

Диагностические исследования при антропозоонозных инфекциях (на примере туберкулеза крупного рогатого скота)

И. А. Шкуратова, доктор ветеринарных наук, профессор, главный научный сотрудник, директор ФГБНУ «Уральский научно-исследовательский ветеринарный институт» (ФГБНУ «Уральский НИВИ»), Екатеринбург

А. П. Порываева, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник отдела мониторинга и прогнозирования инфекционных болезней ФГБНУ «Уральский НИВИ», Екатеринбург

А. С. Красноперов, кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник отдела экологии и незаразной патологии ФГБНУ «Уральский НИВИ», Екатеринбург

С. В. Малков, кандидат ветеринарных наук, научный сотрудник отдела экологии и незаразной патологии ФГБНУ «Уральский НИВИ», Екатеринбург

Туберкулез – широко распространенное инфекционное заболевание человека и животных, вызываемое микобактериями туберкулезного комплекса (*Mycobacterium tuberculosis complex* – МТВС). От больных туберкулезом животных могут заражаться люди, для них наиболее опасны *Mycobacterium bovis* (микобактерии туберкулеза бычьего). От людей, больных туберкулезом, микобактериями туберкулеза человека – *Mycobacterium tuberculosis* может заражаться крупный рогатый скот. Диагноз на туберкулез у крупного рогатого скота ставят на основании результатов аллергических, патолого-анатомических, гистологических и бактериологических исследований с учетом эпизоотологических данных и клинических признаков.

На современном этапе обеспечение эпизоотического благополучия сельскохозяйственных организаций по туберкулезу крупного рогатого скота (КРС) является одной из актуальных задач ветеринарной науки и практики. В Российской Федерации мероприятия по профилактике туберкулеза и по борьбе с ним проводятся в соответствии с санитарными и ветеринарными правилами «Профилактика и борьба с заразными болезнями, общими для человека и животных», утвержденными Госкомсанэпиднадзором и Департаментом ветеринарии Минсельхоза России 18 июня 1996 года, и «Наставлением по диагностике туберкулеза животных», утвержденным Департаментом ветеринарии Минсельхоза России 18 ноября 2002 года [1]. Ключевым звеном в программе мероприятий по профилактике и ликвидации туберкулеза крупного рогатого скота и по оздоровлению КРС служат «...систематические диагностические исследования животных, выделение из стад больных животных или целых неблагополучных групп с последующим их убоем...»

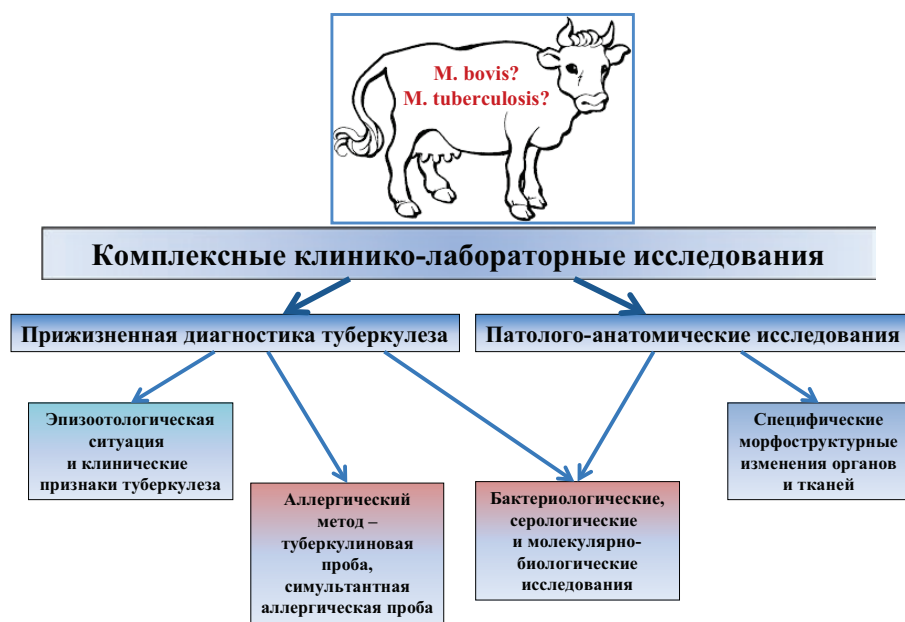


Рис. 1. Схема комплексных исследований крупного рогатого скота на туберкулез

[4]. Диагноз «туберкулез» устанавливается на основании результатов комплексных исследований (рис. 1).

Мониторинг эпизоотической ситуации по туберкулезу крупного рогатого скота в административно-территориальных субъектах

осуществляется согласно пункту 1.3 раздела 1 «Инструкции о мероприятиях по профилактике и ликвидации туберкулеза животных» [4].

Прижизненная диагностика туберкулеза у крупного рогатого скота проводится аллергическим методом.



Рис. 2. Туберкулиновая проба у крупного рогатого скота [6]

Аллергический метод – внутрикожная туберкулиновая проба с применением пурифид-протеин-дериватив туберкулина (ППД-туберкулин) для млекопитающих. Туберкулин вводят крупному рогатому скоту в середину шеи (рис. 2). Учет и оценку реакции на введение туберкулина проводят через 72 часа. Животных считают положительно реагирующими на туберкулин при утолщении кожной складки на 3 мм и более. Толщину кожной складки в месте введения туберкулина измеряют кутиметром, а полученный показатель сравнивают с толщиной кожной складки рядом с местом введения препарата [3, 4].

Для дифференциации парааллергических реакций у крупного рогатого скота используется **симуль-**

танная проба с одновременным применением двух туберкулинов – для млекопитающих и для птиц или туберкулина для млекопитающих и комплексного аллергена из атипичных микобактерий (КАМ).

Симультанная проба проводится в том же порядке, что и туберкулиновая (рис. 3). Проба является групповой и дает возможность оценить ситуацию по туберкулезу лишь в целом по стаду или по группе (не менее 6 голов) обследуемых животных. Под достоверностью различия понимают такое различие в величине показателей интенсивности реакций на туберкулин и КАМ, которое дает возможность с уверенностью не менее чем на 95 % сделать заключение о состоянии по туберкулезу обследуемой группы животных [3].

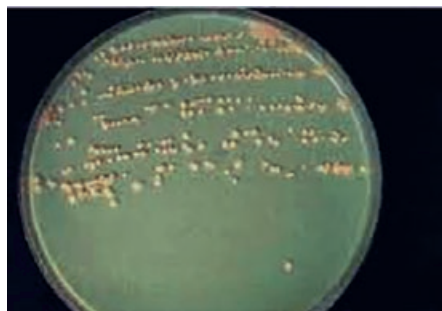
Офтальмопроба на туберкулез (глазной метод туберкулинизации). Туберкулин в количестве 3–5 капель наносится на конъюнктиву нижнего века или на поверхность роговицы глаза животного. Проводится офтальмопроба двукратно с 5–6-дневным интервалом [2, 4, 5]. Результаты офтальмопробы оценивают через 6, 9, 12 и 24 часа после первого и через 3, 6, 9 и 12 часов после повторного введения туберкулина. Реакция считается положительной, если образуется гнойный или слизисто-гнойный секрет, который накапливается в конъюнктивальном мешке или вытекает в виде шнура из внутреннего угла глаза. Кратковременная гиперемия слизистых оболочек глаза и слезотечение с образованием небольшого количества слизистого секрета рассматриваются как отрицательная реакция [3].

Факторы, обуславливающие проявление неспецифических реакций на туберкулин у КРС

В многочисленных исследованиях было показано, что проявления неспецифических реакций на туберкулин у крупного рогатого скота обусловлены многочисленными факторами внешней среды и индивидуальными особенностями организма животного [2, 3, 5]. Неспецифические реакции подразделяются на две основные группы: парааллергические и псевдоаллергические (см. таблицу).



Рис. 3. Симультанная аллергическая проба с использованием ППД-туберкулина и комплексного аллергена из атипичных микобактерий [11]



**Рис. 4. Культура *Mycobacterium bovis*.
Среда роста Гельберга [10]**

Причиной возникновения неспецифических реакций у крупного рогатого скота на введение туберкулина могут служить:

1) несоблюдение трехнедельного интервала между туберкулинизацией и вакцинацией (в этот период происходит сенсibilизация организма, и здоровые животные дают положительную реакцию на туберкулин);

2) «человеческий фактор» (диагностические исследования проводят профессионально не подготовленные лица; нарушается методика проведения туберкулинизации и т. д.).

Лабораторные методы диагностики туберкулеза КРС

К лабораторным методам диагностики туберкулеза относятся бактериологическое исследование, серологическое исследование и молекулярно-биологическое исследование.

Бактериологическое исследование проводится с целью выделения возбудителя туберкулеза (рис. 4). Отбор проб биоматериалов для бактериологического исследования производят как от животных с клиническими признаками туберкулеза, так и от животных, вызывающих подозрение на туберкулез. Исследуют молоко, мокроту, мочу. От павших и убитых животных для исследования отбирают пораженные участки органов на границе со здоровой тканью и измененные лимфатические узлы.

При наличии характерных для туберкулеза изменений исследуются

Причины возникновения неспецифических реакций у крупного рогатого скота на введение туберкулина

Неспецифическая реакция	Фактор, обуславливающий проявление неспецифической реакции	Особенности неспецифической реакции
Парааллергическая	Атипичные (нетуберкулезные) виды микобактерий и их ассоциации. <i>Mycobacterium tuberculosis</i> (микобактерии туберкулеза человека). <i>Mycobacterium avium</i> (микобактерии туберкулеза птичьего)	Непостоянство реакции на туберкулин. Сенсibilизация организма животного сохраняется от 1 до 3 месяцев после инфицирования [5]. Выявление наибольшего количества животных с выраженными реакциями на КАМ
Псевдоаллергическая	Наличие гельминтов (фасциол, дикроцелий, эхинококков). Актиномикоз. Микологические поражения легких. Гнойные или гнойно-некротические процессы во внутренних органах. Нарушения обмена веществ	В благополучных по туберкулезу стадах у отдельных животных регистрируется увеличение толщины кожной складки в месте введения туберкулина на 3–4 мм, признаки воспаления отсутствуют

портальные, предлопаточные, надвыменные, поверхностные паховые лимфатические узлы и фрагменты внутренних органов – легких, печени, почек.

Бактериологическое исследование биоматериалов на туберкулез занимает срок до 3 месяцев. Заболевание животных туберкулезом считается установленным в случаях выделения микобактерий туберкулеза бычьего или человеческого из материала от убитых животных [3, 4, 8].

Серологическое исследование на туберкулез проводится в реакции связывания комплемента (РСК).

РСК применяется в двух вариантах:

1) для обнаружения в сыворотке больного животного специфических антител к возбудителю туберкулеза;

2) для выявления и идентификации в исследуемом материале антигена возбудителя туберкулеза.

Проводят серологическое исследование в сельскохозяйственной организации в случаях, предусмотренных пунктом 2.7 раздела 2 «Инструкции о мероприятиях по профилактике и ликвидации туберкулеза животных», а именно «...в случаях выявления в благополучном по туберкулезу стаде (на ферме) крупного рогатого скота при плановом исследовании реагирующих на туберкулин животных...» [4].

Молекулярно-биологическое исследование на туберкулез. Полимеразная цепная реакция (ПЦР) является одним из высокочувствительных и специфичных методов

диагностики туберкулеза. Чувствительность метода ПЦР – от 10 до 100 микроорганизмов в пробе (чувствительность микроскопического метода – от 103 до 105 микроорганизмов). В основе метода лежит амплификация специфических участков ДНК возбудителя, которые содержатся в исследуемой пробе. В настоящее время в лабораторной практике применяются тест-системы как для выявления ДНК конкретного вида, так и для дифференцирования видов, входящих в *Mycobacterium tuberculosis complex*: микобактерий человеческого вида (*M. tuberculosis*), бычьего вида (*M. bovis*) и вакцинного штамма микобактерий бычьего вида (*M. bovis BCG*). Для проведения анализа используют следующие образцы биопроб от крупного рогатого скота: цельную кровь, молоко, фарингеальные смывы, мочу, фекалии, носовую слизь и биопсийные материалы, в том числе лимфатические узлы [3].

Молекулярно-биологическое исследование позволяет значительно ускорить раннюю диагностику туберкулеза, дифференцировать паразитические и псевдоаллергические реакции на туберкулин, снизить количество подозреваемых в заражении туберкулезом и подвергаемых диагностическому убою животных [4, 5].

Патолого-анатомические исследования

Для убоя с диагностической целью отбирают животных по резуль-

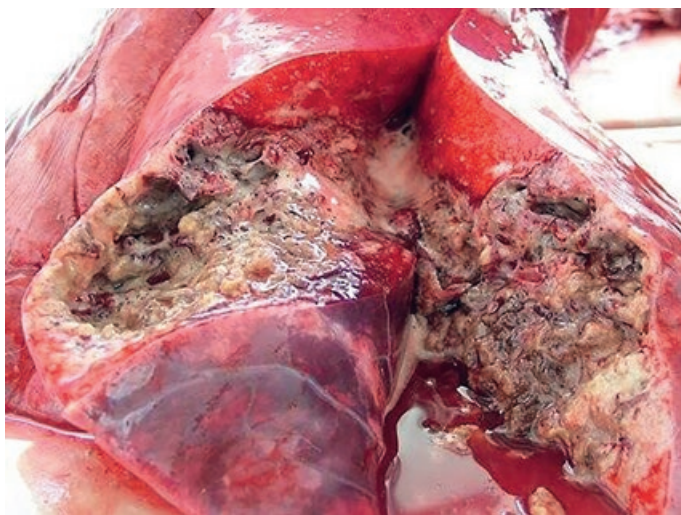


Рис. 5. Легкое крупного рогатого скота при туберкулезном поражении тканей [9]

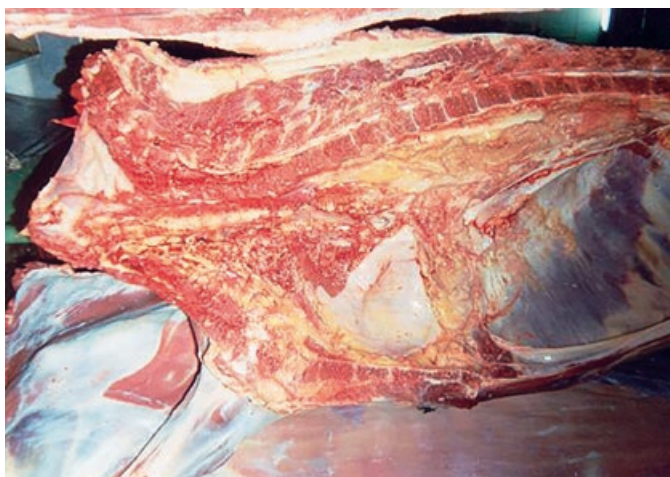


Рис. 6. Туберкулезные поражения серозных покровов («жемчужница») и регионарных лимфатических узлов у теленка [7]

татам вышеизложенных методов исследования.

Патолого-анатомические изменения в организме больного туберкулезом животного зависят как от его возраста, так и от стадии инфекционного процесса.

В начальных стадиях инфекционного процесса туберкулы имеют вид серых полупрозрачных узелков размером от булавочной головки до чечевичного зерна. Затем они становятся мутными, приобретают бело-желтый цвет, заполняются некротизированной сухой творожистой массой. В легких туберкулезные очаги поражения чаще выделяются над плеврой по тупому краю органа (рис. 5).

Молочная железа, печень, селезенка и почки у крупного рогатого скота поражаются обычно при генерализованном процессе. «Жемчужница» (туберкулезное поражение серозных покровов) регистрируется с одновременным поражением паренхиматозных органов и регионарных лимфатических узлов (рис. 6).

Гистологические исследования проводят для дифференциации туберкулезных патолого-анатомических изменений от сходных изменений, наблюдаемых при других заболеваниях, например для дифференциации от гранулем паразитарного и микотического происхождения. В положительных случаях в гистологических препаратах, окра-

шенных по Цилю – Нильсену, находят гранулемы с некротизированным центром, окруженные зоной эпителиоидных, отдельных гигантских лимфоидных клеток и соединительно-тканной капсулой.

Вместо заключения

Осуществление плановых профилактических диагностических исследований на туберкулез способствует снижению риска инфицирования людей туберкулезом, ограничению распространения возбудителя из очагов инфекции, раннему выявлению неблагополучных по туберкулезу населенных пунктов. ■

Библиографические ссылки

1. Боровой В. Н. Эпизоотическая ситуация по основным заразным болезням животных в Российской Федерации / Департамент ветеринарии Минсельхоза России. URL: <http://snipchi.ru/updoc/2017/Prezentazii/%D0%91%D0%BE%D1%80%D0%BE%D0%B2%D0%BE%D0%B9%20%D0%92.%D0%9D.%C2%AB%D0%AD%D0%BF%D0%B8%D0%B7%D0%BE%D0%BE%D1%82%D0%B8%D1%87%D0%B5%D1%81%D0%BA%D0%B0%D1%8F%20%D1%81%D0%B8%D1%82%D1%83%D0%B0%D1%86%D0%B8%D1%8F%20%D0%BF%D0%BE%20%D0%BE%D1%81%D0%BD%D0%BE%D0%B2%D0%BD%D1%8B%D0%BC%20%D0%B7%D0%B0%D1%80%D0%B0%D0%B7%D0%BD%D1%8B%D0%BC%20%D0%B1%D0%BE%D0%BB%D0%B5%D0%B7%D0%B%D1%8F%D0%BC%20%D0%B6%D0%B8%D0%B2%D0%BE%D1%82%D0%BD%D1%8B%D1%85%20%D0%BD%D0%B0%20%D1%82%D0%B5%D1%80%D1%80%D0%B8%D1%82%D0%BE%D1%80%D0%B8%D0%B8%20%D0%BE%D1%81%D1%81%D0%B8%D0%BE%D0%B9%20%D0%A4%D0%B5%D0%B4%D0%B5%D1%80%D0%B0%D1%86%D0%B8%D0%B8%C2%BB.pdf> (дата обращения: 16.11.2017).
2. Воронин Е. С., Бессарабов Б. Ф., Вашутин А. А. Инфекционные болезни животных. М. : КолосС, 2007. 671 с.
3. Дифференциальная диагностика неспецифических реакций у крупного рогатого скота при диагностическом исследовании на туберкулез. Методические рекомендации / А. Т. Татарчук, Н. В. Чурина, Л. Н. Аристархова, А. А. Малыгина, О. В. Виноградова, Т. В. Рыбакова. Екатеринбург : ИРА УТК, 2004. 24 с.
4. Инструкция о мероприятиях по профилактике и ликвидации туберкулеза животных. Утв. Главным управлением ветеринарии Министерства сельского хозяйства СССР 29.12.1983 г.
5. Найманов А. Х., Гулюкин М. И. Микобактериальные инфекции крупного рогатого скота. М. : Зооветкнига, 2014. 235 с.
6. Оценка активности национального стандарта туберкулина для млекопитающих относительно первого международного стандарта туберкулина Bovine. URL: <http://ветеринария.рф/blog/all/?tag=рогатый%20скот> (дата обращения: 16.11.2017).
7. Патоморфологические изменения в организме животных при туберкулезе. URL: <https://studfiles.net/preview/2901312/page:2/> (дата обращения: 16.11.2017).
8. Санитарно-эпидемиологические правила СП 3.1.2.3114-13 «Профилактика туберкулеза». Зарегистр. в Минюсте России 06.05.2014 № 32182.
9. Туберкулез. URL: <https://vetvo.ru/tuberkulez.html> (дата обращения: 16.11.2017).
10. Туберкулез. URL: <https://nsau.edu.ru/images/vetfac/images/ebooks/microbiology/stu/micro/tuberk.htm> (дата обращения: 16.11.2017).
11. Эпизоотология туберкулеза крупного рогатого скота. URL: <https://studfiles.net/preview/2901312/page:3/> (дата обращения: 15.11.2017).