

На правах рукописи



Баратов Магомед Омарович

**ЭПИЗООТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ
И СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ МЕТОДА ДИАГНОСТИКИ
ТУБЕРКУЛЕЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА
В УСЛОВИЯХ ДАГЕСТАНА**

16.00.03 — ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология,
микология с микотоксикологией и иммунологией

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

Ставрополь — 2006

Работа выполнена в лаборатории туберкулеза Прикаспийского ЗНИВИ

Научный руководитель: доктор ветеринарных наук, профессор
Ахмедов Магомед Мургузалиевич

Официальные оппоненты: доктор ветеринарных наук, доцент
Кононов Анатолий Николаевич

кандидат ветеринарных наук
Фоменко Михаил Васильевич

Ведущее учреждение: ФГОУ ВПО «Кабардино-Балкарская
государственная сельскохозяйственная
академия»

Защита состоится « 8 » декабря 2006 г. в 10 часов на
заседании диссертационного совета Д 220.062.02 при ФГОУ ВПО
«Ставропольский государственный аграрный университет» по адресу:
355017, г. Ставрополь, пер. Зоотехнический, 12.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГОУ ВПО
«Ставропольский государственный аграрный университет».

Автореферат разослан « 1 » ноября 2006 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета



А. Н. Квочко

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. Проблема туберкулеза является одной из важнейших в ветеринарии и медицине, что объясняется широкой распространенностью болезни, ростом микобактериальных инфекций, обусловленных атипичными микобактериями, огромным экономическим ущербом и опасностью для здоровья людей. Удельный вес этой болезни составляет в среднем в России 37 % всей инфекционной патологии у крупного рогатого скота. По федеральной целевой программе «Неотложные меры борьбы с туберкулезом в России на 1998–2004 гг.» в стране зарегистрировано более 1000 неблагополучных ферм, в которых содержатся 44,2 тыс. голов больного скота и ежегодно заболевают до 8 тыс. животных. Вместе с тем, эта инфекция не имеет одинаковой степени распространения в отдельно взятых регионах, областях и республиках (Авилов В.М. и др., 1997; Кучеров А.Л., 1990). В тоже время массовые перемещения и перегоны скота, бесконтрольная реализация животноводческой продукции и кормов, перегруппировки животных без учета эпизоотической ситуации создают угрозу заноса возбудителя в благополучные хозяйства. Нельзя исключить в этом процессе и роль природно-климатических факторов (Александров Н.А., 1973; Чепик Г.В., 1973; Бокун А.О. и др., 1976).

Важное значение в профилактике туберкулеза имеет своевременная диагностика, которая основана на микроскопии мазков, окрашивании по методу Циля–Нельсена, культивировании на питательных средах, биопробе и аллергической пробе. Все эти методы имеют свои недостатки по чувствительности, сложности, времени и дороговизне. Наиболее эффективной является аллергическая проба с туберкулином, хотя и она дает неспецифические реакции.

Территория Республики Дагестан является весьма неблагополучной по туберкулезу в эпизоотическом и эпидемиологическом отношении. Достаточно сказать, что показатель заболеваемости животных в последние 10–15 лет колеблется в пределах 0,15 %, а заболеваемость и смертность среди населения в 1,5 раза выше, чем в среднем по России.

Представляют интерес данные отечественных и зарубежных исследователей о выявлении в ранее неблагополучных по туберкулезу хозяйствах реагирующих на туберкулез животных по туберкулиновой пробе при отсутствии подтверждения такового другими методами диагностики. Это, на наш взгляд, объясняется сенсibilизацией организма животных атипичными микобактериями, имеющими общее антигенное родство с возбудителями туберкулеза животных. В этом плане

нокардии, родококки и коринебактерии представляют особый интерес как наиболее близкородственные к микобактериям микроорганизмы, которые могут играть значительную роль в сенсibilизации организма животных к ППД-туберкулину, что требует глубокого научного изучения на большом фактическом материале.

Совершенствование мер борьбы с учетом региональных особенностей и разработка методов дифференциальной диагностики туберкулеза крупного рогатого скота в Республике Дагестан весьма актуально и требует научно обоснованного разрешения.

Цель и задачи исследования. Изучить эпизоотию туберкулеза крупного рогатого скота и совершенствовать метод диагностики в условиях реформирования сельскохозяйственного производства.

Для разрешения были поставлены следующие задачи:

1. Изучить особенности эпизоотического процесса туберкулеза крупного рогатого скота в республике Дагестан за последние 15 лет.
2. Изучить сенсibilизирующие свойства нокардий, родококков и коринебактерий к ППД-туберкулину.
3. Разработать лабораторный регламент изготовления и стандартизации аллергенов из микроорганизмов, близкородственных к микобактериям.
4. Усовершенствовать метод аллергической реакции на туберкулин крупного рогатого скота.
5. Разработать и предложить научно обоснованную систему мер борьбы.

Научная новизна и практическая значимость. Определен ареал распространения микобактерий нокардий, родококков, коринебактерий в объектах внешней среды и возможность персистенции их в организме животных.

Разработаны методы получения и стандартизации сенситинов из нокардий и родококков. Расширена антигенная структура КАМ, на которую получен патент № 2217165 «Комплексный аллерген для дифференциации аллергических реакций у крупного рогатого скота на ППД-туберкулин для млекопитающих».

Определена роль парааллергических реакций в диагностике туберкулеза у крупного рогатого скота.

Разработаны и внедрены в ветеринарную практику методические рекомендации «Борьба с туберкулезом крупного рогатого скота в РД»

Основные положения, выносимые на защиту:

1. особенности эпизоотического процесса туберкулеза крупного рогатого скота в РД;

- ареал распространения близкородственных к микобактериям микроорганизмов и их роль в парааллергических реакциях;
- результаты получения и испытания сенситинов из нокардий и родококков при диагностике туберкулеза крупного рогатого скота.

Апробация работы. Материалы диссертации доложены на научно-практических конференциях: «По охране природы» (Махачкала, 2001 г.), «Актуальные проблемы туберкулеза» (Махачкала, 2002 г.), «Инфекционные болезни в регионах Северного Кавказа: эпидемиология, лабораторная диагностика и профилактика» (Махачкала, 2002 г.), «Проблема ветеринарной медицины в условиях реформирования сельскохозяйственного производства» (Махачкала, 2003 г.); на ученых и межлабораторных советах Прикаспийского зонального НИВИ (Махачкала, 2000–2005 гг.).

Публикация. По теме диссертации опубликованы 18 научных статей и методические рекомендации. Получен патент № 2217165 «Комплексный аллерген для дифференциации аллергических реакций у крупного рогатого скота на ППД-туберкулин для млекопитающих».

Объем и структура работы. Диссертация изложена на 109 страницах компьютерного текста и включает: введение, обзор литературы, материалы и методы, собственные исследования, обсуждение полученных результатов, выводы, практические предложения, список использованной литературы, приложения. В работе – 19 таблиц, 4 рисунка и карта-схема. Список использованной литературы состоит из 205 источников, из которых 91 иностранный.

2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Материалы и методы исследования

Работа выполнена в лаборатории туберкулеза и бруцеллеза Прикаспийского ЗНИВИ на кафедре эпизоотологии и микробиологии Даггоссельхозакадемии и в хозяйствах Республики Дагестан.

Для изучения эпизоотического процесса были использованы и подвергнуты статистической обработке официальные данные ветеринарной отчетности Комитета Правительства РД по ветеринарии, республиканской ветеринарной лаборатории и научные отчеты Прикаспийского ЗНИВИ за 45 лет.

Диагностические исследования животных проводились с применением следующих методов: внутрикожная проба – по Наставлению по

диагностике туберкулеза животных (1986); пальпебральная — с использованием ППД-туберкулина для млекопитающих в дозе 10МЕ (0,2 см³ растворителя); внутривенная — по Р.А. Нуратдинову (1987). Всего исследовано животных: внутрикожной пробой — 29 158, пальпебральной — 76, внутривенной — 34, симультанной с КАМ — 403 головы.

Бактериологическому исследованию подвергнули 460 убойных животных. Посевы из патматериала производили в питательные среды ФИНН-2, Сотона, Левенштейна — Йенсена, Мюнца, МПА, нитратный агар по Виноградскому, среду с парафиновой приманкой Бучина и др. по методикам: А.П. Аликаевой (1940) — для микобактерий, Songen N. (1913) в модификации R. Gordon, W. Hagan (1936) — для нокардий и родококков.

Свойства коринебактерий-изолятов изучали в тестах по общепринятым методам (Методы изучения почвенных микроорганизмов и их метаболитов, 1966; Manual of Microbiological Methods, 1957; Abstract of Microbiological Methods, 1969).

Идентификацию выделенных культур микобактерий проводили по ГОСТ 26072—84 «Методы лабораторной диагностики туберкулеза» (Ст. СЭВ 3457-81 от 9.01.1984) и ГОСТ 27318—87 «Методы идентификации атипичных микобактерий» (Ст. СЭВ 5627-86 от 2.06.1987 г.), нокардий и родококков — на основе биохимических свойств: по В. Becker (1964); F. Kanetsuna, A. Bartoli (1972); M. Lechewalier (1968); M. Goodfellow (1971); R.E. Gordon, (1953); R. Hugh и E. Lefson (1953).

Для экспериментального заражения подопытных животных использовали музейные штаммы: *M. bovis* шт. 637, *M. scrofulaceum*, *M. БЦЖ*, *M. lei*, *M. avium*, *M. tuberculosis*; нокардий — *N. asteroides* (ВКМ Ас 1077), *N. brasiliensis* (ВКМ Ас 867), *N. vaccinii* (ВКМ Ас 856); родококков — *R. amarae* (ВКМ Ас 801), *R. equi* (ИМВ Ас 740), *R. rhodochrous* (ИМВ Ас 744), *R. ruber* (ИМВ Ас 745), *R. luteus* (ИМВ Ас 385), *R. maris* (ИМВ Ас 195), *R. bronchialis* (ИМВ Ас 737), коринебактерий — *C. unternice nontoxigen* №25, 7227, *C. xerosis* №1911, *C. nontoxigen*.

Культуры нокардий и родококков были получены в ИМБ им. Д.К. Заболотного АН Украины, а коринебактерии — в НПО «Питательные среды» г. Махачкала.

Сенсибилизирующие свойства коринебактерий к туберкулину изучали на морских свинок путем заражения и исследования их через 20 дней, а нокардий и родококков — на кроликах в динамике. Учет и оценку реакций проводили через 24—48 часов с момента введения аллергена по общепринятой методике, а затем через каждые 30 дней.

Наблюдения вели в течение 90 дней. Реагирующими считали животных, у которых площадь воспалительного участка ушной раковины в месте введения туберкулина составляла 50 мм² и более.

Опытные образцы аллергенов из *N. asteroides* и *R. bronchialis* получали путем осаждения активного белка из культуральной жидкости в изоэлектрической точке с NaCl после 2-месячного выращивания их на синтетической среде Сотона. Осажденный белок растворяли в дистиллированной воде, определяли по методу Лоури и концентрацию его подвели к аналогичной в туберкулине. Стерильность и безвредность изучали по общепринятым методам.

Биологическую активность сенситинов изучали на зараженных нокардиями и родококками кроликах и морских свинках, здоровых и больных туберкулезом животных и на поголовье с неспецифической сенсбилизацией к туберкулину.

Экономический эффект рассчитывали согласно инструкции, утвержденной Департаментом ветеринарии МСХ и продовольствия РФ от 21 февраля 1997 года. Некоторые методики исследования изложены в соответствующих разделах.

3. ЭПИЗООТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ТУБЕРКУЛЕЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА В РЕСПУБЛИКЕ ДАГЕСТАН

Туберкулез в республике установлен впервые в 1954 году и с тех пор регистрируется в различных природно-географических зонах. Анализ данных по туберкулезу за 45 лет показывает, что в отдельные годы инфекция протекала эпизоотически и характеризовалась тремя межэпизоотическими периодами с продолжительностью в 15–16 лет. Первый период (1960–1975 гг) характеризуется широким распространением туберкулеза в хозяйствах 31 района из 39, выявлением значительного количества неблагополучных пунктов (125), заболевших (1896) и инфицированных (1786) животных, а также широкомасштабным проведением комплекса профилактических мероприятий.

Второй период (1976–1991) связан с ухудшением обстановки и дальнейшим распространением туберкулеза в различных зонах республики. Наибольшее распространение болезнь имела место особенно в хозяйствах, находившихся на административной территории Бабаюртовского, Карабудахкентского (плоскостная зона), Буйнакского, Хасавюртовского (предгорная зона), Курахского, Лакского, С. Стальского и Цунтинского (горная зона) районов.

Так, в Бабаюртовском районе из 11 хозяйств неблагополучными оказались 8, в Карабудахкентском — 10; Хасавюртовском — 8; Хунзахском — 5; С. Стальском — 5, а в других — от 1 до 4. Такое положение, на наш взгляд, объясняется ослаблением контрольно-диагностических исследований в благополучных и ранее оздоровленных хозяйствах, отсутствием изолированного выращивания молодняка в неблагополучных хозяйствах, комплектованием крупных промышленных комплексов по производству мяса и молока телками из хозяйства-поставщиков без учета их эпизоотического благополучия. Все это, в конечном счете, привело к возникновению крупных очагов туберкулеза: неблагополучных пунктов — 73, заболевших — 18,7 % и инфицированных — 55,9 %.

Особо тяжелая ситуация сложилась в хозяйствах Карабудахкентского района, где практически не было ни одного стада, благополучного по туберкулезу. По этой причине в хозяйствах района выявлено и сдано на убой 61402 головы больного туберкулезом скота.

Итак, в республике из 21 комплекса промышленного типа не было ни одного благополучного по туберкулезу. Во многих из них заболеваемость была настолько высока, что приходилось применять радикальные меры вплоть до полной замены всего скота здоровым поголовьем. К числу таких относится к/з им. Горького Хасавюртовского, все молочно-товарные комплексы Карабудахкентского, к/з «Оборона страны» Дербентского районов.

В отдельные годы заболеваемость крупного рогатого скота туберкулезом в хозяйствах Карабудахкентского района составляла от 50,2 до 97 %, Хасавюртовского — от 4,3 до 13,2, Бабаюртовского — от 8,9 до 16,1, Гумбетовского — от 4,4 до 24 % и т. д. Причем в одних хозяйствах пораженность скота составляла 41–85 %, а в других (с/з «Россия» Карабудахкентского, им. Горького Хасавюртовского, к/з «Оборона страны» Дербентского районов) — 97–100 %. К тому же, в хозяйствах (с/з «Кучгюрский» Курахского, к/з им. Габиева Лакского, к/з им. Ю. Акаева Буйнакского, с/з «Доргели» и с/з «Рассвет» Карабудахкентского районов) отмечены случаи повторного заболевания туберкулезом.

За указанный период во всех категориях хозяйств республики исследовано 12 088 973 животных и выявлено 170 577 больных туберкулезом, что составляет 1,4 %.

Из 17 болезней нозологического профиля туберкулез занимает второе место в патологии инфекционных болезней крупного рогатого скота (табл. 1).

Таблица 1

**Удельный вес туберкулеза крупного рогатого скота
инфекционной патологии (1986–2005 гг.)**

№ п/п	Наименование болезни	Неблагополучные пункты	Кол-во заболевших животных	Удельный вес, %	
				неблагоп. пунктов	заболевших животных
1	Бруцеллез	301	22 185	38,19	72,97
2	Туберкулез	63	5444	7,99	17,91
3	Злокач. катар. горячка	63	113	7,99	0,37
4	Пастереллез	62	844	7,86	2,77
5	Сальмонеллез	62	267	7,86	0,87
6	Колибактериоз	36	128	4,56	0,42
7	Эмфизем. карбункул	31	187	3,93	0,62
8	Лептоспироз	38	511	4,82	1,68
9	Злокачественный отек	24	37	3,04	0,14
10	Бешенство	41	119	5,20	0,39
11	Сибирская язва	6	29	0,76	0,09
12	Некробактериоз	4	124	0,50	0,40
13	Паратуберкулез	4	25	0,50	0,08
14	Диплококковая инфекция	3	16	0,30	0,05
15	Актиномикоз	2	137	0,25	0,45
16	Хламидиоз	2	20	0,25	0,07
17	Трихофития	46	216	5,83	0,71
Всего		788	30 402	100,0	100,0

Как видно из таблицы 1, среди всех инфекционных заболеваний крупного рогатого скота, зарегистрированных за последние 19 лет, на долю туберкулеза приходится 7,9 % неблагополучных пунктов и 17,9 % заболевших животных. По причине туберкулеза за это время убито 25 007 голов, из которых более 70 % коров.

Третий период (1992–2005 гг.) характеризуется радикальными изменениями условий хозяйствования, что привело к резкому уменьшению общественного поголовья и увеличению его в частном секторе, затруднению осуществления ветеринарного контроля над больными животными и продуктами животного происхождения при уличной торговле, а также проведению плановых диагностических исследований. Несмотря на это, в последние годы отмечено значительное улучшение эпизоотической ситуации республики по туберкулезу. Так, с 1992 г. по 1996 г. лишь в отдельных хозяйствах проявились спорадические случаи заболевания. Всего зарегистрировано 8 неблагополучных пунктов, где заболеваемость доходила до 0,8 %. Начиная с 1997 г. отмечается тенденция к снижению заболеваемости животных туберкулезом в республике.

Вместе с тем показатель очаговости все еще высок. Остается неизвестным истинное положение туберкулеза скота в частном подворье, а заболеваемость людей доходит в среднем до 62,9 человека на 100 тыс. населения. Все это свидетельствует о низком уровне проведения диагностических исследований в республике в целом.

В возникновении и распространении туберкулеза в большинстве хозяйств решающее значение имеют: приобретение животных из неблагополучных хозяйств, межхозяйственные связи, бесконтрольные перегруппировки и перемещения поголовья, вскармливание животных инфицированными кормами, молоком, обратом, наличие в стадах анергичных животных, отсутствие изолированного выращивания молодняка и т. д.

3.1. Влияние природно-географической зональности на интенсивность эпизоотического процесса

Природно-климатические условия Республики Дагестан имеют свои характерные особенности и могут повлиять прямо или косвенно на проявление эпизоотического процесса. По характеру рельефа, природным условиям и специализации сельского хозяйства территория республики делится на горную, предгорную и равнинную зоны, где проявление и течение туберкулеза протекают в разной степени напряженности (табл. 2).

Таблица 2
Распространение туберкулеза крупного рогатого скота по зонам за 1987–2005 гг.

Зоны	Всего неблагоп. пунктов	%	Колич. исслед. живот.	%	Заболело	%
Равнинная	34	66,66	15670	43,22	1716	67,99
Предгорная	13	25,49	10867	29,71	612	24,25
Горная	4	7,85	9734	26,83	196	7,76

Как видно из таблицы 2, природно-климатические условия всех трех зон (температура, рН, влажность) способствуют сохранению возбудителя во внешней среде, о чем свидетельствует стационарное неблагополучие их по туберкулезу. Наибольшее количество неблагополучных пунктов (66,66 %), заболевших животных (67,99 %) приходится на равнинную зону, а наименьшее — 7,85 %, 7,76 % — на горную соответственно.

Постепенное уменьшение пастбищных площадей в равнинной и предгорной зонах и короткие сроки их использования в горной и высоко-

горной приводят к повышению концентрации животных на ограниченных площадях в течение длительного периода, в связи с чем увеличивается вероятность перезаражения и распространения болезни.

Представляет интерес вопрос выяснения влияния сезонов года на проявление аллергических реакций у животных. Для этого в неблагоприятном по туберкулезу комплексе «Хамамаюртовском» Бабаюртовского района животных исследовали в течение 2-х лет с интервалом в 45–60 дней. Характер сезонной динамики заболеваемости определяли по суммарным данным. При этом отмечено, что процент реагирующих в ноябре–феврале составляет 8,5, марте–июне – 47,5, а сентябре–октябре – 32,5. Полученные данные показывают на целесообразность проведения плановых диагностических исследований в условиях республики в весенне-осенние периоды.

4. УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ МЕТОДОВ ДИАГНОСТИКИ ТУБЕРКУЛЕЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

4.1. Изучение этиологии парааллергических реакций к туберкулину

Диагностика туберкулеза животных в целом основана на результатах лабораторных исследований и данных патолого-анатомических изменений. Бактериологический метод является основным, а аллергические показатели ориентировочными. Исследования по выяснению степени сенсибилизации к ППД-туберкулину проводили в 32 благополучных и неблагополучных по туберкулезу хозяйствах, расположенных в различных зонах. Данные представлены в таблице 3.

Таблица 3

Результаты исследования животных на туберкулин

Зона	Исследовано	Кол. хоз-в	Реагировали	%	В том числе			
					в неблагополучных хоз-вах	%	в благополучных хоз-вах	%
Равнинная	23112	12	872	3,77	678	77,75	194	22,24
Предгорная	3797	10	151	3,97	107	70,86	44	29,13
Горная	2249	10	83	3,69	78	93,97	5	6,02
Всего	29158	32	1106	3,79	785	80,86	243	19,13

Как видно из таблицы 3, из общего количества исследованных процент реагирующих составляет 3,79, в том числе в неблагополучных хозяйствах – 80,86 %, а благополучных – 19,13 %. Средняя численность реагирующих в неблагополучных хозяйствах составляла 2,69 %, а в благополучных – 0,83 %.

Реакция на туберкулин у животных в благополучных хозяйствах проявлялась независимо от вертикальной зональности. В хозяйствах равнинной зоны реагировали 2,99 %, предгорной — 0,51 % и горной — 0,28 %.

Широкое распространение микобактериозов, вызванных атипичными микобактериями, подтверждено нами и бактериологически.

Исследованиями 222 проб биоматериала от реагировавших на туберкулин животных выделены 39 культур, из которых 17,6 % идентифицированы как *M. bovis*, а 82,4 % — как атипичные. По классификации Раньона из 27 атипичных культур 51,3 % отнесено ко II, 4,2 % — к III и 44,5 % — к IV группам.

Результаты исследований 44 проб молока и 20 влагалищных выделений больных эндометритом коров, реагировавших на туберкулин, были отрицательными.

Нам ни в одном случае не удалось выделить культуры *M. tuberculosis*, тогда как при наличии характерных для туберкулеза изменений *M. bovis* изолировали практически во всех случаях, а в 4,9 % случаев и при их отсутствии.

Из объектов внешней среды (почва, корма, вода, навоз) микобактерии выделены в 62 случаях, что составляет 29,11 %, при идентификации которые отнесены к *M. bovis* — 6 культур (9,68 %) и атипичным — 56 (90,32 %), что указывает на широкое распространение атипичных микобактерий.

Патогенные свойства культур-изолятов изучали на морских свинках (табл. 4).

Таблица 4

Динамика аллергических реакций на ППД-туберкулин для млекопитающих и КАМ у морских свинок, зараженных полевыми изолятами микобактерий

Вид микобактерий	Число животных в группе	Реагировали через					
		30 дней		60 дней		90 дней	
		на ППД-т	КАМ	на ППД-т	КАМ	на ППД-т	КАМ
<i>M. БЦЖ</i>	6	+	+	+	+	+	-
<i>M. scrofulaceum</i>	6	+	+	+	+	+	+
<i>M. gordonae</i>	6	+	+	-	+	-	-
<i>M. smegmatis</i>	6	+	+	-	+	-	-
<i>M. phlei</i>	6	+	+	+	-	-	-
<i>M. fortuitum</i>	6	+	+	+	+	-	-
<i>M. avium-intracellulare</i>	6	+	+	-	+	-	-
Контроль	6	-	-	-	-	-	-

Из таблицы 4 видно, что все культуры обладают выраженной сенсibiliзирующей активностью в течение 60–90 дней, за исключением *M. smegmatis* и *avium-intracellulae*, у которых реакция на КАМ сохранялась в течение 60 дней.

При исследовании 255 проб почвы, воды, навоза и кормов выделено 197 культур (77,25 %), из которых 86 – нокардий и 111 – родококки, что свидетельствует о широком распространении их в природе.

Следующим этапом наших исследований было выяснение возможной циркуляции указанных таксонов в организме крупного рогатого скота. Для этих целей в 5-ти хозяйствах от реагирующих на туберкулин животных для исследования брали 35 проб биоматериала (табл. 5).

Таблица 5

**Результаты исследования биоматериала
от реагирующих на туберкулин животных**

№ п/п	Хозяйство	Район	Кол-во проб	Выделенные культуры			
				нокар- дии	%	родо- кокки	%
1	с/х «Усишинский»	Акушинский	6	–	–	3	50,00
2	с/х «Хуринский»	Лакский	4	–	–	3	75,00
3	к/х им. «Ленина»	Лакский	10	1	10,00	2	20,00
4	с/х «Хамамаюр- товский»	Бабаюртовский	10	3	30,00	–	–
5	с/х «Рассвет»	Карабудахкентский	5	1	20,00	1	20,00
Всего			35	5	14,28	9	25,71

Как видно из таблицы 5, посевами из органов выделено 14 культур (40,0 %), в том числе: родококков – 9 (25,71 %) и нокардий – 5 (14,28 %). В тоже время следует отметить, что из влагалистных выделений (15 проб) родококков выделено в 1,6 раза больше, чем нокардий.

Сенсibiliзирующие свойства 13 близкородственных к микобактериям микроорганизмов изучены нами в экспериментальных условиях на 57 кроликах (по 4 на каждую культуру) с соответствующими контролями, которых заражали музейными культурами и полевыми изолятами (табл. 6).

Таблица 6

**Динамика аллергических реакций на туберкулин
у экспериментально зараженных кроликов**

№ п/п	Культуры	Кол. гол. в опыте	Дни исследования и результаты		
			30	60	90
1	M. БЦЖ	4	171,7±14,4	193,5±78,5	215 (1)
2	M. awium	4	114,7±92,7	345,0 (1)	—
3	M. scrofulaceum	4	157,3±52,4	65,0 (1)	137,0 (1)
4	N. transvalensis	4	67,6±25,2	—	—
5	N. asteroides	4	216,5±91,5	—	—
6	N. brasiliensis	4	42,7±8,9	—	—
7	N. transvalensis (Рассвет-17)	4	262,8±54,3	—	—
8	N. brasiliensis (Хамаматюрт-1)	4	347,8±54,3	—	—
9	N. asteroides (Гелинская)	4	231,0±119,0	—	—
10	R. equi	4	150,0 (1)	—	—
11	R. bronchialis	4	—	—	—
12	R. bronchialis (Хамаматюрт-2)	4	207,8±16,7	—	—
13	R. erithropolis (Хамаматюрт-13)	4	—	—	—
14	Контроль	5	—	—	—

Из данных таблицы 6 видно, что у кроликов, зараженных микобактериями, интенсивность реакции постоянно была высокая, а у зараженных *N.asteroides*, *brasiliensis*, *transvalensis*, *R. equi* и полевым изолятом *R. bronchialis* — через 30 дней. На 60–90 день животные, зараженные нокардиями и родококками, не реагировали на ППД-туберкулин. Контрольные животные всегда реагировали отрицательно.

Аналогичная работа по коринебактериям проведена и на 15 морских свинок (по 3 на каждый штамм). Культуры вводили подкожно в области лопатки в дозе 10 мг/см³. Спустя 20 дней после заражения свинкам внутрикожно инъецировали ППД-туберкулин в дозе 0,1 см³ (25 МЕ). Учет результатов проводили через 24 и 48 часов с момента введения аллергена. При этом ни одно животное не реагировало на туберкулин, что, на наш взгляд, связано с недостаточностью антигенного воздействия на организм животных.

4.2. Разработка, стандартизация и испытания нокардиозного и родококкового сенситинов

Недостаточная изученность факторов сенсibilизации макроорганизма к туберкулину, отсутствие надежных экспресс-методов диаг-

ностики затрудняют своевременную дифференциальную диагностику туберкулеза. В этой связи для получения сенситинов нами использованы культуры *N. asteroides* и *R. bronchiales* путем осаждения белка хлористым натрием. Для изучения их активности готовили 10 %-ный маточный раствор, а затем испытуемые концентрации 0,00005; 0,0001; 0,0002; 0,0003; 0,0004 и 0,0005 мг в 1 см³.

Испытание аллергенов проводили на кроликах, зараженных музейными культурами микобактерий, нокардий и родококков, а также изолятами от животных — *N. asteroides*, *N. brasiliensis*, *M. transvalensis*, *R. erithropolis*, *R. bronchialis*. В опыте участвовали 35 кроликов (по 2 на каждую культуру), которых заражали подкожно в области брюшка в дозе 10 мкг влажной культуры во взвеси в физиологическом растворе, а 5 голов служили контролем. Динамику аллергических реакций изучали 3-кратным исследованием через каждые 30 дней (табл. 7).

Как видно из таблицы 7, кролики реагировали: зараженные микобактериями — на ППД-туберкулин — стабильно с высокой интенсивностью, а на нокардин — с меньшей. У отдельных особей реакция к *M. scrofulaceum* и *M. phlei* сохранилась в течение 90 дней.

Аналогичный опыт был поставлен и по испытанию родококкового сенситина (табл. 8).

Из материалов таблицы 8 видно, что через 30 дней после заражения реагировали на туберкулин почти все кролики, а на 90-й — только на родококковый сенситин.

Сенситины в различных концентрациях испытаны нами и на 50 морских свинок (по 5 на каждую концентрацию), которых предварительно заражали *N. asteroides* (ВКМ Ас 1077) — 20, *R. bronchialis* (ИМВ Ас 737) — 20, а контролем служили — 10. При исследовании через 30 дней все свинки реагировали на дозы 0,00005 и 0,0001 отрицательно; 0,0002 — положительно, за исключением, одной из сенсibilизированных — *N. asteroides* и двух — *R. bronchialis*, а на 0,0003; 0,0004; 0,0005 — свинки всех подгрупп. В тоже время установить зависимость между концентрацией сенситина и интенсивностью реакций нам не удалось. Так, средняя интенсивность реакций у *N. asteroides* составляла: на концентрацию белка 0,0004 — $82,6 \pm 18,7$ мм², *R. bronchialis* 0,0003 — $50,0 \pm 9,3$ мм², которые, на наш взгляд, являются оптимальными.

Родококковый сенситин испытан нами и в производственных условиях на 326 животных с неопределенными результатами в симультанной пробе с КАМ. При этом в реакции на туберкулин была выражена у 18 (5,52 % животных), а на родококковый сенситин — у 38 голов (11,65 %), что дает основание предложить моноспецифические сенситины для дифференциации парааллергических реакций у животных.

Динамика аллергических реакций на туберкулин и нокардиозный сенситин
у экспериментально зараженных кроликов

№ п/п	Вид заражаемой культуры	Интенсивность реакции, мм ²					
		30 дней		60 дней		90 дней	
		ППД- туберкулин	нокардин	ППД- туберкулин	нокардин	ППД- туберкулин	нокардин
1	M. БЦЖ	171,7±14,4	101,5±57,5	193,5±78,5	187,1±62,5	215,0±0	-
2	M. avium	114,7±92,7	134,3±56,7	345,0±0	253,5±91,5	-	-
3	M. scrofulaceum	157,3±52,4	110,3±41,3	65,0±0	-	137,0±0	90,0±0
4	M. phlei	106,0±6,0	113±23,6	56,0±0	153,3±17,4	62,0±0	42,5±0
5	N. asteroides	100,0±0	196,0±53,1	-	219,0±56,0	100,0±0	62,0±0
6	N. brasiliensis	42,7±8,9	-	-	79,0±26,0	-	190,3±38,5
7	N. transvalensis	110,0±10,0	135,0±7,7	166,0±0	150,0±0	75,0±0	-
8	N. vaccinii	-	150,0±0	-	-	-	67,0±0
9	R. equi	150,0±0	-	-	50,0±0	-	208,0±97,7
10	R. bronchialis	-	-	-	67,0±11,3	-	155,0±20,0
11	N. transvalensis (в) *	262,8±54,3	-	-	128,0±68,0	-	201,0±74,0
12	N. asteroides (в)	231,0±19,0	-	-	71,7±22,0	-	143,0±7,0
13	N. brasiliensis (в)	347,8±89,2	-	-	59,5±29,5	95,0±0	135,3±34,8
14	R. erithropolis (в)	-	-	-	57,8±18,4	-	181,531,5
15	R. bronchialis (в)	207,8±16,7	158,5±8,5	-	-	125,0±0	112,317,3
16	Контроль (8 голов)	-	-	-	-	-	-

* (в) — полевой изолят.

Динамика аллергических реакций на туберкулин и родококковый синситин у экспериментально зараженных кроликов

№ п/п	Вид заражаемой культуры	Интенсивность реакции, в мм ²					
		30 дней		60 дней		90 дней	
		на ППД-туберкулин	сенситин родококков	на ППД-туберкулин	сенситин родококков	на ППД-туберкулин	сенситин родококков
1	М. БЦЖ	163,5±12,6	73,4±11,5	189,3±56,4	96,3±23,1	136,7±23,6	—
2	M. scrofulaceum	126,4±23,4	86,3±10,6	172,2±25,9	56,0±0	93,4±35,5	44,5±3,5
3	N. asteroides	77,6±13,5	88,6±23,5	—	33,4±0	—	—
4	N. brasiliensis	58,3±9,6	43,4±0	74,6±15,1	—	—	—
5	R. bronchialis	89,7±15,3	121,3±23,4	95,6±14,2	215,0±36,3	—	114,6±33,4
6	R. equi	45,4±0	76,6±23,4	99,8±13,4	176,2±25,6	—	94,6±0
7	N. asteroides (в) *	86,7±15,7	45,6±14,7	—	—	—	—
8	R. bronchialis (в)	152,3±33,4	213,2±52,1	55,6±0	187,4±14,6	59,6±0	76,6±13,2
9	Контроль	—	—	—	—	—	—

* (в) — полевой изолят.

5. ВЫВОДЫ

1. Туберкулез крупного рогатого скота в РД носит стационарный характер и имеет тенденцию к распространению, что связано с социально-экономическими преобразованиями, происходящими в последние годы. Удельный вес неблагополучных пунктов составляет — 7,9 %, заболевших животных — 17,9 %. Эпизоотологические показатели (на 100 тыс. голов) характеризуются следующими величинами: заболеваемость составляет 120–150 голов, количество реагирующих на туберкулин животных в равнинной зоне — 2,99 %, в предгорной — 0,51 и горной — 0,28.
2. Бактериологическим исследованием от крупного рогатого скота и объектов внешней среды выделена 101 культура, из которых при идентификации отнесены к *M. bovis* — 12 (11,88 %) и атипичным — 89 (88,12 %), причем из последних более 95 % составляли II и IV гр. классификации Раньона.
3. Эпизоотической особенностью туберкулеза крупного рогатого скота в республике является высокая инфицированность, сезонное проявление реагирующих на внутрикожную пробу (май-июнь и сентябрь-октябрь), широкое распространение атипичных микобактерий в природе (выделено из биоматериала 82,4 %, а из объектов внешней среды — 90,32 %), миграция *M. bovis* на человека (более 24 %).
4. В этиологии парааллергических реакций значительную роль играют микроорганизмы нокардии и родококки, где количество реагирующих на нокардин составляло 53,8 %, животных со средней интенсивностью ($4,0 \pm 0,07$ мм) на родококковый сенситин — 11,65 % ($4,1 \pm 0,09$ мм).
5. Установлено широкое распространение нокардий, родококков и коринебактерий в природе, что подтверждается выделением из биоматериала нокардий в 14,28 % случаях и 43,65 % из объектов внешней среды, родококков — в 25,71 % и 56,34 % и коринебактерий — в 31,25 % и 25,92 % соответственно. При идентификации культур: *N. asteroides* составляла 68,9 %, *R. erhitropolis* — 45,2 % и *R. soprofilus* — 20,8 %.
6. Разработан способ получения сенситинов из нокардий и родококков, добавлением которых расширена антигенная структура КАМ. На изобретение получен патент №2217165 «Комплексный аллерген для дифференциации аллергических реакций у крупного рогатого скота на ППД-туберкулин для млекопитающих».

Изготовлено 10 серий, которые оказались стерильными, безвредными специфическими и активными.

7. Установлена зависимость интенсивности кожной реакции от содержания активного белка в сенситине. Оптимальными дозами, оттитрованными на морских свинках, являются для *N. asteroides* — 0,0004 мг, а *R. bronchialis* — 0,0003 мг.
8. Эффективность от внедрения усовершенствованных нами методов диагностики и профилактики туберкулеза крупного рогатого скота составляет 2 рубля 32 копейки на каждый затраченный рубль.

6. ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. Диагностику и профилактику туберкулеза крупного рогатого скота необходимо проводить в соответствии с методическими рекомендациями «Борьба с туберкулезом крупного рогатого скота в Республике Дагестан», утвержденными ученым советом Прикаспийского ЗНИВИ (21.05.02, протокол № 6) и НТС Комитета Правительства РД по ветеринарии (24.06.02, протокол № 4).

2. В неблагополучных по туберкулезу крупного рогатого скота хозяйствах, с целью дифференциации парааллергических реакций, диагностические исследования проводить с использованием сенситинов из близкородственных к микобактериям микроорганизмов.

3. Некоторые положения работы использованы при разработке Государственной целевой программы на 1998–2007 гг. «Борьба с туберкулезом в РД».

Материалы диссертации могут быть использованы также в учебном процессе по курсу «Ветеринарная микробиология, эпизоотология и патологическая анатомия».

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Баратов, М.О. Выделение из объектов окружающей среды бактерий, усваивающих n-алканы / М.О. Баратов, Р.А. Нуратинов, Э.А. Вердиева // Тез. докл. XVI научн.-практ. конф. по охране природы Дагестана. — Махачкала, 2001. — С. 204—205.
2. Баратов, М.О. Аспекты экологии коринебактерий / М.О. Баратов, Р.А. Нуратинов, Э.А. Вердиева // Матер. научн.-практ. конф. «Актуальные проблемы туберкулеза». — Махачкала, 2002. — С. 69—72.
3. Баратов, М.О. Культуральные и морфологические свойства коринебактерий / М.О. Баратов, Р.А. Нуратинов // Вестник ветер. — 2002. — №23. — С. 25—27.
4. Баратов, М.О. К вопросу токсономии и систематики коринебактерий / М.О. Баратов // Вестник ветеринарии. — 2003. — №25. — С. 3—8.
5. Баратов, М.О. К вопросу о распространенности коринебактерий / М.О. Баратов // Матер. научн.-практ. конф. «Проблемы ветеринарной медицины в условиях реформирования сельскохозяйственного производства». — Махачкала, 2003. — С. 51—52.
6. Баратов, М.О. Самофиксирующий молочный катетер / М.О. Баратов, Р.А. Нуратинов // Состояние и перспективы внедрения достижений ветеринарной науки и практики в сельскохозяйственное производство. — Вологда, 2002. — С. 106—107.
7. Вердиева, Р.А. Микобактериальный пейзаж в животноводческих районах в РД / Э.А. Вердиева, Р.А. Нуратинов, М.О. Баратов // Тез. докл. кардинационного совещания и конф. — Омск, 2001. — С. 75—78.
8. Нуратинов, Р.А. Об аллергической реакции при диагностике туберкулеза / Р.А. Нуратинов, К.Р. Ургуев, М.О. Баратов и др. // Вестник Росс. акад. сельхоз. наук. — 2001. — №3. — С. 69—72.
9. Нуратинов, Р.А. Кислотоустойчивые микроорганизмы — микобактерии, нокардии, родококки: химический состав, биологические свойства, антипенная структура / Р.А. Нуратинов, К.Р. Ургуев, М.О. Баратов и др. // Проблемы туберкулеза. — 2001. — №5. — С. 54—57.
10. Нуратинов, Р.А. Аллергические реакции на туберкулин у больного актиномикозом крупного рогатого скота / Р.А. Нуратинов, М.О. Баратов // Вестник ветеринарии. — 2001. — №19. — С. 3—6.

11. Нуратинов, Р.А. Изучение сенсibiliзирующих к туберкулину свойств нокардий и родококков / Р.А. Нуратинов, М.О. Баратов, И.В. Эфендиева // Ветеринария. — 2001. — №11. — С. 23–27.
12. Нуратинов, Р.А. Микобактерии и родственные им микроорганизмы в окружающей среде / Р.А. Нуратинов, Э.А. Вердиева, М.О. Баратов // Тез. докл. XVI научн.- практ. конф. по охране природы Дагестана. — Махачкала, 2001. — С. 204.
13. Нуратинов, Р.А. Ассоциированный антиген для РСК при бруцеллезе и туберкулезе КРС / Р.А. Нуратинов, М.О. Баратов // Тез. докл. кардинационного совещания и конф. — Омск, 2001.
14. Нуратинов, Р.А. К изучению этиологии парааллергии к туберкулину / Р.А. Нуратинов, М.О. Баратов // Сб. научн. тр., посвященный 50-летию Дагестанской противочумной станции. — Махачкала, 2002. — С. 184–186.
15. Нуратинов, Р.А. Экологические аспекты микобактерий / Р.А. Нуратинов, Э.А. Вердиева, М.О. Баратов и др. // Сб. научн. тр., посвященный 50-летию Дагестанской противочумной станции. — Махачкала, 2002. — С. 190–192.
16. Нуратинов, Р.А. Борьба с туберкулезом КРС в РД : метод. рекоменд. / Р.А. Нуратинов, Э.А. Вердиева, М.О. Баратов и др. — Махачкала, 2002.
17. Нуратинов, Р.А. Комплексный аллерген для дифференциации аллергических реакций на туберкулин у КРС / Р.А. Нуратинов, М.О. Баратов // Патент №2002106160. Госком. по делам изобретений и открытий. 2003.
18. Нуратинов, Р.А. Некоторые данные по эпизоотологии туберкулеза КРС в прикаспийском регионе РФ / Р.А. Нуратинов, М.О. Баратов // Матер. научн.-практ. конф. «Проблемы ветеринарной медицины в условиях реформирования сельскохозяйственного производства». — Махачкала, 2003. — С. 22–25.

Подписано в печать 31.10.2006.
Формат 60x84^{1/16}. Бумага офсетная. Гарнитура «Times». Печать офсетная.
Усл. печ. л. 1,4. Тираж 130 экз. Заказ № 670.

Налоговая льгота — Общероссийский классификатор продукции ОК 005-93-953000.

Издательство Ставропольского государственного
аграрного университета «АГРУС»,
г. Ставрополь, пер. Зоотехнический, 12.
Тел./факс (8652) 35-06-94. E-mail: agrus@stgau.ru; <http://agrus.stgau.ru>.
Отпечатано в типографии издательско-полиграфического комплекса
СтГАУ «АГРУС», г. Ставрополь, ул. Мира, 302.

