитающих животных в разные годы колеблется от 0,12 % до 0,41%, а по сравнению с 2002 годом (0,4%) показатель в 2004 г. снизился до 0,12%. Выявлено 4 неблагополучных по туберкулезу пунктов в 1996 г. – 2, в 1997 г. – 1, в 2001 г. – 1. В период неблагополучия по туберкулезу крупного рогатого скота в хозяйствах количество реагирующих на ППД-туберкулин для млекопитающих животных достигал в 1996 г. – 1314 голов и в 2001 г. – 1578 животных соответственно.

В 1998 году в результате совместных исследований с НПО «Фтизиатрия» из биоматериала животного (Намский улус), реагировавшего на туберкулин, была впервые в республике выделена культура микобактерий туберкулеза человеческого вида. Источником заражения в данном случае являлся человек больной туберкулезом. Данный факт подтвердился тем, что владелец коровы состоял на учете в противотуберкулезном диспансере.

Таким образом, несмотря на проведенные оздоровительные и профилактические мероприятия, туберкулез сельскохозяйственных животных в республике все еще проявляется в виде спорадических энзоотий и с позиций эпизоотических закономерностей не исключается их периодическая повторяемость. Источниками спорадического туберкулеза сельскохозяйственных животных в республике за последние 10 лет являются неблагополучные по туберкулезу в прошлом хозяйства, а также больные туберкулезом люди – владельцы животных и работники хозяйств.

В заключении следует отметить, что случаи заболевания животных с выделением туберкулеза человеческого вида и, наоборот, выделение туберкулеза бычьего вида от людей, в период относительного благополучия сельскохозяйственных животных по туберкулезу, является неблагоприятным фактором, представляющим определенную опасность для человека и личного хозяйства, и требуют со стороны ветеринарной службы постоянного жесткого мониторинга за эпизоотическим состоянием ранее оздоровленных от туберкулеза хозяйств.

### **2.3. Сравнительная оценка диагностической эффективности опытных и классических сред при посеве культур микобактерий туберкулеза**

В нескольких сериях опытов была проведена модификация яичных сред. При конструировании опытных сред за основу была взята технология приготовления среды Финн – 2. Опытные среды готовили с использованием раствора гумата натрия (вытяжки из сапропеля), содержащей его биологические и минеральные компоненты. Всего было приготовлено 3 варианта опытных питательных сред

Модификация 1 варианта опытной среды заключалась в замене солевой основы среды Финн-2 автоклавированным раствором гумата натрия. Во втором варианте опытной среды, раствор гумата натрия вносили непосредственно в состав среды Финн-2 в соотношении 1:1 к солевому раствору. В 3-м варианте опытной среды – в автоклавированном растворе гумата натрия растворяли минеральные соли по росписи среды Финн-2. Общими компонентами опытных вариантов сред были яйца кур и глицерин

В качестве контрольных сред применяли традиционные питательные яичные среды для выращивания микобактерий туберкулеза (МБТ) – Левенштейна-Йенсена и Финн-2 .

Эффективность опытных вариантов сред определялась сроками появления первичного и интенсивного роста культур микобактерий туберкулеза. Для проверки информативности питательных сред были использованы штаммы: *M. bovis* (шт. БЦЖ), музейный штамм *M. tuberculosis* (шт. Академия) и клинические штаммы МБТ, выделенные от больных туберкулезом легких в бактериологической лаборатории ЯНИИТ. Посев на пробирки со средами осуществляли путем внесения суспензии культур микобактерий (шт. БЦЖ и шт. Академия), приготовленной по оптическому стандарту мутности – 500 млн. кл/мл в количестве 0,2 мл в каждую пробирку. Посевы клинических штаммов культур МБТ производили в разведении 50 млн. кл/мл в количестве 0,2 мл в каждую пробирку.

#### **Результаты исследований скорости и интенсивности роста *M. bovis* (шт. БЦЖ) на различных питательных средах**

В 1-м варианте опытной среды первичный рост микобактерий бычьего вида появился на 18 день, во 2-м варианте - на 7,1 день и в 3-м варианте - на 6,9 день наблюдения. Интенсивный рост *M. bovis* в 1-м варианте была зафиксирован на 22 день, во 2-м варианте - на 10,7 день и в 3-м варианте - на 10,9 день наблюдения.

В контрольных средах первичный рост *M. bovis* на среде Финн-2 появился на 12,6 день, на среде Левенштейна-Йенсена - на 9,9 день, а интенсивный рост на среде Финн-2 - на 16,1 день, на среде Левенштейна-Йенсена - на 13,2 день наблюдения.

Провели статистическую обработку результатов опыта. Данные, полученные в опыте, показывают, что 1 вариант опытной среды уступает по информативности контрольным средам Финн-2 и Левенштейна-Йенсена. Для получения первичного роста в более короткие сроки и оптимального накопления бактериальной массы данной культуры возбудителя туберкулеза наиболее эффективными являются 2-й и 3-й варианты опытных сред, разница статистически достоверна ( $p < 0,001$ ;  $p < 0,005$ ). Из результатов опытов следует, что добавление вытяжки сапропеля в состав питательных сред позволило ускорить получение первой генерации культур *M. bovis*, посеянных на них, в сравнении со средами Финн-2 и Левенштейна-Йенсена, что является важным фактором в постановке диагноза на туберкулез.

Массивность роста или накопление биомассы *M. bovis* (шт. БЦЖ) учитывали по количеству выросших колоний: до 20 колоний, от 20 до 50 колоний, от 50 до 100 колоний и более 100 колоний. На среде Л-И максимальная массивность в 71,4% случаев регистрировалась от 20 до 50 колоний. На среде Финн-2 в 28,6% массивность роста составляла более 100 колоний. В опытном варианте ОВ-1 в 100% массивность составила до 20 колоний; ОВ-2 - в 14,3% рост от 20 до 50 колоний, в 28,6% регистрировался рост от 50 до 100 колоний и более чем в половине случаев (57,1%) более 100 колоний; ОВ-3 в 35,7% рост от 20 до 50 колоний, в 14,3% от 50 до 100 колоний и 50% более 100 колоний.

Таким образом, накопление биомассы культур *M. bovis* (шт. БЦЖ) наиболее интенсивно наблюдалось в опытных вариантах ОВ-2 и ОВ-3.

#### **Результаты исследований скорости и интенсивности роста *M. tuberculosis* (шт. Академия) на различных питательных средах**

В 1-м варианте опытной среды первичный рост *M. tuberculosis* (шт. Академия) появился на 8,6, во 2-м на - 7,9 день и в 3-м варианте - на 8,0 день наблюдения. Интенсивный рост в 1-м варианте зафиксирован на 11,8 день, во 2-м варианте - на 10,9 день и в 3-м - на 10,9 день наблюдения.

На контрольных питательных средах Финн-2 и Левенштейна-Йенсена первичный рост *M. tuberculosis* появился на 10,5 и 11,5 день соответственно, а высокая интенсивность роста отмечена на 16,2 и 16,2 день наблюдения на обеих средах соответственно.

Учитывалась массивность роста или накопление биомассы *M. tuberculosis* (шт. Академия) до 20 колоний, от 20 до 50 колоний, от 50 до 100 колоний и более 100 колоний. На среде Левенштейна-Йенсена в 35,7 % случаев регистрировался рост от 20 до 50 колоний и в 64,3 % максимальный рост более 100 колоний. На среде Финн 2 в 28,6 % массивность роста составляла от 50 до 100 колоний и в 71,4 % случаев более 100 колоний. В опытном варианте ОВ-1 в 28,6% - массивность от 50 до 100 колоний, в 71,4 % - регистрировался рост более 100 колоний; ОВ-2 в 100 % более 100 колоний; ОВ-3 в 100% более 100 колоний.

Таким образом, накопление биомассы культур *M. tuberculosis* (шт. Академия) наиболее интенсивно наблюдалось в опытных вариантах ОВ-2 и ОВ-3.

Полученные данные скорости появления первичного роста и накопления бактериальной массы возбудителя туберкулеза человеческого вида (шт. Академия) на всех вариантах опытных сред показывают, что среды с использованием вытяжки из сапропеля при культивировании на них *M. tuberculosis* по своим ростовым свойствам статистически достоверно ( $p < 0,001$ ,  $p < 0,005$ ) превосходят контрольные питательные среды Финн-2 и Левенштейна-Йенсена.

#### **Результаты исследований скорости и интенсивности роста клинических штаммов микобактерий туберкулеза на различных питательных средах**

Было использовано 70 клинических штаммов культур микобактерий туберкулеза, выделенных от людей больных туберкулезом легких. С каждого штамма произведено по два посева на всех 5 испытываемых средах. Всего произведено 700 посевов, из них в 684 посевах получены культуры.

Первичный рост штаммов МБТ, выделенных от больных различными формами туберкулеза, зарегистрирован на контрольных средах Л-И 10,2 и Ф-2 на 8,7 день, а интенсивный на 15,2 и 13,0 день наблюдения соответственно. В опытных средах ОВ-1 начальный рост зарегистрирован на 14,2, ОВ-2 на 8,3, ОВ-3 на 7,6 день наблюдения, а интенсивный рост наблюдался на 19,0, 12,3 и 11,6 день инкубации соответственно.

Массивность роста МБТ: на среде Л-И – до 20 колоний 10,6 %; от 20 до 50 колоний -56,1 %; от 50 до 100 колоний - 24,2% и в 9,1 % более 100 колоний. На Финн-2 до 20 колоний - 9,1 %; от 20 до 50 колоний - 56,1 %; от 50 до 100 колоний - 24,2 %; более 100 колоний - 9,1%. В опытных средах на ОВ-1 до 20 колоний – 44,8 %; от 20 до 50 колоний – 55,2 %, от 50 до 100 колоний – 0 % и более 100 колоний – 0 %. На ОВ-2 до 20 колоний – 7,1 %; от 20 до 50 колоний – 5,7 %; от 50 до 100 колоний – 27,1 % и более 100 колоний –

58,6 %. На ОВ-3 до 20 колоний – 4,3 %; от 20 до 50 колоний – 8,6 %; от 50 до 100 колоний – 22,8 % и более 100 колоний – 64,3 %.

Таким образом, скорость роста и накопление биомассы штаммов МБТ, выделенных от больных различными формами туберкулеза, статистически достоверно ( $p < 0,001$ ;  $p < 0,005$ ), была выше в опытных вариантах питательных сред.

Полученные результаты свидетельствуют о перспективности использования сапропелей для ускорения выращивания и накопления биомассы микобактерий туберкулеза, а также замены ими дорогостоящих минеральных основ питательных сред.

#### **2.4. Повышение чувствительности выявления микобактерий туберкулеза из диагностического материала с применением сорбента - энтеросгеля**

Для повышения информативности бактериологических методов исследования для выявления кислотоустойчивых микобактерий в диагностическом материале использованы несколько видов сорбентов. Наиболее оптимальным для использования признан энтеросгель. Энтеросгель – фармакологическая группа: энтеросорбирующее средство, состав препарата – метилкремниевой кислоты гидрогель, обладает высокой сорбционной активностью, данное свойство предполагается использовать для предварительной обработки биоматериала, способствующего максимальному высвобождению микобактерий для повышения эффективности микроскопирования и метода посева.

Проведены опыты по изучению воздействия энтеросгеля на скорость появления первичного роста и накопления биомассы культуры микобактерий туберкулеза на традиционных питательных средах Финн-2 и Левенштейна-Йенсена.

Предложенный способ апробирован на диагностическом материале 297 больных туберкулезом органов дыхания. Для выявления микобактерий туберкулеза методом посева исследовано 284 образца мокроты; 2- промывных вод бронхов; 8 смывов с бронхов; 2 операционных материала, 1 – плевральная жидкость.

В результате проведенных исследований нами получены следующие данные. Из 297 посевов в 87 опытных посевах получены положительные результаты, т.е. рост микобактерий туберкулеза. В контрольных посевах рост микобактерий туберкулеза зарегистрирован в 76 посевах. В 11 случаях наблюдался рост МБТ в опытных посевах, тогда как в контроле с применением традиционного способа пробоподготовки рост отсутствовал.

Таким образом, высеваемость микобактерий при предпосевной обработке предложенным способом составила 29,3 %, контрольных посевов – 25,6 %.

Получены интересные данные при регистрации сроков начального и интенсивного роста микобактерий туберкулеза. В опытных посевах начальный рост колоний МБТ наблюдался в среднем на 20,6 день, интенсивный на 26,1 день; в контрольных посевах начальный рост регистрировался на 23,3 день, интенсивный на 30,0 день (различие достоверно  $p < 0,01$ ). Таким образом, в опытных посевах отмечалось опережение роста микобактерий в среднем на 3,9 дней. Кроме того, зарегистрированы единичные случаи опережения роста культур МБТ в опытных посевах на 12, 14, 16, 18, и 26 дней по сравнению с контролем.

При определении массивности роста, единичные колонии (до 20 колоний) регистрировались в опытных посевах в 27,6 %, в контрольных посевах в 1,6 раз чаще – 43,4 % случаев. Рост от 50 до 100 колоний несколько чаще регистрировался в контрольных посевах, чем в опытных – 27,6 % и 20,7 % соответственно. Рост свыше 100 колоний в 1,8 раз чаще отмечен в опытных посевах по сравнению с контрольными (51,7 % и 28,9 % соответственно). Учитывая, тот факт, что накопление бактериальной массы на питательной среде можно считать с появления 50 и более колоний, то предложенный способ предпосевной обработки диагностического материала позволяет в 72,4 % по сравнению с традиционными методами получить более интенсивный рост МБТ.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что предложенный способ, применяемый на предпосевном этапе обработки диагностического материала для выращивания микобактерий туберкулеза на плотных питательных средах, повышает чувствительность метода посева. При использовании данного способа на 3,7 % повышается информативность культурального метода исследования. В 72,4 % случаев наблюдается массивный рост колоний МБТ (более 50 колоний). Кроме того, на 3,9 суток сокращаются сроки выхода культур МБТ. На данный способ получен патент РФ на изобретение № 2272285 от 20.03.2006 г. «Способ выращивания микобактерий туберкулеза»

## **2.5. Прижизненная дифференциальная ПЦР диагностика туберкулеза крупного рогатого скота реагирующего на туберкулин**

В настоящее время перспективным подходом для индикации и идентификации возбудителя туберкулеза у крупного рогатого скота является ДНК - диагностика патогена при помощи полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Целью исследований явилось определение диагностической ценности обнаружения ДНК микобактерий туберкулеза методом ПЦР в пробах от крупного рогатого скота из

благополучных по туберкулезу хозяйств республики, ранее бывших неблагополучными, где выявляется большое количество реагирующих на туберкулин животных.

В этих хозяйствах для выяснения причин туберкулиновых реакций у крупного рогатого скота и отбора для диагностического убоя из числа реагирующих с наиболее выраженной реакцией на ППД-туберкулин для млекопитающих животных, прижизненно брали пробы крови на исследование методом ПЦР.

Методом ПЦР исследован диагностический материал от 394 животных, из них в 114 пробах выявлены ДНК микобактерий. Процент выявления ДНК микобактерий составил 28,9 %. Из них у 82 голов выявлены ДНК *M. bovis*, а у 32 - *M. tuberculosis*. Процент дифференцирования выявленных ДНК *M. bovis* и *M. tuberculosis* составил 71,9 и 28,1 соответственно. Наиболее высокие показатели выявления ДНК микобактерий наблюдается в Намском – 66,7 %, В-Вилойском – 57,1 %, Таттинском – 51,6 %, У-Алданском – 40,0 %, Нюрбинском – 35,3 % улусах и в пригородных хозяйствах г. Якутска – 32,6 %. Выявление ДНК микобактерий человеческого вида составило 32 (28,1 %). Из них в Нюрбинском – 10 (83,3 %), Сунтарском – 13 (46,4 %), Мирнинском – 3 (33,3 %), Намском – 1 (25,0 %), Таттинском – 3 (18,7 %) улусах и в пригородных хозяйствах г. Якутска – 2 (13,4 %), а в остальных улусах выявлялись только ДНК *M. bovis*. В северных (Верхоанском, Среднеколымском) улусах ДНК микобактерий туберкулеза в пробах не выявлены.

Анализ дифференциальной диагностики показывает, что совпадение туберкулиновых реакций с исследованием методом ПЦР достигает 28,9 % случаев. Но в последующем лабораторном исследовании диагноз на туберкулез не подтверждается. Это можно объяснить тем, что туберкулез крупного рогатого скота у инфицированных животных протекает долгие годы без клинических симптомов и потери продуктивности, а ПЦР, как метод, обладающий высокой чувствительностью (при наличии 1 микробной клетки или даже фрагмента ДНК МБТ в исследуемом материале), выявляет МБТ на ранних стадиях инфицирования животных. По данным ПЦР исследований необоснованный убой животных предотвращен в 71,1 % случаев. В 82 (71,9 %) случаях диагностировали *M. bovis*. Впервые установлена детекция *M. tuberculosis* у животных, реагирующих на ППД-туберкулин для млекопитающих.

Таким образом, несмотря на проведенные оздоровительные и профилактические мероприятия у реагирующих на туберкулиновую пробу животных в 28,9 % случаев выявляется латентное бактерионосительство. Эти животные представляют опасность, как возможные источники возбудителя инфекции для человека и личного хозяйства, и требует

со стороны ветеринарной службы постоянного жесткого мониторинга за эпизоотическим состоянием ранее оздоровленных от туберкулеза хозяйств.

## 2.6. Комплексные медико-ветеринарные мероприятия в очаге туберкулезной инфекции животноводческих хозяйств

В очагах туберкулеза зоонозного происхождения источником возбудителя инфекции являются больные животные, из организма которых выделяются микобактерии с молоком, фекалиями и другими выделениями. Проведение противоэпидемических мероприятий в очагах зоонозного происхождения осуществляют в соответствии с утвержденными санитарными правилами.

Первостепенной задачей медицинской службы является предупреждение заболевания туберкулезом среди населения. Для этого каждая Центральная улусная больница с привлечением улусного фтизиатра, эпидемиолога Территориального управления федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (ТУ Роспотребнадзора) и главного ветеринарного инспектора улуса разрабатывают комплексный план по борьбе с туберкулезом, который утверждается улусной администрацией (табл. 1).

Таблица 1 – схема проведения медико – санитарных мероприятий

Наименования мероприятий	Ответственный исполнитель	Сроки проведения	Контроль	Нормативные документы
1	2	3	4	5
1 Ежегодная флюорография животноводов благополучных пунктов по туберкулезу КРС 1 раз, неблагополучных пунктов 2 раза в год, обследование членов семей, имеющих животных реагирующих на туберкулиновую пробу	Главный врач Центральной улусной (городской больницы)	В течение года по плану	ТУ Роспотребнадзора улуса (города)	Приказ №109 МЗ РФ и СП 3 1.093-96
2 Туберкулинодиагностика всех животноводов, неблагополучного пункта по туберкулезу КРС и членов семей, имеющих больной скот	Главный врач Центральной улусной (городской больницы)	По мере выявления больных и положительно реагирующих животных	ТУ Роспотребнадзора улуса (города)	Приказ №109 МЗ РФ и СП 3 1 093-96
3 Бактериологическое исследование мочи и мокроты, общий анализ крови, мочи лиц, контактирующих с больными и реагирующими на туберкулиновую пробу животными	Главный врач Центральной улусной (городской больницы)	По мере выявления больных и реагирующих на туберкулиновую пробу животных	ТУ Роспотребнадзора улуса (города)	Приказ №109 МЗ РФ
4 Отстранение от работы или допуск к работе по уходу за	ТУ Роспотребнадзора улуса	Систематически	ТУ Роспотребнадзора по	СП 3.1 093-96 и

1	2	3	4	5
животными лиц, состоящих на учете в противотуберкулезном диспансере и снятых с учета по выздоровлению	(города)		РС (Я)	ВП 13.3.1325-96, п 10 «Туберкулез»
5 Осуществление наблюдения по IVБ группе учета всех животноводов, контактирующих с больными туберкулезом животными	Главный врач улусной ПТД	Освидетельствование 2 раза в год	Гл врач ЦУБ, ТУ Роспотребнадзора улуса (города)	Приказ №109 МЗ РФ
6 Химиофилактика всех животноводов и членов их семей, контактирующих с больными туберкулезом животными	Главный врач улусной ПТД	По мере выявления больных туберкулезом животных	Гл. врач ЦУБ, ТУ Роспотребнадзора улуса (города)	Приказ №109 МЗ РФ
7 Взятие на диспансерный учет и лечение больных туберкулезом животноводов	Главный врач улусной ПТД	Систематически	Гл врач ЦУБ, ТУ Роспотребнадзора улуса (города)	Приказ №109 МЗ РФ

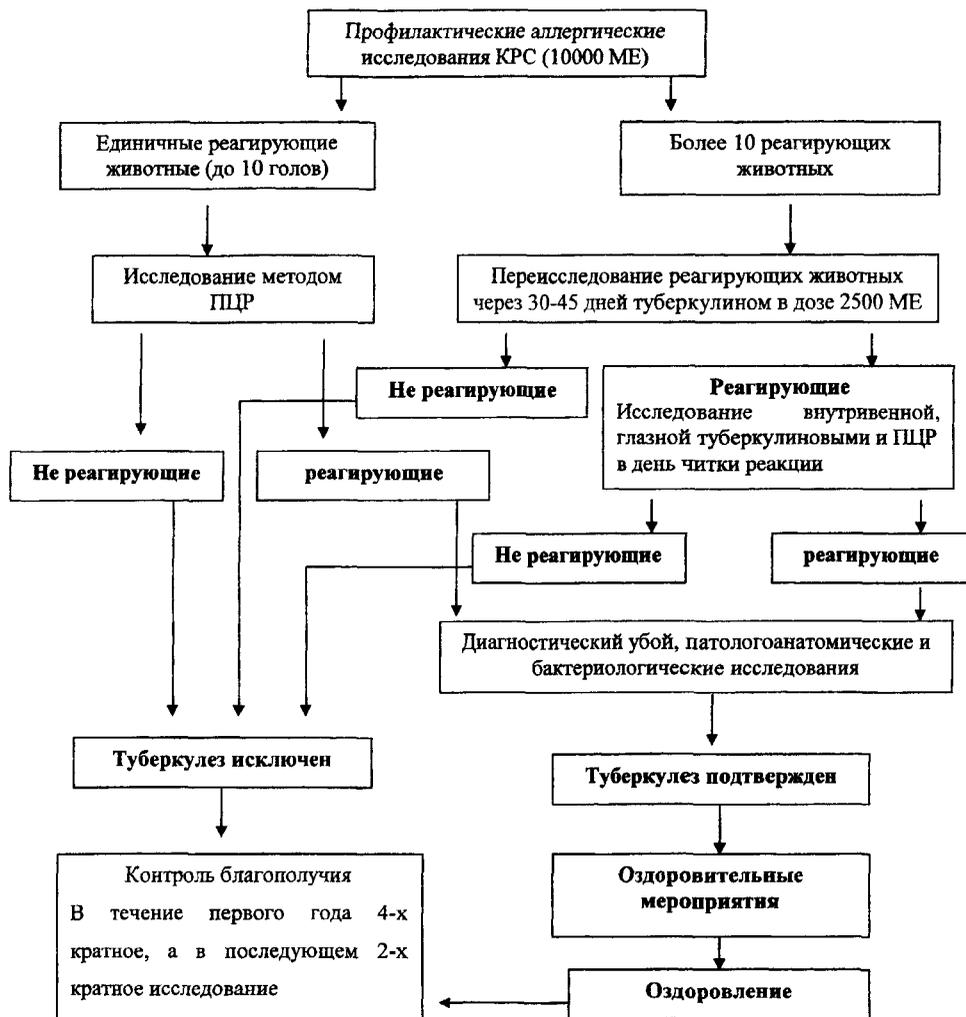
**Ветеринарно – санитарные мероприятия по профилактике и ликвидации туберкулеза животных**

По данным наших исследований предлагается усовершенствованная схема дифференциальной диагностики туберкулеза крупного рогатого скота в благополучных хозяйствах республики, где отмечаются реагирующие на туберкулиновую пробу животные (схема 1).

Проведение комплексных противотуберкулезных мероприятий в очаге туберкулеза, позволяет повысить эффективность раннего выявления, профилактики и улучшения диагностики туберкулеза. Методика апробирована в хозяйствах республики и позволяет быстро выявлять дополнительные источники возбудителя инфекции и проводить своевременно необходимые противотуберкулезные мероприятия

Включение в схему дифференциальной диагностики ПЦР как экспресс – метода исследования, обладающего высокой чувствительностью и специфичностью, позволяет предотвратить до 71,1 % случаях необоснованный убой поголовья реагирующих на туберкулиновую пробу животных и сохраняет благополучие стад по туберкулезу крупного рогатого скота.

Схема по дифференциальной диагностике туберкулиновых реакций у крупного рогатого скота в благополучных хозяйствах



## Выводы

1. Несмотря на проведенные оздоровительные и профилактические мероприятия, туберкулез крупного рогатого скота в Республике Саха (Якутия) все еще проявляется в виде спорадических эпизоотий и с позиций эпизоотических закономерностей не исключается их периодическая повторяемость. Среди положительно реагирующего на туберкулин скота в 28,9 % случаях выявляются животные с латентным бактерионосительством.

2. При разработке опытных вариантов сред использовали раствор гумата натрия на основе сапропеля местного природного происхождения, обладающего натуральными биологическими свойствами. Полученные результаты свидетельствуют о перспективности использования сапропелей для выращивания МБТ, а также замены ими дорогостоящих минеральных основ питательных сред в виде 0,1 % раствора гумата натрия.

3. Предложенный нами способ, применяемый на предпосевном этапе обработки диагностического материала энтеросгелем, для выращивания МБТ на плотных питательных средах на 3,7 % повышает информативность культурального метода исследования. При этом в 72,4 % случаев наблюдается массивный рост колоний МБТ (более 50 колоний). На данный способ получен патент РФ на изобретение № 2272285 от 20.03.2006 г. «Способ выращивания микобактерий туберкулеза».

4. В настоящее время перспективным подходом для индикации и идентификации возбудителя туберкулеза у крупного рогатого скота является ДНК - диагностика патогена методом ПЦР. Из числа животных положительно реагирующих на туберкулин при прижизненной дифференциальной ПЦР диагностике в 28,9 % случаях выявляются ДНК МБТ.

5. Микобактерии туберкулеза человеческого вида в настоящее время имеют большую роль в эпизоотологии заболевания, являясь в 28,1 % случаев этиологическим фактором инфицирования животных туберкулезом.

6. Включение в схему дифференциальной диагностики ПЦР как экспресс – метода исследования, обладающего высокой чувствительностью и специфичностью, позволяет предотвратить в 71,1 % случаев необоснованный убой реагирующих на туберкулин животных и сохраняет благополучие стад по туберкулезу крупного рогатого скота.

7. С учетом полученных новых данных о частоте взаимной миграции МБТ от скота к человеку и обратно, создающую единую эпизоотическую ситуацию по туберкулезу, необходимо в неблагополучных населенных пунктах внедрить комплексную

систему медицинских и ветеринарных профилактических противотуберкулезных мероприятий среди контактирующего населения и крупного рогатого скота.

### **Практические рекомендации**

1. Модифицированные плотные питательные среды предлагаются для бактериологической диагностики туберкулеза в практических лабораториях и научно-исследовательских учреждениях ветеринарного и медицинского профиля

2. Для повышения чувствительности бактериологической диагностики методом посева рекомендуем использовать сорбент – энтеросгель.

3. Для дифференциальной диагностики туберкулиновых реакций у скота, необходимо использовать молекулярный метод исследования с применением ПЦР.

4. В очаге туберкулезной инфекции, необходимо провести комплекс медико-ветеринарных противотуберкулезных мероприятий с учетом его особенностей

5. Патент РФ на изобретение № 2272285 «Способ выращивания микобактерий туберкулеза» от 20.03.2006 г. (соавторы Г.И. Алексеева, И.А. Фазульянова, М.В. Черных)

6. Научные разработки диссертационной работы нашли отражение в комплексных планах и пособиях, внедренных и принятых для внедрения в ветеринарную практику

- Методическое пособие «Комплексные противоэпидемические и ветеринарно-санитарные мероприятия в очаге туберкулезной инфекции животноводческих хозяйств» (утвержденный и одобренный для внедрения ученым советом ГУ ЯНИИТ МЗ РС (Я), протокол № 5 от 18.05.2005 г. и НТС Департамента ветеринарии МСХ РС (Я), протокол № 250 от 20.01.2006 г.).

- Методическое пособие «Применение энтеросгеля и гумата натрия в микробиологической диагностике туберкулеза» (утвержденный и одобренный для внедрения ученым советом ГУ ЯНИИТ МЗ РС (Я), протокол № 6 от 08.06.2004 г. и НТС Департамента ветеринарии МСХ РС (Я), протокол № 250 от 20.01.2006 г.).

### **Список работ, опубликованных по теме диссертации:**

1. Использование сапропелей для питательных сред при выращивании микобактерий туберкулезного комплекса / Соавт.: Г.И. Алексеева, А.А. Перк, М.С. Егорова, М.И. Мьяркиянов // Высокие технологии добычи, глубокой переработки и использования болотно-озерных отложений : тез. докл. Междунар. науч.-практ. конференции (12 – 15 марта 2003 г.). - Томск, 2003. – С. 100 – 101.

2. Лекарственная устойчивость микобактерий туберкулеза и массивность бактериовыделения у впервые выявленных больных туберкулезом органов дыхания / Соавт.: Г.И. Алексеева, И.А. Фазульнова, М.В. Черных // Десятый Российско-Японский Междунар. мед. симпозиум. – Якутск, 2003. – С 169 – 170.
- 3 Прижизненная диагностика туберкулеза крупного рогатого скота с применением полимеразной цепной реакции / Соавт.: Г.П. Протодяконова, Г.И. Алексеева // Межд. симп. Японо-Росс. мед обмена (Ниигата, Япония; 2004, 10 – 11 Авг.). – С. 269.
- 4 Способ определения лекарственной чувствительности микобактерий туберкулеза / Соавт.: Г.И. Алексеева, М.В. Черных // 3 Конгресс Европ Региона IUATLO. 14 Нац Конгресс Росс. Респиратор. Общества (Москва. 22 – 26 июн., 2004) : сб. тез – Пульмонология. – Прил. – М. – 2004. – С. 49. 382.
5. Взаимосвязь туберкулеза животных и человека в Якутии / Соавт.: Г.П. Протодяконова // Повышение эффективности лечения и профилактики акушерско-гинекологических заболеваний и биотехники размножения животных : тез докл. Междунар науч.-практ. конференции (8 – 9 июня 2005 г) - Вятск, 2005 – С. 133 – 134.
6. Вопросы диагностики и взаимосвязи туберкулеза крупного рогатого скота и человека в Якутии / Соавт.: Г.П. Протодяконова // Научные труды молодых ученых аграрных вузов России : сб. ст. аспирантов и молодых ученых. Якутск, 2003. – С.71 – 74.
7. Прижизненная дифференциальная диагностика туберкулеза крупного рогатого скота с применением ПЦР / Соавт.: Г.П. Протодяконова // Научные труды молодых ученых аграрных вузов России : сб. ст. аспирантов и молодых ученых - Якутск, 2003. – С. 64 – 68.
8. Вопросы взаимосвязи туберкулеза крупного рогатого скота и человека в Якутии // Дальневосточный медицинский журнал № 1, 2004. - С.167 – 168.
9. Модифицированные питательные среды для выращивания микобактерий туберкулеза / Соавт.: Г.И. Алексеева // Вопросы формирования здоровья и патологии человека на Севере: факты, проблемы и перспективы : матер науч.-практ конф., (5 – 6 декабря 2002 г.). –Якутск : ЯФ Изд-ва СО РАН, 2002. - С.189 – 191.
10. Современные возможности лабораторной диагностики туберкулеза / Соавт.: Г.И. Алексеева // Проблемы туберкулеза в Якутии: эпидемиология, организация и лечение : сб. тр. I (XXIV).-Якутск, 2002. – С. 204 – 214.
11. Применение сапропелей для выращивания микобактерий туберкулезного комплекса / Соавт.: Г.И. Алексеева, А.А. Перк, М.С. Егорова, М.И. Мьярякнов // Избранные вопросы теоретической и практической медицины в условиях Якутии : сб. ст. науч.-практ. конф.

посвящ. 45-лет. выш. мед. образования РС(Я) (25-26 апреля 2003 г.).-Якутск, 2003. – С 150 – 152.

12. Способ определения лекарственной чувствительности микобактерий туберкулеза / Соавт.: Г.И. Алексеева, М.В. Черных, И.А. Фазульянова // Проблемы туберкулеза в Якутии: эпидемиология, организация и лечение : сб. тр. II (XXV). -Якутск, 2003. – С. 94 – 97.

13. Повышение диагностической эффективности плотных питательных сред для выращивания микобактерий / Соавт.: Г.И. Алексеева, А.А. Перк, М.В. Черных // Проблемы туберкулеза в Якутии: эпидемиология, организация и лечение : сб. тр. II (XXV).-Якутск, 2003 – С.79 – 82.

14 Выращивание микобактерий туберкулеза из диагностического материала / Соавт.: Г.И Алексеева, М.В. Черных, И.А. Фазульянова, Н.К. Павлова // Проблемы туберкулеза в Якутии: эпидемиология, организация и лечение : сб тр III (XXVI).-Якутск, 2004. – С 138 – 141.

15 Прижизненная дифференциальная ПЦР – диагностика туберкулеза КРС / Соавт.: Г.П. Протодьяконова, Г.И. Алексеева // Проблемы туберкулеза в Якутии: эпидемиология, организация и лечение : сб тр III (XXVI).-Якутск, 2004. – С.141 – 142.

16. Биологические свойства активных популяций возбудителя у больных туберкулезом легких / Соавт.: М.В. Черных, Г.И. Алексеева // Проблемы туберкулеза в Якутии: эпидемиология, организация и лечение : сб тр IV (XXVII).-Якутск, 2005. – С.141 – 142.

17 Комплексные противоэпидемические и ветеринарно-санитарные мероприятия в очаге туберкулезной инфекции животноводческих хозяйств: метод пособие / Соавт : Г.П. Протодьяконова, Г.И. Алексеева ; М – во с/х РС (Я), ФГОУ ВПО ЯГСХА, М – во здравоохранения РС (Я), ГУ ЯНИИТ ; [под ред. д.м.н , проф. М.А. Тырылгина]. – Изд-во ЯГУ, 2006. – 24 с.

18. Применение энтеросгеля и гумата натрия в микробиологической диагностике туберкулеза: метод. пособие / Соавт.: Г.И. Алексеева, М.В. Черных ; М – во здравоохранения РС (Я), ГУ ЯНИИТ, М – во с/х РС (Я), Департамент ветеринарии. – Изд-во ЯГУ, 2006. – 10 с.

Автор выражает искреннюю благодарность за поддержку и помощь в работе коллективам бактериологической лаборатории ГУ Якутского научно-исследовательского института туберкулеза МЗ РС(Я), Якутской республиканской ветеринарно-испытательной лаборатории, а также специалистам Департамента ветеринарии МСХ РС (Я).

Подписано в печать 27.04.2006. Формат 60x84/16. Бумага тип. №2. Гарнитура «Таймс». Печать офсетная. Печ.л. 1,75. Уч.-изд.л. 2,19. Тираж 100 экз. Заказ //2.

Издательство ЯГУ, 677891, г. Якутск, ул. Белянского, 58  
Отпечатано в типографии Издательства ЯГУ

2006A  

---

9553

**P - 95 53**