

На правах рукописи

ВОЛКОВ ДМИТРИЙ ВЛАДИМИРОВИЧ

**ЭПИЗООТОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ МИКОБАКТЕРИОЗОВ
И ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА АТИПИЧНЫХ МИКОБАКТЕРИЙ,
ИЗОЛИРОВАННЫХ ОТ СВИНЕЙ И ОБЪЕКТОВ ВНЕШНЕЙ СРЕДЫ**

06.02.02 – ветеринарная микробиология, вирусология,
эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

Новосибирск 2018

Работа выполнена в Институте экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока федерального государственного бюджетного учреждения науки «Сибирский федеральный научный центр агроботехнологий» Российской академии наук

Научный руководитель: **Смолянинов Юрий Иванович**,
доктор ветеринарных наук, профессор

Официальные оппоненты: **Власенко Василий Сергеевич**,
доктор биологических наук, доцент,
ФГБНУ «Омский аграрный научный центр»,
главный научный сотрудник

Баратов Магомед Омарович
доктор ветеринарных наук, главный
научный сотрудник, ФГБНУ «Прикаспийский
зональный научно-исследовательский
ветеринарный институт», заведующий
лабораторией по изучению эпизоотологии,
диагностики и профилактики туберкулеза
животных

Ведущая организация: ФГБОУ ВО «Казанская государственная
академия ветеринарной медицины
имени Н.Э. Баумана»

Защита состоится 15 марта 2019 г. в 10.00 часов на заседании диссертационного совета Д.220.002.02, созданного на базе ФГБОУ ВО «Алтайский государственный аграрный университет» по адресу: 656049, Алтайский край, г. Барнаул, пр. Красноармейский, 98, тел./факс 8(3852) 20-33-69.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО «Алтайский ГАУ» и на сайте <http://asau.ru>.

Автореферат разослан «_____» _____ 2018 г.

Ученый секретарь
диссертационного

совета



Фёдорова Галина Анатольевна

1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Свиноводство – одна из важнейших динамично развивающихся отраслей животноводства в России. поголовье свиней в РФ в настоящее время составляет свыше 23 млн. голов, что определяет отрасль как важную составляющую продовольственной безопасности.

Сдерживающим фактором развития свиноводства являются многочисленные инфекционные болезни, в том числе микобактериозы, регистрируемые в зонах разведения свиней во всем мире.

Несмотря на то, что туберкулез свиней на территории России в настоящий период регистрируется редко, актуальной остается проблема микобактериозов, распространенных во многих регионах. Микобактериоз, обусловленный заражением свиней атипичными микобактериями в их видовом многообразии, по характеру патологоанатомических изменений, выявляемых при ветеринарно-санитарной экспертизе туш, практически не отличим от туберкулеза, что вносит неясность в истинную эпизоотическую ситуацию (Найманов А.Х. с соавт., 2016) и представляет опасность для людей.

Степень разработанности проблемы. Научные данные по микобактериозам свиней в нашей стране представлены, в основном, региональными особенностями (Лиепиньш Э.А., 1973; Козлов Н.Н., 1977; Румачик И.И., 1981; Нечваль И.Т., 1982; Нурмадов К., 1986; Солонко А.А., Сахончик П.Е., 1988; Пакусина Т.А., Околелов В.И., 2005), однако многие вопросы распространения, этиологии, аллергической и патоморфологической диагностики, а также причиняемых экономических потерь, остаются не изученными.

В современный период, в связи с коренными изменениями в экологии внешней среды и строительством крупных свиноводческих мегакомплексов требуется постоянный эпизоотологический мониторинг по микобактериозам свиней, заключающийся в проведении комплексных аллергических, патологоанатомических и бактериологических исследований, а также изучения культурально-морфологических и биохимических свойств атипичных микобактерий, изолированных как из биоматериала от животных, так и внешней среды объектов свиноводства.

Цель и задачи исследований. Целью исследований явилось изучение эпизоотологических, патоморфологических особенностей проявления микобактериозов и фенотипических свойств атипичных микобактерий, изолированных от свиней и из внешней среды.

В задачи исследований входило:

1. Установить аллергическую реактивность свиней к ППД-туберкулинам и дать патоморфологическую характеристику микобактериозов;
2. Определить экономический ущерб, причиняемый микобактериозами;
3. Провести индикацию микобактерий из биоматериала от реагирующих на туберкулин свиней и проб внешней среды объектов свиноводства;
4. Изучить фенотипические свойства атипичных микобактерий, изолированных от свиней и проб внешней среды;

5. Дать классификацию и определить видовой состав атипичных микобактерий, персистирующих в организме свиней и внешней среде.

Научная новизна. Изучена аллергическая реактивность свиней различных половозрастных групп к ППД-туберкулинам для млекопитающих и для птиц, в том числе сезонность проявления реакций, превалирующая в летний период. Установлена наибольшая реактивность свиноматок к ППД-туберкулину для птиц. В эксперименте доказано выпадение реакций на птичий туберкулин у половины первично реагирующих свиней, а также сохранение реакций при использовании туберкулина в уменьшенной дозе (5000 МЕ).

В опыте установлена динамика развития гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) у свиней при микобактериозе.

Определена частота туберкулёзоподобных поражений туш реагирующих на туберкулины свиней в благополучных по туберкулезу хозяйствах. Выявлена локализация и морфология изменений с преимущественным поражением подчелюстных, брыжеечных лимфатических узлов и печени. Впервые определен экономический ущерб, причиняемый микобактериозами свиней.

Установлен уровень выявляемости культур кислотоустойчивых микобактерий из биоматериала от свиней и проб внешней среды. Дана характеристика культурально-морфологических, биохимических свойств и изучен видовой состав изолированных культур атипичных микобактерий, представленный 6 видами 2-4 групп классификации по Раньону, включая *M. xenopi*, *M. avium-intracellulare*, *M. fortuitum*, *M. smegmatis*, *M. phlei* и *M. scrofulaceum*.

Теоретическая и практическая значимость. Установленные особенности эпизоотологии микобактериозов у свиней, в том числе видовой спектр атипичных микобактерий, персистирующих в организме свиней и объектах внешней среды, дополняют и расширяют данные по проблеме туберкулеза сельскохозяйственных животных.

Выявленные особенности динамики ГЗТ у свиней дают возможность оценки реакций через 24 часа после введения ППД-туберкулина для птиц.

Результаты исследований по определению распространенности и видового состава микобактерий, выделенных от реагирующих на туберкулин животных и объектов свиноводства могут быть реализованы в системе противоэпизоотических мероприятий при туберкулезе и микобактериозах свиней.

Материалы использованы при разработке методических рекомендаций по взаимосвязи реактивности животных к туберкулину и циркуляции микобактерий в окружающей среде, а также лабораторной диагностике микобактериозов.

Методология и методы исследований. Объектом исследований явились свиньи различных половозрастных групп и культуры кислотоустойчивых микобактерий, изолированных из биологического материал от них и из внешней среды объектов свиноводства. Предмет исследований – изучение особенностей эпизоотологии микобактериозов свиней, характеристика и локализация туберкулёзоподобных поражений, а также фенотипических свойств изолированных культур атипичных микобактерий.

В работе использовали, эпизоотологический, экспериментальный, аллергический, патологоанатомический и бактериологический методы исследований.

Основные положения, выносимые на защиту:

- эпизоотические особенности проявления микобактериозов свиней;
- фенотипические свойства культур микобактерий, изолированных из биоматериала от свиней и проб объектов внешней среды;
- классификация и видовой состав атипичных микобактерий, персистирующих в организме свиней и внешней среде.

Степень достоверности и апробация работы. Достоверность результатов исследований обусловлена большим объемом экспериментального материала, использованием современных методов и методик исследований, статистической обработкой данных.

Материалы диссертации доложены и обсуждены на Международной научно-практической конференции «Новейшие направления развития аграрной науки в работах молодых ученых» (Новосибирск, 2006; Кемерово, 2008), VI Международной научно-практической конференции «Ветеринария в свиноводстве» (Новосибирск, 2018), заседании подсекции «Инфекционная патология животных в регионе Сибири и Дальнего Востока» (Новосибирск, 2010), заседаниях Ученого совета ИЭВСиДВ СФНЦА РАН (2006-2017).

Публикация материалов исследований. По теме диссертации опубликовано 8 научных работ, в том числе 3 – в изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ (Сибирский вестник сельскохозяйственной науки, Инновационная и продовольственная безопасность, Аграрный научный журнал Саратовского ГАУ).

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 116 страницах компьютерного текста, иллюстрирована 16 таблицами, 3 рисунками и состоит из введения, обзора литературы, собственных исследований, заключения, списка использованной литературы (232 источника, из них 103 зарубежных авторов) и приложений.

2. ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

2.1. Материалы и методы исследований

Исследования проводили в соответствии с тематическим планом НИР по заданию 08.01.02 (02.Н1) «Изучить диагностическую эффективность различных способов выделения микобактерий из биоматериала сельскохозяйственных животных и объектов внешней среды».

Региональные особенности эпизоотологии микобактериозов свиней изучали по результатам собственных аллергических и патологоанатомических исследований в свиноводческих хозяйствах различных форм собственности.

Аллергические исследования свиней на туберкулез проводили согласно «Наставлению по применению (ППД) туберкулинов для млекопитающих и для птиц» (1999) с использованием различных серий туберкулинов производства

ФГУП «Курская биофабрика». В экспериментах аллергически исследовано 8508 голов свиней различных половозрастных групп.

Пораженность туш реагирующих на туберкулины свиней изучали согласно «Наставлению по диагностике туберкулеза животных» (2002) и «Правил ветеринарного осмотра убойных животных и ветеринарно-санитарной экспертизы мяса и мясных продуктов» (1988) в условиях мясоперерабатывающих предприятий. Ветеринарно-санитарной экспертизе подвергали паренхиматозные органы (легкие, печень, почки, селезенка) и лимфатические узлы (околоушные, подчелюстные, заглоточные, шейные, средостенные, бронхиальные, порталные, брыжеечные) 5994 туш свиней.

Бактериологические исследования по изоляции культур микобактерий из биоматериала от реагирующих на туберкулины свиней и объектов внешней среды (1187 проб) проводили в соответствии с Наставлением по диагностике туберкулеза животных (2002) и ГОСТ 26072-89. Материал для исследования обрабатывали по методу Гона-Левенштейна-Сумиоши. Тинкториальные свойства микобактерий определяли при окраске мазков по Цилю-Нильсену.

Фенотипические свойства (культуральные, морфологические, биохимические) изолированных культур кислотоустойчивых микобактерий изучали во второй генерации роста после накопления бактериальной массы с предварительной проверкой на чистоту визуально и в мазках. Суспензию биоматериала высевали на плотную яичную питательную среду Левенштейна-Йенсена и жидкую среду – мясо-пептонный бульон (МПБ).

Биопробу с подкожной инокуляцией суспензии биоматериала ставили на морских свинках, кроликах и курах.

У изолированных 95 культур кислотоустойчивых микобактерий изучали следующие показатели:

- скорость роста на питательных средах (метод Kappler W., 1968);
- характер роста на среде Левенштейна-Йенсена и МПБ при 37 °С;
- рост при различных температурных режимах: 22, 37, 45 и 52 °С (метод Макаревича Н.М., 1973).;
- пигментообразование в темноте и на свету (метод Kubica J., 1979);
- образование корд-фактора (метод Bloch H. et al., 1953);
- активность каталазы (метод Wayne L., 1962);
- термостабильность каталазы (метод Kubica J., Pool G., 1978);
- деградация салицилата натрия (метод Tsukamura M., 1967);
- гидролиз Твин-80 (метод Wayne L., 1962);
- формамидазная активность (метод Nagayama H. et al., 1961 в модификации Дыхно М.М., 1964);
- устойчивость к хлориду натрия метод (Kestle D. et al., 1967);
- реакция осаждения лимонно-аммиачного железа (метод Szabo I., Vandra E., 1961);
- редукция теллурита калия (метод Kilburn J. et al., 1969).

Дифференциально-диагностические тесты использовали по схемам, предложенных Кадочкиным А.М. (1984), Макаревич Н.М. с соавт. (1987), Гулюки-

ным М.И. с соавт., 2012). Групповую принадлежность культур атипичных микобактерий определяли по классификации Раньона (Runyon E.H., 1959).

При изучении свойств культур микобактерий в качестве контрольных использовали референтные штаммы патогенных и атипичных микобактерий, хранящиеся и поддерживаемые в коллекции музейных в ИЭВСиДВ СФНЦА РАН: *M. bovis* (штамм 8), *M. tuberculosis* (штамм H37Rv), *M. avium* (штамм «Берлин»), *M. intracellulare* (штамм 1411), *M. gordonae*, *M. scrofulaceum* (штамм 2458-Париж), *M. terrae*, *M. phley*. Культуры получены в Центральном НИИ туберкулеза РАМН и Государственном НИИ стандартизации и контроля медицинских биологических препаратов имени Л.А. Тарасевича.

Цифровой материал обрабатывали в среде программных приложений «Microsoft Excel» и «StatSoft Statistica 6».

2.2 Результаты исследований

2.2.1 Аллергическая реактивность к ППД туберкулинам

При аллергическом исследовании 8508 голов свиней наибольшее количество реагирующих выявлено на введение ППД-туберкулина для птиц – 1430 гол., или 16,8% от числа исследованных с преобладанием показателя среди основных и проверяемых свиноматок – 22,7% (табл. 1).

Таблица 1 – Аллергическая реактивность свиней к ППД-туберкулинам

Половозрастная группа	Исследовано голов	ППД для млекопитающих		ППД для птиц		Совпадение (ППД+ППД)	
		гол.	%	гол.	%	гол.	%
Хряки-производители	93	1	1,1	12	12,9	2	2,2
Основные свиноматки	2078	3	0,1	473	22,7	105	5,1
Ремонтный молодняк	2732	5	0,2	394	14,4	86	3,1
Откормочное поголовье	3698	–	–	551	14,9	43	1,2
Всего	8508	9	0,1	1430	16,8	236	2,8

При введении ППД-туберкулина для млекопитающих выявлены единично реагирующие животные (0,1%). Совпадение аллергических реакций на оба туберкулина регистрировали в среднем у 2,8% свиней, в т.ч. среди основных свиноматок у 5,1% и ремонтного молодняка у 3,1%.

Сезонность аллергической реактивности свиней к туберкулинам характеризовалась более высоким показателем в весенне-летние периоды года II-го и III-го кварталов – соответственно 24,7 и 25,5%. В зимний и осенний периоды реактивность к туберкулинам не превышал 15%.

Выпадение реакций на туберкулин при повторном исследовании. Из 237 реагирующих свиней на введение ППД-туберкулина для птиц через 30 дней реакции повторились у 139, или у 58,6%. У остальных свиней (41,4%) реакции не

проявлялись, то есть выпали. Аналогичные показатели выпадения и повторения реакций установлены и у первично реагирующих свиней на ППД-туберкулин для млекопитающих – соответственно 57,9 и 42,1%.

Аллергическая реактивность на уменьшенную дозу туберкулина. Туберкулины в дозах 10000 МЕ (стандартная), и в уменьшенной в два раза (5000 МЕ) вводили одним и тем же пороссятам (1287 гол.) в возрасте 5-8 мес. соответственно в область левого и правого уха.

Установлено, что на введение туберкулина в дозе 10000 МЕ реакцию с интенсивностью $8,6 \pm 2,1$ мм показали 45 свиней, или 3,5%. Реакции на туберкулин в дозе 5000 МЕ с той же интенсивностью ($8,5 \pm 2,1$) проявились у 42, или у 3,3% свиней. При этом на туберкулин в дозе 5000 МЕ реагировали те же животные, что и на стандартную (10000 МЕ).

Таким образом, снижение дозы ППД-туберкулина для птиц в два раза не влияет на количество реагирующих свиней и интенсивность реакций.

Динамика развития ГЗТ на ППД-туберкулины. Динамику ГЗТ и интенсивность реакций на введение ППД- туберкулина для птиц изучали на 280 свиньях в возрасте 4-6 мес. Реакцию оценивали каждые 2 часа в интервале с 10 по 24 часа, затем каждые 4 часа (до 52 часа) и далее с интервалами 8, 12 и 14 часов.

При первом осмотре через 10 часов после введения туберкулина реакции не проявлялись (рис. 1).

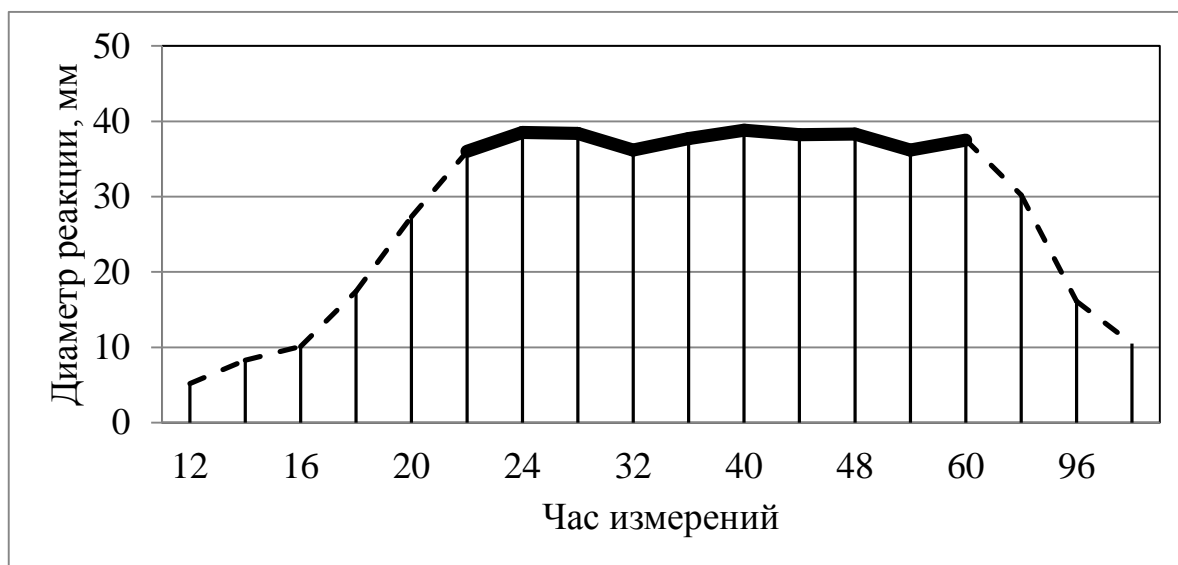


Рис. 1. Динамика гиперчувствительности замедленного типа на ППД-туберкулин для птиц у свиней

Через 12 часов увеличивалось как количество реагирующих животных, так и интенсивность реакций, достигнув максимума к 22-24 часу и удерживались на этом уровне до 60 часа. С 20-го по 96 часы учета у 9-35% свиней отмечали повышение температуры отечности кожи. У 9-30% свиней в месте инъекции туберкулина в центре отека наблюдали некроз кожи диаметром 1-2 мм.

Реакции в виде разлитой тестообразной отечности кожи регистрировали у 9-11% всех реагирующих на туберкулин животных. Интенсивность этих реакций

была высокой и достигала 40 мм в диаметре и выше. Чаще реакции на туберкулин (78%) оценивались как контурированные в виде «горошины» или «боба» в диаметре 36,5-38,6 мм.

При убое животных, реагирующих на введение ППД-туберкулина для птиц (23 гол.) при патологоанатомическом исследовании туберкулёзоподобные поражения в лимфатических узлах и паренхиматозных органов были выявлены у 8, или 35% туш свиней. При этом поражения у 5 животных совпали с реакцией на туберкулин, оцениваемой в виде разлитой тестообразной отечности.

Установленные особенности динамики развития ГЗТ к ППД-туберкулину для птиц позволяют сделать заключение о целесообразности оценки реакций через 24 часа после введения аллергена. Кроме того, диагностическому убою должны подлежать животные с кожной реакцией на туберкулин в виде разлитой тестообразной консистенции.

2.2.2 Пораженность органов и лимфатических узлов реагирующих на туберкулин свиней

Частота выявления туберкулёзоподобных поражений. В условиях мясоперерабатывающих предприятий проведена ветеринарно-санитарная экспертиза туш реагирующих на ППД-туберкулины для млекопитающих и для птиц свиней. В результате патологоанатомических исследований во внутренних органах и лимфатических узлах туберкулёзоподобные поражения выявлены у 527, или у 8,9% из 5949 осмотренных туш свиней (табл. 2).

Таблица 2 – Выявляемость туберкулёзоподобных поражений у реагирующих и не реагирующих на туберкулин свиней

Мясоперерабатывающее предприятие	Реагирующие на туберкулин			Не реагирующие на туберкулин		
	исследовано, туш	выявлено с поражениями		исследовано, туш	выявлено с поражениями	
		туш	%		туш	%
№ 1	4081	290	7,1	1224	18	1,5
№ 2	1255	149	11,9	654	11	1,7
№ 3	613	88	14,4	509	10	2,0
Всего	5949	527	8,9	2387	39	1,6

При убое 2387 не реагирующих на туберкулин свиней туберкулёзоподобные изменения в лимфатических узлах и органах обнаружены у 39, или у 1,6%, то есть в 5,6 раза меньше, чем у реагирующих. Полученные данные подтверждают диагностическую ценность туберкулиновой пробы в прижизненной диагностике туберкулеза и микобактериозов у свиней.

Наиболее часто были поражены туши племенных хряков – 16% и основных свиноматок – 13,1%. Туберкулёзоподобные изменения реже диагностировали у откормочного (8,3%) и ремонтного поголовья свиней (7,6%).

Локализация туберкулёзоподобных поражений. Установлено, что наиболее часто туберкулёзоподобные поражения у реагирующих на туберкулины свиней локализуются в лимфатических узлах грудной и брюшной полостей, на которые приходится 47,8% всех изменений. При этом чаще изменения регистрировали в брыжеечных лимфатических узлах – у 32,8% туш свиней (табл. 3).

Таблица 3 – Локализация туберкулёзоподобных поражений у свиней, реагирующих на туберкулины

Лимфатические узлы головы			Лимфатические узлы грудной и брюшной полостей			Паренхиматозные органы		
вид	гол.	%	вид	гол.	%	вид	гол.	%
околоушные	30	5,7	бронхиальные	46	8,7	легкие	23	4,4
подчелюстные	104	19,7	средостенные	28	5,3	печень	68	12,9
заглочные	45	8,5	портальные	5	0,9	селезенка	3	0,6
всего	179	34,0	брыжеечные	172	32,8	почки	3	0,6
			всего	251	47,8	всего	97	18,4

Высокий процент поражений установлен также в лимфатических узлах головы, составивший 34% с преимущественной локализацией в подчелюстных (19,7%). Туберкулёзоподобные изменения в паренхиматозных органах регистрировали у 18,4% реагирующих на туберкулины свиней с преобладанием показателя в печени (12,9%) и легких (4,4%). Единичные поражения находили в селезенке и почках (0,6%).

Одновременные туберкулёзоподобные поражения с локализацией в лимфатических узлах головы и лимфатических узлах грудной и брюшной полостей регистрировали у 107 туш из 527 туш реагирующих на туберкулины свиней, что составляет 20,2%. Сочетание поражений лимфатических узлов грудной и брюшной полостей и паренхиматозных органов обнаруживали в 8,5% случаев; лимфатических узлов головы и паренхиматозных органов – в 6,1%; полное сочетание – в 3,4%. В целом все сочетания туберкулёзоподобных поражений выявлены у 38,3% туш реагирующих на туберкулин свиней.

У части животных регистрировали единичные поражения в одном-двух лимфатических узлах. В 19,6% случаев находили одновременные поражения нескольких групп локализации лимфатических узлов – головы, грудной, брюшной полостей и паренхиматозных органов, что свидетельствовало о генерализации инфекционного процесса. Как правило, множественные поражения проявлялись на фоне изменений в лимфатических узлах головы и брыжейки.

Поражённые лимфатические узлы в большинстве случаев были увеличены в объеме, плотной консистенции и бугристые при пальпации. Единичные или множественные серовато-белые узелки размером от макового зерна до горошины округлой формы хорошо просматривались под серозной оболочкой. Отдельные узелковые поражения достигали 7 мм в диаметре. Иногда в очагах поражения обнаруживали пастообразное содержимое белого или желтовато-зеленого цвета с примесью гноя. Часто в центре инкапсулированного очага в лимфатиче-

ских узлах находили полностью или частично обызвествлённые некротизированные творожистые массы.

Иногда наблюдали поражения в виде конгломератов разной формы. В большинстве случаев в центре поражений находили казеозные массы, легко вылушиваемые из толстостенной капсулы очага. Узелки располагались как по всей поверхности разреза лимфоузла, так и непосредственно под капсулой. Патологические изменения узелкового и диффузного характера чаще локализовались в брыжеечных, подчелюстных лимфатических узлах и печени.

2.2.3 Экономический ущерб, причиняемый микобактериозами свиней

Одним из показателей проявления эпизоотического процесса является экономический ущерб, причиняемый инфекционными болезнями животных. Этот показатель при микобактериозах свиней изучали по результатам ветеринарно-санитарной экспертизы туш 5949 голов реагирующих на туберкулин свиней. Экономический ущерб рассчитывали в ценах на продукции свиноводства по состоянию на 2017 г.

Расчеты показали, что наибольший экономический ущерб – 972,8 тыс. руб. (1760,6 руб. в расчете на одну пораженную тушу) обусловлен проваркой туш с туберкулёзоподобными поражениями в длительном высокотемпературном режиме, что влечет снижение цены свинины на 25% (табл. 4). Значительны потери от утилизации туш свиней с генерализованными формами поражений – 273,6 тыс. руб. (519,2 руб. на одну тушу). Общий экономический ущерб выразился в сумме 1270,6 руб., или 2411 руб. на одну пораженную тушу.

Таблица 4 – Экономический ущерб, причиняемый микобактериозами свиней

Вид экономических потерь	Туш, кол-во	Общая убойная масса, ц	Экономический ущерб		
			всего, тыс. руб.	на 1 голову	
				руб.	%
Проварка туш	256	204,8	972,8	1760,6	73,0
Проварка голов, кишечника	139	16,7	39,7	75,3	3,1
Утилизация органов и тканей	114	3,1	29,5	56,0	2,4
Утилизация туш	18	14,4	273,6	519,2	21,5
Всего	527	239,0	1270,6	2411,0	100,0

2.2.4 Этиологические факторы микобактериозов у свиней

Одной из особенностей эпизоотического процесса микобактериозов у свиней является разнообразие видового состава микобактерий. Изучение особенностей видовой принадлежности изолированных культур микобактерий, персистирующих в организме различных видов животных и внешней среде позволяет установить ареал их распространения и источники инфицирования.

Индикация культур кислотоустойчивых микобактерий. Комплексному бактериологическому исследованию подвергнуты 1207 проб биоматериала от

свиней, птиц и проб объектов внешней среды, из которых изолированы 106 культур кислотоустойчивых микобактерий, или 8,8% от количества исследованных проб (табл. 5).

Таблица 5 – Частота изоляции микобактерий из биоматериала от свиней, птиц и проб внешней среды свиноводческих хозяйств

Объект бактериологического исследования	Исследовано проб	Изолировано культур	
		кол-во	%
биоматериал от свиней	786	58	7,5
биоматериал от кур	56	7	12,5
биоматериал от синантропных птиц	120	18	15,0
пробы внешней среды, всего	245	23	9,4
– вода	52	2	3,8
– помет синантропных птиц	40	3	7,5
– почва	21	2	9,5
– навозные желоба (навоз)	16	3	18,7
– опилки	13	2	15,4
– кормушки	42	4	9,5
– полы и проходы	46	5	10,9
– комбикорм	15	2	13,3
Всего	1207	106	8,8

Из биоматериала от реагирующих на ППД-туберкулины свиней изолированы 58, или 7,5% культур кислотоустойчивых микобактерий.

Частота изоляции культур микобактерий из биоматериала от кур подсобных хозяйств работников свиноферм (56 проб) составила 12,5%, от синантропных птиц (голуби, воробьи, 120 проб), обитающих на территории ферм, – 7,5%, из 245 проб различных объектов внешней среды объектов свиноводства – 9,4%.

Установлена персистенция микобактерий во всех объектах внешней среды свиноводческих хозяйств. Наиболее часто культуры изолировали из проб навозных желобов помещений – 8,7%; опилок, используемых в качестве подстилки – 15,4% и комбикорма – 13,3%. В смывах поверхности полов и проходов помещений этот показатель составил 10,9%, кормушек – 9,5%.

Определенное эпизоотическое значение имеет помет синантропных птиц (голуби, воробьи), повсеместно обитающих на территории свиноводческих ферм. Из 120 проб помета изолировано 7,5% культур микобактерий. Из 52 проб воды для поения свиней изолированы две культуры микобактерий (3,8%).

Полученные данные свидетельствуют о повсеместном распространении кислотоустойчивых микобактерий во внешней среде и их важной роли как основных источников заражения свиней.

2.2.5 Фенотипические свойства изолированных культур микобактерий

Культурально-морфологические свойства изолированных первично из биоматериала от свиней и проб объектов внешней среды в количестве 95 культур микобактерий изучали во второй генерации роста колоний путем пересева на питательную среду Левенштейна-Йенсена. Предварительно культуры микобактерий проверяли на чистоту в мазках, окрашенных по Цилю-Нильсену.

Групповую классификацию микобактерий проводили по методу Раньона (Runyon E., 1959). Для пересева культур готовили бактериальную взвесь, содержащую 1 мг бактериальной массы микобактерий в 1 мл физиологического раствора. В качестве эталона использовали оптический стандарт мутности штамма микобактерий *BCG*.

Взвесь микобактерий в объеме 0,1 мл каждой культуры высевали в 5 пробирок с питательной средой Левенштейна-Йенсена и в 1– с МПБ и культивировали в режимах 22, 37, 45 и 52 °С. Появление первичного роста колоний на поверхности питательной среды учитывали ежедневно в течение первых 9 суток, а затем каждые 5 сут. в срок до трех мес.

Пигментообразование (метод Kubica J., 1979). Две пробирки с посевом испытуемых культур микобактерий культивировали при температуре 37 °С. Одну пробирку (контрольная) заворачивали в светонепроницаемую бумагу; другую (опытная) на 7 и 12 дни освещали электрической лампой (100 Вт) в течение двух часов на расстоянии 50-80 см от источника света. Результаты учитывали через 4 недели после посева культур. Положительной реакцией считали желтую, желто-оранжевую или красноватую пигментацию выросших колоний культур после воздействия светом и отсутствие в контрольных пробирках в темноте, что свидетельствовало о принадлежности культуры к скотохромогенной 2 группы классификации по Раньону.

Чёткое проявление скотохромогенности зарегистрировано у 37 или у 38,9% изучаемых культур микобактерий (табл. 6).

Таблица 6 – Культуральные свойства изолированных культур микобактерий

Показатель		Культур	
		кол-во	%
Пигменто-образование	скотохромогенные	37	38,9
	нефотохромогенные	58	61,1
Скорость роста	быстрорастущие (до 7 суток.)	29	30,5
	медленнорастущие (после 7 суток)	66	69,5
Рост при различных температурах	22 °С	25	26,3
	37 °С	91	95,8
	45 °С	27	28,4
	52 °С	1	1,1

Скотохромогенность проявилась у 30 культур, выделенных из биоматериала от свиней, и у 7– из проб внешней среды. Цвет выросших колоний микобактерий

после воздействия светом варьировал от желтого до желто-оранжевого. В контрольных пробирках при культивировании в темноте скотохромогенности не наблюдали. Скотохромогенность проявлялась как у медленнорастущих, так и быстрорастущих культур микобактерий примерно в равном соотношении. Нефотокхромогенные (не образующие пигмент на свету) микобактерии, относящиеся к 3-й группе по Раньону, выявлены у 58, или у 61,6% культур.

Скорость роста на плотных питательных средах (метод Карплер W., 1968). По этому показателю 29 культур, или 30,5% всех исследуемых, отнесены к быстрорастущим, появление колоний у которых на среде Левенштейна-Йенсена при температуре 37 °С наблюдали в срок до 7 сут. культивирования (табл. 7). Остальные 66 или 69,5% всех культур отнесены к медленнорастущим (первичный рост колоний позднее 7 сут.). У ряда медленнорастущих культур микобактерий первичный рост колоний достигал 23 сут. Средняя скорость роста быстрорастущих микобактерий составила $4,1 \pm 0,6$ сут.

Таблица 7 – Скорость роста изолированных культур микобактерий

Скорость роста, сутки	Быстрораствующие (n=29)		Медленнорастущие (n=66)	
	кол-во культур	%	кол-во культур	%
2	1	3,4	–	–
3	4	13,8	–	–
4	15	51,7	–	–
5	7	24,1	–	–
6	2	6,9	–	–
7-9	–	–	7	10,6
10-12	–	–	10	15,2
13-15	–	–	26	39,4
17-18	–	–	18	27,3
19-21	–	–	4	6,1
22-24	–	–	1	1,5

Некоторые культуры, обладающие сравнительно медленным ростом при культивировании (до 7 сут.), классифицировались как нефотокхромогенные (непигментные) и были отнесены к 3-й группе по классификации Раньона. У большей части быстрорастущих микобактерий (15 культур, 51,7%) первичный рост колоний регистрировали на 4-е сутки культивирования.

Рост при различных температурах (метод Макаревича Н.М., 1973). Из 95 культур микобактерий 91, или 95,8%, показали выраженный рост колоний при температуре 37 °С. 4 культуры дали росли в виде единичных мелких колоний без развития в дальнейшие сроки культивирования. 25 культур (26,3%) росли при температуре 25 °С, причем все они росли и при 37 °С. При температуре 45 °С рост зарегистрирован у 27 или у 28,4% анализируемых культур микобактерий, которые росли также при 37 °С.

Одна быстрорастущая культура, первичный рост которой проявился через трое суток на среде Левенштейна-Йенсена в виде легкого налета, росла как при температуре 37 °С, так и 52 °С, однако не проявляла ростовых свойств при температуре 25 °С. Эта особенность позволила без дальнейших исследований классифицировать её как вид *M. phlei* (палочка тимофеевой травы).

Различий в пигментообразовании, скорости роста и роста при различных температурах у культур, изолированных как из биоматериала от животных (свиньи, куры, синантропные птицы), так и проб внешней среды, не отмечено.

Корд-фактор (метод Bloch H. et al., 1953). Тест основан на способности образовывать в жидкой питательной среде патогенными микобактериями туберкулеза человеческого и бычьего вида микроколоний в виде кос, жгутов, завитков, носящих название корд-фактора. Атипичные и сапрофитные виды микобактерий, за исключением *M. kansasii* и *M. chelonae*, не склонны к образованию корд-фактора.

Корд-фактор устанавливали после посева культур микобактерий на МПБ. Через 10-14 сут. определяли наличие микроколоний в осадке после центрифугирования МПБ. Из осадка готовили мазок, окрашивали по Цилю-Нильсену и просматривали под бинокулярным микроскопом.

Во всех анализируемых препаратах микобактерии в микроколониях были расположены беспорядочно без стройного распределения, что свидетельствовало об их принадлежности к атипичным. В контрольных препаратах (*M. bovis* и *M. tuberculosis*) четко просматривались микроколонии в виде кос или жгутов, иногда переплетающихся змейкой, а также ориентированно расположенных групп палочек Коха красного цвета.

Биохимические свойства изолированных культур микобактерий определяли по комплексу тестов, позволяющих в большинстве случаев определить видовую принадлежность изолированных культур микобактерий.

Рост на среде с салициловым натрием. Тест основан на способности салицилата натрия в 0,05-0,1%-й концентрации блокировать рост на плотных питательных средах микобактерий бычьего и человеческого видов. При этом атипичные микобактерии всех видов, а также *M. avium*, дают характерный рост колоний на питательной среде с добавлением салицилата натрия.

При исследовании 95 изолированных культур микобактерий все они дали хороший рост колоний на среде Левенштейна-Йенсена с добавлением салицилата натрия, в связи с чем классифицировались как атипичные (табл. 8).

Активность каталазы. Тест ставили путем внесения в пробирки с испытуемыми культурами микобактерий раствора перекиси водорода. Реакцию учитывали по образованию пузырьков газа в виде столбика пены в течение 5 минут. Высоту столбика в 45 мм и выше оценивали как положительную реакцию. Для контроля использовали референтный штамм культуры *M. intracellulare*, у которого образуется столбик пены высотой менее 45 мм, а также штамм культуры *M. gordoniae*, у которого эта высота превышает 45 мм.

Таблица 8 – Биохимические свойства изолированных культур микобактерий

Биохимический тест	Метод анализа (автор)	Культуры с положительной реакцией	
		кол-во	%
Рост на среде с салицилатом натрия	Tsukamura M., 1967	95	100,0
Активность каталазы	Wayne L., 1962	37	38,9
Термостабильность каталазы	Kubica J., Pool G., 1978	–	–
Гидролиз твин-80	Wayne L., 1962	45	47,4
Осаждение железа	Szabo I., Vandra E., 1961	3	4,6
Формаимидазная активность	Nagayama H. et al., 1961	26	27,4
Редукция теллурита калия	Kilburn J. et al., 1969	69	95,8
Толерантность к хлориду натрия	Kestle D. et al., 1967	66	69,5

В реакции пузырьки газа образовывали столбик пены высотой до 45 мм 37 испытуемых культур микобактерий, что позволило дифференцировать их видовую принадлежность как комплекс *M. avium-intracellulare*.

Термостабильность каталазы. Реакцию ставили путем нагревания на водяной бане при температуре 68 °С в течение 20 минут 0,5 мл взвеси испытуемых культур микобактерий. Взвесь готовили по оптическому стандарту мутности штамма микобактерий *BCG* в концентрации 5 мг/кг на фосфатно-буферном растворе Соренсена (рН=7,0). Взвесь нагревали на водяной бане до 68 °С в течение 20 минут и после охлаждения добавляли 0,5 мл каталазного реагента, состоящего из 10%-ного раствора Твин-80 и 30%-ной перекиси водорода (поровну). Реакцию оценивали положительной, если в течение 20 мин. образовались пузырьки кислорода. Контролем служили культуры микобактерий, которые не прогревали, а также референтный штамм *M. gordonae*, дающий заведомо положительную реакцию. В опыте из 95 испытуемых культур микобактерий ни одна из них не показала активности в данной реакции.

Гидролиз Твин-80. Реакцию ставили для дифференциации потенциально патогенных видов микобактерий 4 группы по классификации Раньона (*M. scrofulaceum*) и 3 группы (*M. avium-intracellulare*) от сапрофитных видов этих групп *M. gordonae*, *M. terrae* и других.

В реакции смешивали 0,5 мл реактива Твин-80, 01 мл основного нейтрального красного и 100 мл фосфатного буферного раствора Соренсена (рН=7,0). Смесь разливали в пробирки по 4 мл и автоклавировали при температуре 120 °С в течение 15 минут. При смешивании образовывался раствор соломенно-желтого цвета за счет связанного нейтрального красного, а при гидролизе происходило освобождение нейтрального красного и окраска восстанавливалась до красного цвета. В пробирки вносили 3-4 недельную культуру микобактерий и культивировали при температуре 37 °С на 48 часов. При положительной реакции цвет среды изменялся от розового до красного, а при отрицательной не менялся. Контролем служили пробирки с питательной средой без испытуемых культур, а также культура референтного штамма *M. scrofulaceum* (2458-Париж), которая также давала заведомо отрицательную реакцию.

В реакции дифференцировано 8 культур как *M. scrofulaceum*, в том числе 4 изолированные из биоматериала от свиней и 4 из проб объектов внешней среды, а также 37 культур как *M. avium-intracellulare* (23 из биоматериала от свиней, 4 из биоматериала от синантропных птиц и 10 из проб внешней среды). Всего в данном тесте идентифицированы 45 культур микобактерий.

Осаждение лимонно-аммиачного железа. В пробирки с испытуемыми культурами микобактерий вносили по 0,5 мл раствора лимонно-аммиачного железа и культивировали при температуре 37 °С в течение 10 сут. При оценке реакций положительными считали культуры, окрашиваемые в коричневый цвет. Для контроля использовали референтный штамм *M. phley*, дающий заведомо положительную реакцию.

В данном тесте выявлены три полевые культуры *M. phley* (4 группа по Раньону), у которых при культивировании проявилось окрашивание в коричневый цвет. При этом две культуры были изолированы из проб биологического материала от свиней и одна – от голубя.

Толерантность к хлориду натрия. Тест, основанный на способности быстрорастущих культур (кроме *M. diernhoferi*) расти на среде Левенштейна-Йенсена с добавлением хлорида натрия, использовали для дифференциации медленно-растущих микобактерий от быстрорастущих, а также вида *M. triviale* от других микобактерий 3 группы по Раньону. При постановке реакции в среду Левенштейна-Йенсена добавляли хлорид натрия в 5%-й концентрации. Взвесь испытуемых культур микобактерий высевали на питательную среду с раствором хлорида натрия. Появление роста колоний культур микобактерий через 4 недели считали положительной реакцией.

Результаты теста показали полное ингибирование роста у 66-ти испытуемых культур микобактерий на среде Левенштейна-Йенсена, что позволило дополнительно отнести их к группе медленно-растущих. У остальных 29 культур наблюдали хороший рост микобактерий при добавлении в среду хлорида натрия, которые классифицировались как быстрорастущие.

Формамадазная активность. Тест основан на катализе образования аммиака из формамида ферментом формамадаза, присутствующим у некоторых видов атипичных микобактерий.

Взвесь микобактерий из расчёта 10 мг/мл по оптическому стандарту мутности микобактерий *BCG* на фосфатно-буферном растворе Соренсена (рН 7,2) разливали в две пробирки по 0,5 мл. Одну пробирку использовали в качестве контроля. В первую пробирку добавляли 0,5 мл раствора формамида, а в контрольную – 0,5 мл буферного раствора. Пробирки помещали в термостат на 4 часа при температуре 37 °С. Затем в каждую пробирку последовательно добавляли 0,1 мл раствора сернистой марганца, 1 мл фенолового реактива, 0,5 мл гипохлорида кальция и помещали в кипящую водяную баню на 20 минут. Появление синей или желтовато-синей окраски раствора считали положительной реакцией, указывающей о присутствии аммиака у быстрорастущих культур микобактерий 4-й группы по классификации Раньона.

В опыте положительную реакцию проявили 26 испытываемых культур микобактерий, что позволило отнести их к 4-й группе по Раньону, включая виды *M. smegmatis* (15 культур), *M. phlei* (3 культуры) и *M. scrofulaceum* (8 культур), изолированных как из биоматериала от животных, так и проб внешней среды.

Редуция теллурида калия. Тест использовали для дифференциации быстрорастущих микобактерий 4-й группы по Раньону и микобактерий комплекса *avium-intracellulare* от других видов медленно растущих микобактерий. Реакция основана на восстановлении теллурида калия под воздействием фермента редуктазы, присутствующей у некоторых видов атипичных микобактерий.

В пробирки с жидкой питательной средой Локкемана вносили испытываемые культуры микобактерий и выращивали 7 суток при температуре 37 °С. При появлении роста микобактерий (помутнение) добавляли по две капли 0,2%-ного раствора теллурида калия. Реакцию учитывали на 3, 6, 10 и 14 сутки.

Результаты учета реакции показали появление интенсивно черного или коричневого осадка в 69 бактериологических пробирках с испытываемыми культурами микобактерий (положительный результат), на основании чего они были отнесены к 3 и 4 группам по Раньону. В трех пробах реакция оценена как отрицательная ввиду отсутствия пигментированного осадка, и 4 культуры микобактерий отнесены ко 2 группе по классификации Раньона.

Видовой состав изолированных культур атипичных микобактерий. Результаты комплексных бактериологических исследований и изучение тинкториальных, культурально-морфологических и биохимических свойств позволили определить групповую и видовую принадлежность 72 культур атипичных микобактерий из 95 анализируемых, изолированных из биоматериала от свиней и проб внешней среды. По результатам изучения культурально-морфологических и биохимических свойств, все анализируемые культуры микобактерий отнесены к трем группам по классификации Раньона – 2, 3 и 4 (табл. 9).

Таблица 9 – Видовой состав атипичных микобактерий, изолированных от свиней, птиц и из внешней среды

Вид микобактерий	Группа по Раньону	Изолировано культур микобактерий			
		свиньи	синантропные птицы	внешняя среда	всего
<i>M. xenopi</i>	2	2	–	1	3
<i>M. avium-intracellulare</i>	3	23	4	10	37
<i>M. fortuitum</i>	3	5	1	–	6
<i>M. smegmatis</i>	4	8	5	2	15
<i>M. phlei</i>	4	2	1	–	3
<i>M. scrofulaceum</i>	4	4	–	4	8
Всего	2-4	44	11	17	72
не идентифицированы	2-4	14	7	2	23
Итого		58	18	19	95

В связи с тем, что виды *M. avium* и *M. intracellulare* по культурально-морфологическим и биохимическим свойствам почти неразличимы, то мы, как и большинство исследователей в настоящее время, рассматривали их как микобактерии комплекса *avium-intracellulare*.

По результатам комплекса свойств идентифицированы 6 самостоятельных видов атипичных микобактерий 2-4 групп по классификации Раньона, персистирующих в организме свиней и внешней среде свиноводческих хозяйств, включающие *M. xenopi*, *M. avium-intracellulare*, *M. fortuitum*, *M. smegmatis*, *M. phlei* и *M. scrofulaceum*.

Из биоматериала от свиней идентифицированы все 6 перечисленных видов микобактерий 2-4-й групп по классификации Раньона (58 культур). Наибольшее количество изолятов микобактерий отнесены к видам *avium-intracellulare* (23 культуры, 39,7%) и *smegmatis* – 8 культур (13,8%).

Из проб объектов внешней среды, включая синантропных птиц (голуби, воробьи), изолированы и идентифицированы 28 культур различных видов атипичных микобактерий (табл. 10). Все 6 видов культур, изолированных из объектов внешней среды, соответствовали видам, изолированным из биоматериала от свиней. При этом половина всех изучаемых культур (14 изолятов) была представлена видом комплекса *M. avium-intracellulare*, что свидетельствует о их наиболее широком распространении во внешней среде.

Таблица 10 – Видовая принадлежности атипичных микобактерий, изолированных из объектов внешней среды свиноводческих хозяйств

Вид микобактерий	Объект внешней среды									Всего
	голуби, воробьи	помет птиц	вода	почва	навозные желоба	опилки	кормушки	полю и проходы	комбикорм	
<i>M. xenopi</i>	–	–	–	–	1	–	–	–	–	1
<i>M. avium-intracellulare</i>	4	–	2	–	2	–	3	3	–	14
<i>M. fortuitum</i>	1	–	–	–	–	1	–	–	1	2
<i>M. smegmatis</i>	2	1	–	–	–	–	–	–	–	3
<i>M. phlei</i>	1	–	–	1	–	2	–	–	–	4
<i>M. scrofulaceum</i>	–	–	–	–	1	–	1	2	–	4
Итого	8	1	2	1	4	3	4	5	1	28

Культуры микобактерий были выделены из всех объектов внешней среды свиноводческих хозяйств. Наибольшее количество (8 культур) изолировано из биоматериала голубей и воробьев, обитающих на территории ферм. При этом из биоматериала этих птиц идентифицированы 4 вида микобактерий, включая *M. avium-intracellulare*, *M. smegmatis*, *M. fortuitum* и *M. phlei*.

Из проб материала других объектов внешней среды было идентифицировано по 1-3 вида атипичных микобактерий. Из представителей 2 группы по Раньону

ну (скотохромогенные) изолирован один вид микобактерий – *M. xenopi* (2 культуры из биоматериала от свиней и 1 из проб внешней среды). 3 группу (нефотохромогенные) составили 2 вида микобактерий: *M. avium-intracellulare* и *M. fortuitum* (всего 43 культуры). В 4 группу (быстрорастущие) вошли также 2 вида микобактерий – *M. phlei* и *M. scrofulaceum* (всего 11 культур).

В структуре видовой принадлежности наибольшее количество культур атипичных микобактерий, изолированных из внешней среды – 37, или 51,4%, идентифицировано как *M. avium-intracellulare*, *M. smegmatis* – 15 культур (20,8%) и *M. scrofulaceum* (11,1%). Принадлежность 23 культур (24,2%) не установлена ввиду нечеткости показаний отдельных диагностических тестов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате исследований изучены особенности проявления микобактериозов свиней, дана классификация и видовой спектр атипичных микобактерий, персистирующих в организме свиней и внешней среде, на основе чего сформулированы выводы и предложения для практики.

Выводы.

1. При профилактическом аллергическом исследовании на туберкулез 16,8% свиней реагируют на ППД-туберкулин для птиц и 0,1% на ППД-туберкулин для млекопитающих при 2,8% совпадений реакций на оба туберкулина. Чаще реагируют основные свиноматки – 22,7%. Аллергическая реактивность к туберкулину почти в два раза выше в летний период. Реакции на туберкулины при повторном исследовании через 30 дней выпадают у 41-42% свиней. Снижение дозы ППД-туберкулина для птиц до 5000 МЕ не влияет на количество реагирующих животных и интенсивность реакций.

2. Исходя из динамики развития гиперчувствительности замедленного типа, при аллергическом исследовании свиней целесообразен учет реакций на ППД-туберкулин для птиц через 24 часа, что подтверждается максимальным количеством реагирующих животных и высокой интенсивностью реакций.

3. Туберкулёзоподобные поражения выявляются у 8,9% туш свиней, реагирующих на ППД-туберкулины для млекопитающих и для птиц. Поражения преимущественно локализуются в брыжеечных (32,8%), подчелюстных (19,7%) лимфатических узлах и печени (12,9%). Уровень поражений туш не реагирующих на туберкулины свиней не превышает 1,6%. Чаще поражения диагностируются у хряков-производителей (16%) и основных свиноматок (13,1%), реже – у откормочного поголовья (8,3%) и ремонтного молодняка (7,6%).

Поражения нескольких групп лимфатических узлов и паренхиматозных органов выявляются у 38,3% туш свиней. Одновременная локализация поражений в лимфатических узлах головы и грудной и брюшной полостей регистрируется у 20,2% туш; лимфатических узлах грудной и брюшной полостей и паренхиматозных органах – у 8,5%, лимфатических узлах головы и паренхиматозных органах – у 6,1%; сочетание всех поражений – у 3,4%.

4. Экономический ущерб, причиняемый микобактериозами свиней, выражается в потерях вследствие снижения качества мясной продукции (проварка), утилизации пораженных туш, органов, тканей, и составляет 2411 руб. в расчете на одну голову.

5. Частота изоляции кислотоустойчивых микобактерий из биоматериала от реагирующих на туберкулины свиней составляет 7,5%, от кур подсобных хозяйств работников свиноферм – 12,5%, от синантропных птиц, обитающих на территории ферм, – 7,5%, из проб внешней среды – 9,4%.

Контаминация навозных желобов помещений составляет 18,7%; опилок, используемых в качестве подстилочного материала – 15,4%, комбикорма – 13,3%, полов и проходов помещений – 10,9%, кормушек – 9,5%, помета синантропных птиц – 7,5%, воды – 3,8%.

6. В организме свиней, реагирующих на ППД-туберкулины для млекопитающих и для птиц, и внешней среде благополучных по туберкулезу свиноводческих хозяйств персистируют 6 видов атипичных микобактерий 2-4 групп классификации по Раньону, включая *M. xenopi*, *M. avium-intracellulare*, *M. fortuitum*, *M. smegmatis*, *M. phlei* и *M. scrofulaceum*, что подтверждается фенотипическими культуральными и биохимическими свойствами.

7. В структуре видовой принадлежности изолированных и идентифицированных культур микобактерий из организма свиней и объектов внешней среды наиболее распространены *M. avium-intracellulare* – 51,4%, *M. smegmatis* – 20,8% и *M. scrofulaceum* – 11,1%.

8. В связи с идентичностью патологоанатомических поражений лимфатических узлов и паренхиматозных органов при туберкулёзе и микобактериозах свиней окончательный диагноз можно поставить только по результатам комплексных бактериологических исследований – изоляции и изучения культурально-морфологических и биохимических свойств кислотоустойчивых микобактерий.

Предложения для практики.

1. Взаимосвязь между реагирующими на ППД туберкулин для млекопитающих животными и циркуляцией микобактерий в окружающей среде: методические рекомендации (Утв. подсекцией «Инфекционная патология животных в регионе Сибири и Дальнего Востока», протокол № 3 от 19.05.2010).

2. Лабораторная диагностика микобактериозов крупного рогатого скота: методические рекомендации (Утв. подсекцией «Инфекционная патология животных в регионе Сибири и Дальнего Востока», протокол № 5 от 28.09.2010).

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в научных изданиях, рекомендованных ВАК РФ:

1. **Волков, Д.В.** Микобактериозы свиней. Источники и распространение в Новосибирской области / Д.В. Волков, К.В. Авдеенко, П.В. Бушмелева // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. – 2009. – № 4. – С. 45-49.

2. **Волков, Д.В.** Пораженность лимфатических узлов и паренхиматозных органов туш реагирующих на туберкулин свиней в Новосибирской области / Д.В. Волков, Ю.И. Смолянинов, К.В. Авдеенко // Инновации и продовольственная безопасность. – Новосибирск, 2018. – № 1. – С. 19-24.

3. Смолянинов, Ю.И. Культурально-морфологические свойства атипичных микобактерий, изолированных от свиней на территории Новосибирской области / Ю.И. Смолянинов, **Д.В. Волков**, Н.А. Донченко // Аграрный научный журнал: Саратовский ГАУ. – 2018. – № 6. – С. 13-16.

Статьи в других изданиях:

4. Авдеенко, К.В. Эпизоотологический мониторинг микобактериозов свиней в НСО / К.В. Авдеенко, **Д.В. Волков**, М.В. Качкин, В.В. Краснов // Новейшие направления развития аграрной науки в работах молодых ученых: Тр. Международной науч.-практ. конф. молодых ученых. – Новосибирск, 2006. – С. 237-240.

5. Авдеенко, К.В. Сведения о возбудителе и распространенности паратуберкулеза сельскохозяйственных животных / К.В. Авдеенко, **Д.В. Волков** // Новейшие направления развития аграрной науки в работах молодых ученых / Тр. III Международной науч.-практ. конф. молодых ученых. – Кемерово, 2008. – С. 181-183.

6. **Волков, Д.В.** Эпизоотическая ситуация по микобактериозам в свиноводческих хозяйствах Новосибирской области / Д.В. Волков, К.В. Авдеенко // Новейшие направления развития аграрной науки в работах молодых ученых / Тр. III Международной науч.-практ. конф. молодых ученых. – Кемерово, 2008. – С. 196-199.

7. **Волков Д.В.** Распространенность микобактериоза и источники заболеваемости животных / Д.В. Волков, К.В. Авдеенко // Новейшие направления развития аграрной науки в работах молодых ученых / Тр. III Международной науч.-практ. конф. молодых ученых. – Кемерово, 2008. – С. 199-200.

8. Донченко, Н.А. Этиологические факторы микобактериозов свиней в Новосибирской области / Н.А. Донченко, Ю.И. Смолянинов, **Д.В. Волков** // Вест. АГАУ. – Барнаул, 2018. – № 4 (162). – С. 103-107.

Подписано в печать _____ 2018г. Формат 60x84/16

Бумага для множительных аппаратов. Печать ризографная.

Гарнитура «Times New Roman». Усл. печ. л. 1,0. Тираж 100 экз. Заказ № .