

На правах рукописи

Баратов Магомед Омарович

**ОСОБЕННОСТИ ТУБЕРКУЛЕЗА КРУПНОГО
РОГАТОГО СКОТА В РЕСПУБЛИКЕ ДАГЕСТАН
(ЭПИЗООТОЛОГИЯ, ДИАГНОСТИКА,
ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА
И МЕРЫ БОРЬБЫ)**

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

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
доктора ветеринарных наук

Ставрополь – 2017

Работа выполнена на кафедре микробиологии, вирусологии и патанатомии
ФГБОУ ВО «Дагестанский государственный аграрный университет
им. М. М. Джамбулатова»

Научный консультант: Заслуженный деятель науки РД, доктор
ветеринарных наук, профессор
М. М. Ахмедов

Официальные оппоненты: **Букова Наталия Константиновна**
доктор биологических наук, профессор,
ФГБУ «Всероссийский государственный центр
качества и стандартизации лекарственных средств
для животных и кормов», ученый секретарь

Донченко Николай Александрович
доктор ветеринарных наук, старший научный
сотрудник, ФГБУН «Сибирский федеральный
научный центр агробиотехнологий Российской
академии наук», руководитель Института
экспериментальной ветеринарии Сибири
и Дальнего Востока

Слинина Клавдия Николаевна
доктор ветеринарных наук, старший научный
сотрудник, ФГБНУ «Научно-исследовательский
ветеринарный институт Нечерноземной зоны
Российской Федерации», старший научный
сотрудник лаборатории инфекционных
и инвазионных болезней сельскохозяйственных
животных

Ведущая организация: **ФГБНУ «Всероссийский научно-
исследовательский институт бруцеллеза
и туберкулеза животных» (ФГБНУ ВНИИБТЖ)**

Защита состоится 13 октября 2017 года в 10⁰⁰ часов на заседании диссертационного совета Д 220.062.02 при ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет» по адресу: 355017, г. Ставрополь, пер. Зоотехнический, 12, тел: 8(8652)35-22-84.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет» и на официальном сайте организации www.stgau.ru.

Автореферат разослан «__» _____ 2017 года и размещен на сайтах: ВАК Министерства образования и науки РФ <http://www.vak.ed.gov.ru> «__» _____ 2017 г.; ФГБОУ ВО «Ставропольский ГАУ» <http://www.stgau.ru> «__» _-_____ 2017 г.

Учёный секретарь
диссертационного совета
кандидат ветеринарных наук

Дьяченко Юлия Васильевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Туберкулез продолжает оставаться острой проблемой в ветеринарии и медицине, причиняя огромный ущерб народному хозяйству и представляя серьезную опасность населению. Основной борьбы с туберкулезом является диагностика внутрикожной пробой с применением ППД-туберкулина для млекопитающих. Однако массовое выявление неспецифических реакций на туберкулин у животных, сенсibilизированных атипичными и сапрофитными микроорганизмами, делает результаты этой пробы ориентировочными.

Актуальность этой проблемы увеличивается из года в год. Так, в благополучных по туберкулезу хозяйствах выявляются в 5,3 раза больше реагирующих на туберкулин животных, чем в неблагополучных (Авилов В. М., 1992; Вышелесский С. Н., 1948, 1977; Найманов А. Х., 2002; Нуратинов Р. А., 1990; Овдиенко Н. П., 1987).

Резкое сокращение животных в общественном секторе и увеличение в частном (более 97 % в республике) с характерными бесконтрольными перемещениями животных, кормов и продуктов усугубило и без того тяжелую эпизоотическую и эпидемиологическую ситуацию. Именно поэтому туберкулез в последние годы получил различную степень распространения в отдельно взятых регионах, республиках и областях. Территория Республики Дагестан является весьма неблагополучной по туберкулезу в эпизоотическом и эпидемиологическом отношении (Авилов В. М., 1997; Аллахвердиев И. И., 1997; Гусейнов Г. К., 1996; Нуратинов Р. А., 1998, 2009; Овдиенко Н. П., 1989, 1990; Третьяков А. Д., 1981; Урбан В. П., 1986, 1996; Хайкин Б. Я., 1989).

Степень разработанности темы. В настоящее время достаточно изучены источники возбудителя инфекции и пути распространения. В то же время массовое выявление неспецифических реакций на туберкулин по-прежнему создает серьезную проблему в диагностике туберкулеза.

По официальной статистике Департамента ветеринарии МСХ России, в период с 2000 по 2015 год заболеваемость туберкулезом крупного рогатого скота отмечалась в 61 из 89 регионов России. Количество неблагополучных пунктов составило 203, вновь выявленных – 163 с коэффициентом неблагополучия 32640 голов крупного рогатого скота. Фактически туберкулез занимает второе

место в инфекционной патологии крупного рогатого скота (после лейкоза). Положение усложняется и непредсказуемостью последствия мирового экономического кризиса, социальные составляющие которого (стресс, бедность, миграция и т. д.) могут иметь к проблеме туберкулеза прямое отношение.

По данным ВОЗ, в России заболеваемость на 100 тыс. населения составляет более 87 человек, показатели по Дагестану в 1,5 раза выше (Авилов В. М., 1992; Гусейнов Г. К., 1996; Нуратинов Р. А., 1999, 2001). Согласно прогнозу к 2020 году заболеваемость туберкулезом может дойти до 117,6 человека, а смертность до 27,0 на 100 тыс. населения (Овдиенко Н. П., 2002). Г. К. Гусейнов (2013) пишет, что ни в одном регионе России нет более тяжелого эпидемиологического положения, чем в Дагестане. В республике только за 2012 год на 100 тыс. населения заболеваемость составила 92,4 человека, болезненность – 306,2, смертность – 20,2.

В эпизоотическом отношении не представляется возможным привести хотя бы приблизительные цифры о заболеваемости животных туберкулезом в республике из-за несовершенства статистических данных и нестыковки в работе науки и практики. В 2016 году зарегистрирован один неблагополучный пункт с высоким коэффициентом очаговости, что является показателем запоздалой диагностики.

Достаточно сказать, что в хозяйствах, расположенных во всех природно-климатических зонах республики, постоянно выявляется большое количество реагирующих на туберкулин животных. В связи с этим изучение эпизоотического процесса туберкулеза крупного рогатого скота в регионе и разработка научно обоснованной системы мер борьбы с учетом сложившихся местных условий представляют особый интерес.

Серьезную проблему по профилактике и ликвидации туберкулеза представляют неспецифические реакции на туберкулин, вызываемые атипичными микобактериями (Найманов А. Х., 1980, 2006; Журнакова М. А., 1964; Каграманов А. И., 1963; Контримавичус Л. М., 1966; Козин А. И., 1987; Манукян З. К., 1955; Марта О. В., 1978; Овдиенко Н. П., 1980; Савов Н., 1994; Сысоев В. Н., 1985; Харитонов М. В., 1983; Ходун М. М., 1990; Шаров А. Н., 1989; Шуревский В. Е., 1985; Asselineau C., 1978; Wolinsky E., 1988).

Имеются сообщения о сенсибилизации макроорганизма к туберкулину нокардиями и родококками, и считается целесообраз-

ным создание из них моноаллергенов для дифференциации неспецифических реакций на туберкулин (Нестеренко О. А., 1978, 1982; Нурагинов Р. А., 1998; Azuma J., 1970).

В то же время, несмотря на многочисленные сообщения о близкородственности коринебактерий с микобактериями (Баратов М. О., 2001, 2002, 2003, 2008, 2010; Бердичевская М. В., 1983; Нестеренко О. А., 1988, 1985; Нурагинов Р. А., 2004; Ridll M., 1987), вопрос о возможной сенсibilизации ими макроорганизма все еще остается нерешенным.

В связи с изложенным изучение эпизоотического процесса туберкулеза крупного рогатого скота в условиях реформирования сельского хозяйства, этиологии парааллергических реакций и их дифференциация, а также совершенствование методов диагностики являются актуальной проблемой, требующей своего научного разрешения.

Цель и задачи исследований. Изучить эпизоотическую ситуацию по туберкулезу крупного рогатого скота в Республике Дагестан и усовершенствовать методы диагностики этой болезни в условиях реформирования сельскохозяйственного производства.

Для разрешения указанной цели были поставлены следующие задачи:

- изучить особенности эпизоотического процесса туберкулеза крупного рогатого скота в Республике Дагестан за последние 55 лет;
- разработать лабораторный регламент изготовления и стандартизации аллергенов из микроорганизмов, близкородственных к микобактериям, и изучить сенсibilизирующие свойства к ППД-туберкулину;
- предложить способ дифференциаций аллергических реакций на туберкулин у зараженных коринебактериями животных;
- разработать новое средство диагностики для дифференциации аллергических реакций на ППД-туберкулин для млекопитающих у крупного рогатого скота на основе микобактериоподобных микроорганизмов;
- усовершенствовать и предложить универсальную питательную среду для коринебактерий и микобактериоподобных микроорганизмов;
- разработать и предложить научно обоснованную систему мер борьбы.

Научная новизна. Впервые:

- изучены эпизоотические особенности туберкулеза КРС в республике с учетом природно-климатической зональности;
- установлено распространение коринебактерий, нокардий и родококков в объектах внешней среды и в биоматериале;
- определена степень распространения парааллергических реакций у крупного рогатого скота;
- получен и предложен в практику сенситин из коринебактерий для диагностики коринебактериозных инфекций (Патент № 2592372 «Способ диагностики коринебактериоза и ассоциативных с коринебактериями инфекций у животных» от 29 июня 2016 г.);
- сконструирован аллерген из атипичных микобактерий КАМ (*M. scrofulaceum* № 12-С и *M. intracellulare* № 13-Н) и коринебактериозного сенситина (*Corynebacterium xerosis* № 1911) (Патент на изобретение № 2409387 «Комплексный аллерген для дифференциации аллергических реакций на ППД-туберкулин для млекопитающих» от 20 января 2011 г.);
- создан комплексный аллерген из атипичных микобактерий и микобактериоподобных микроорганизмов с внесением в КАМ (*M. scrofulaceum* № 12-С, *M. intracellulare* № 13-Н) нокардий (*N. asteroides* ВКМ Ас 1077), родококков (*R. bronchialis* ИМВ Ас) и коринебактериозного сенситина (*Corinebacterium xerosis* № 1911) (Положительное решение на выдачу патента);
- определена и усовершенствована среда для изолирования коринебактерий на основе геотермальной воды (Патент № 2588670 «Питательная среда для культивирования коринебактерий» от 7 июня 2016 г.);
- создана универсальная среда (М-10) для углеводородокисляющих микроорганизмов (коринебактерий, нокардий и родококков) (Положительное решение на выдачу патента).

Разработаны методические рекомендации: «Борьба с туберкулезом крупного рогатого скота в РД» (21.05.2002); «Мероприятия по оздоровлению хозяйств от туберкулеза» (23.12.2009); «Диагностика, профилактика и меры борьбы с туберкулезом крупного рогатого скота в Дагестане» (25.03.2009); «Коринебактерии (Общая характеристика, идентификация, методы выделения и генетиче-

ские свойства)» (09.02.2010). Издана монография «Коринебактерии» (2011 г.).

Комплексный аллерген для дифференциации аллергических реакций на ППД-туберкулин для млекопитающих, а также монография «Коринебактерии» награждены дипломами Республиканского выставочно-маркетингового центра «Дагестан – ЭКСПО».

Теоретическая и практическая значимость диссертационной работы заключается в возможности теоретического и практического использования моноаллергенов из микобактериоподобных микроорганизмов для дифференциаций неспецифических реакций на туберкулин, вызванных близкородственными микроорганизмами, а также использования усовершенствованных и универсальных питательных сред для изолирования коринебактерий и других углеводородокисляющих микроорганизмов. Полученные данные в ходе выполнения исследований по теме диссертационной работы служат дополнительным материалом для научно-практической деятельности на факультете ветеринарной медицины в учебном процессе по специальности – 36.05.01 «Ветеринария» ФГБОУ ВО «Дагестанский государственный аграрный университет им. М. М. Джембулатова», а также в ветеринарных лабораториях.

Методология и методы диссертационного исследования. Основой методологии исследования явилась научно обоснованная постановка проблемы разработки и стандартизации аллергенов из микобактериоподобных микроорганизмов (коринебактерий, нокардий и родококков), расширения антигенной структуры КАМ, эффективности применения их в дифференциации неспецифических реакций на туберкулин, а также определения и усовершенствования питательной среды для изолирования коринебактерий и создания универсальной среды для микобактериоподобных микроорганизмов (М-10), подтвержденные патентами РФ на изобретения, отражающие полезность и достоверность. Созданная в результате выполнения диссертации экспериментальная база данных позволяет сформулировать новые рекомендации. Кроме того, полученные практические результаты дополняют и развивают теорию.

Основные положения, выносимые на защиту:

- эпизоотический процесс по туберкулезу крупного рогатого скота на территории республики характеризуется значи-

- тельным распространением, длительным неблагоприятием хозяйств и наличием большого количества реагирующих на туберкулин животных;
- особенностью проявления туберкулеза является высокая инфицированность, зависящая от вертикальной зональности, широкое распространение атипичных и микобактериоподобных микроорганизмов в природе, а также перекрестная циркуляция микобактерий в организме человека и животных;
 - в этиологии неспецифических реакций важную роль играют коринебактерии, нокардии и родококки, о чем свидетельствует высокая степень интенсивности перекрестных реакций;
 - моноаллергены, а также комплексный аллерген из микобактериоподобных микроорганизмов показывают значительное превосходство по чувствительности и специфичности при дифференциации неспецифических реакций, вызванных гомологичными микроорганизмами;
 - универсальная питательная среда (М-10) для углеводородокисляющих микроорганизмов на основе геотермальной воды и усовершенствованная среда Бучина для изолирования коринебактерий показали практическую значимость и диагностическую ценность на фоне высокой активности ингибирующих свойств, что позволяет существенно сократить время проведения лабораторных исследований.

Степень достоверности. О достоверности полученных результатов работы свидетельствует значительный объем исследований, проведенных на достаточном количестве животных в лабораторных, а также в практических условиях с использованием апробированных методик получения аллергенов и питательных сред на специальном оборудовании в сертифицированных лабораториях. Объективность научных положений и выводов подтверждается применением биометрической обработки экспериментальных данных. Результаты исследования опубликованы в рецензируемых источниках и апробированы на специализированных научных конференциях.

Апробация работы. Материалы диссертации доложены на научно-практических конференциях: «По охране природы Дагестана» (Махачкала, 2001); «Тезисы докладов координационного

совещания и конференции» (Омск, 2001); «Актуальные проблемы туберкулеза» (Махачкала, 2002); «Инфекционные болезни в регионах Северного Кавказа: эпидемиология, лабораторная диагностика и профилактика» (Махачкала, 2002); «50-летию Дагестанской противочумной станции» (Махачкала, 2002); «Проблема ветеринарной медицины в условиях реформирования сельскохозяйственного производства» (Махачкала, 2003); «Научное обеспечение ветеринарного обслуживания животноводства в условиях реформирования животноводческого производства» (Вологда, 2007); «Молодые ученые – вклад в реализацию национального проекта «Развитие АПК» (Махачкала, 2007); «Образования, наука, инновационный бизнес сельскому хозяйству регионов» (Махачкала, 2007); «Основные проблемы ветеринарной медицины и стратегия борьбы с заболеваниями сельскохозяйственных животных в современных условиях» (Махачкала, 2007); «Достижения ветеринарной науки и практики – сельскохозяйственному производству» (Махачкала, 2008); «Повышение продуктивности сельскохозяйственных животных и птицы на основе инновационных достижений» (Новочеркасск, 2009); «Современные проблемы и перспективы развития аграрной науки» (Махачкала, 2010); «Современные проблемы, перспективы и инновационные тенденции развития аграрной науки» (Махачкала, 2010); «Проблемы развития АПК региона» (Махачкала, 2010); «Молодые ученые в решении актуальных проблем науки» (Владикавказ, 2013); «Современные проблемы и перспективы развития ветеринарной науки» (Махачкала, 2014); ученых и межлабораторных советах Прикаспийского зонального НИВИ (Махачкала, 2000–2005).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 35 научных работ, из них 11 – в изданиях, включенных в перечень российских рецензируемых научных журналов, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученых степеней доктора и кандидата наук, 3 патента, 3 методические рекомендации, 1 монография.

Объем и структура работы. Диссертация изложена на 271 странице компьютерного текста и включает: введение, обзор литературы, материалы и методы, собственные исследования, обсуждение полученных результатов, выводы, практические предложения, библиографический указатель использованной литературы, приложения. Работа иллюстрирована 45 таблицами, 3 рисунками, 2 картами-

схемами, 7 фотографиями, 1 графиком. Список использованной литературы включает 375 источников, из которых 89 иностранных.

1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В главе обобщены результаты научных исследований в области изучения туберкулеза животных. Дан анализ эпизоотической ситуации по туберкулезу в мире, России и Республике Дагестан. Изложены вопросы этиологии, патогенеза, клиники туберкулеза. Подробно освещены вопросы диагностики, дифференциальной диагностики, профилактики и мер борьбы.

2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Материалы и методы

Работа выполнена на кафедре микробиологии, вирусологии и патанатомии ФГБОУ ВО «Дагестанский ГАУ им. М. М. Джамбулатова» и в животноводческих хозяйствах Республики Дагестан с 2006 по 2015 год.

Эпизоотические особенности туберкулеза крупного рогатого скота изучались путем анализа ветеринарной отчетности комитета ветеринарии РД республиканской ветеринарной лаборатории. Анализ собранной информации осуществлялся согласно методическим указаниям по эпизоотологическому исследованию (Бакулов И. А. с соавт., 1982).

Аллергические исследования животных проводились внутрикожно и симультанно в соответствии с «Наставлением по применению туберкулинов для млекопитающих и птиц» (1995) и «Наставлением по проведению симультанной пробы с КАМ» (1980); пальпебральная с туберкулином для млекопитающих в дозе 0,2 см³ (10000 МЕ); внутривенная – по Р. А. Нуратинову. Всего исследовано: внутрикожной пробой – 36253, пальпебральной – 184, внутривенной – 128, симультанной с КАМ – 964 животных.

Бактериологическому исследованию подверглись 526 убойных животных. Посевы из патологического материала проводились на питательных средах ФИНН-2, Сотона, Левенштейна – Йенсена, Мюнца, МПА, нитратном агаре по Виноградскому, на среде с парафиновой приманкой, Бучина и др. по методикам: А. П. Аликаевой (1940) – для микобактерий, N. Songen (1913) в модификации R. Gordon, W. Hagan (1936) – для нокардий и родококков.

Для экспериментальных исследований использованы 210 морских свинок, 125 кроликов, проведено 393 посева в чашки Петри; диагностическая ценность симультанных проб изучена на 1675 коровах и нетелях разного возраста.

Свойства коринебактерий-изолятов изучались 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 09.01.1984) и ГОСТ 27318–87 «Методы идентификации атипичных микобактерий» (Ст. СЭВ 5627–86 от 02.06.1987); нокардий и родококков – на основе биохимических свойств (Becker B., 1964; Kanetsuna F., Bartoli A., 1972; Lechewalier M., 1968; Goodfellow M., 1971; Gordon R. E., 1953; Hugh R. и Lefson E., 1953).

Для экспериментального заражения подопытных животных использовали музейные штаммы: *M. bovis* шт. 637, *M. scrofulaceum*, *M. БЦЖ*, *M. flei*, *M. avium*, *M. tuberculosis*; *N. asteroides* (ВКМ Ас 1077), *N. brasiliensis* (ВКМ Ас 867), *N. vaccinii* (ВКМ Ас 856); *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), *C. unternice nontoxigen* № 7227, *C. xerosis* № 1911, *C. nontoxigen*.

Для получения моноаллергена *Corynebacterium xerosis* № 1911 выращивали на синтетической среде Сотона с добавлением *n*-алканов в течение 2 месяцев. Колбы с толщиной бакмассы около 1 см автоклавировали при 1,5 атм в течение 30 мин, фильтровали, центрифугировали, после чего проводили осаждение белка. Из маточного раствора 10 %-ной концентрации готовили испытываемые концентрации белка (0,00005; 0,0001; 0,0002; 0,0003; 0,0004 и 0,0005 мг в 0,1 мл).

Пороговую чувствительность и специфичность изучали на морских свинках.

Сенсибилизирующие свойства к туберкулину определяли на морских свинках, зараженных *Mycobacterium БЦЖ*, *M. avium*, *Corinebacterium xerosis* № 1911, *C. ulcerans* № 675, *C. bovis* через 30, 60 и 90 дней. Аллерген из *Corynebacterium xerosis* № 1911,

M. scrofulaceum № 12-С и *M. intracellulare* № 13-Н готовили исходя из содержания белка в КАМе – 1350 единиц действия в 0,2 мл раствора и 0,0003 мг белка коринебактерий в 0,1 мл, которая была нами принята за единицу. Испытание проводили на морских свинках, зараженных микобактериями (*scrofulaceum* и БЦЖ) и коринебактериями (*xerosis*).

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 на синтетической среде Сотона. Биологическую активность и сенсибилизирующие свойства к туберкулину изучали на кроликах и морских свинках.

Комплексный аллерген готовили из микобактериоподобных микроорганизмов (*M. scrofulaceum* № 12-С, *M. intracellulare* № 13-Н, *S. xerosis* № 1911, *N. asteroides* (ВКМ Ас 1077), *R. bronchialis* (ИМВ Ас 737). Испытание проводили как на зараженных микобактериями (*scrofulaceum*, БЦЖ), коринебактериями (*xerosis*), нокардиями (*asteroidis*) и родококками (*bronchialis*) морских свинках, так и производственно в хозяйствах на 136 животных (коровы и нетели разного возраста).

Определение дозы коринебактериозного сенситина для аллергической диагностики коринебактериоза проводили на морских свинках, сенсибилизированных коринебактериями (*Corinebacterium xerosis* № 1911). Специфичность определяли на зараженных коринебактериями и атипичными микобактериями морских свинках, а также на больных туберкулезом животных.

Липид LCN-A определяли в этанол-эфирных экстрактах с помощью тонкослойной хроматографии (ТСХ). Анаэробное усвоение глюкозы и наличие фермента каталазы – по общепринятым методикам.

Оценку иммунологического статуса лабораторных животных проводили с помощью реакции: РОК, РБТЛ, РСЛЛ, РТМЛ.

Симультанную пробу с исследуемыми аллергенами и ППД-туберкулином ставили в политесте на морских свинках и на КРС разного возраста. Цифровой материал обрабатывали методом вариационной статистики в зависимости от поставленной цели (Лаким Г. Ф., 1980) с использованием программ «Б-01», «Корреляция», метода «критерия знаков» и определения достоверности разницы между средними зависимых и независимых выборок.

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

2.2. Особенности проявления туберкулеза КРС в Республике Дагестан

Туберкулез крупного рогатого скота имел широкое распространение особенно в 60-х годах прошлого столетия. Эпизоотический процесс по туберкулезу КРС в Дагестане за 55 лет (1960–2015) характеризуется четырьмя периодами.

Первый период – 1960–1975 гг. Неблагополучен 31 район из 39, выявлено 125 неблагополучных пунктов в 1964 году: заболевших – 1896, инфицированных – 1786 животных. Характеризуется проведением широкомасштабного комплекса профилактических мероприятий и укреплением материально-технической базы хозяйств. Одновременно снижался уровень передержки больного скота, что обеспечило стабилизацию эпизоотической ситуации, а с 1968 года начался процесс ее постепенного улучшения. Однако благополучие хозяйств оказалось условным, поскольку первые же контрольно-комиссионные исследования, проведенные в 1976 году, в 2 хозяйствах показали высокую степень пораженности скота туберкулезом.

Второй период – 1976–1991 гг. Ухудшение обстановки и дальнейшее распространение туберкулеза, особенно в плоскостной зоне, где из 21 комплекса промышленного типа не было ни одного благополучного. Во многих хозяйствах из-за высокой заболеваемости проводилась полная замена всего скота. При анализе причин распространения болезни выявлены: низкий уровень санитарной культуры на животноводческих объектах, ввод в стада неисследованного скота без карантинирования, использование в корм животным сборных молочных продуктов, запоздалая диагностика, также передержка больного туберкулезом скота. В итоге все это привело к возникновению крупных очагов туберкулеза: неблагополучных пунктов – 73, заболевших – 18,7 % и инфицированных – 55,9 %.

Третий период – 1992–2005 гг. Характеризуется изменениями условий хозяйствования, которые закономерно привели к изменению эпизоотической ситуации, затруднению осуществления вете-

ринарного контроля и проведению диагностических исследований из-за уменьшения количества общественного поголовья и увеличения его в частном секторе; появлением единичных случаев заболеваний в отдельных хозяйствах (1992–1996); зарегистрировано всего 8 неблагополучных пунктов с заболеваемостью до 0,8 %.

С 2002 по 2005 год туберкулез в республике не регистрируется. Значительное «улучшение» ситуации по туберкулезу, на наш взгляд, связано:

- с резким уменьшением численности поголовья КРС в республике – с 1476300 голов (1989) до 674000 (2002);
- ликвидацией и разукрупнением комплексов, а также переводом более 96 % животных в подсобные и фермерские хозяйства;
- отсутствием регистрации неблагополучных очагов в индивидуальных хозяйствах.

Вместе с тем следует отметить, что многие бывшие неблагополучные пункты «ликвидировались» вместе с расформированием колхозов и совхозов и подворовым разделом их собственности, в том числе и больного туберкулезом скота.

Четвертый период – 2007–2015 гг. Связан с относительной стабилизацией ситуации по туберкулезу в республике, как и в стране в целом. Контрольно-комиссионные исследования в 2007 году показали высокую степень зараженности скота в 23 хозяйствах, причем в запущенной форме.

Частота обнаружения туберкулеза в запущенной форме свидетельствовала о давности туберкулезного процесса во многих хозяйствах республики. Причины неблагополучия животных по туберкулезу практически во всех хозяйствах были связаны с нарушением ветеринарно-санитарных и организационно-хозяйственных мероприятий.

С 2007 по 2015 год туберкулез был установлен в 23 хозяйствах, из которых 22 оздоровлены, и отмечена вертикальная зональность. Так, из 142 неблагополучных пунктов на плоскостную зону приходилось – 86, предгорную – 38 и горную – 18. В то же время 28 пунктов из 86, 6 из 38 и 12 из 18 приходятся на хозяйства горной зоны, расположенные на отгонных пастбищах.

Исследования показывают, что туберкулез занимает ведущее место в патологии инфекционных болезней крупного рогатого скота в республике. Данные отражены в таблице 1.

Таблица 1

**Удельный вес туберкулеза крупного рогатого скота
в инфекционной патологии (2000–2015 гг.)**

№ п/п	Болезнь	Неблагополучные пункты	Заболело	Удельный вес, %	
				Неблагоп. пункты	Заболевшие
1	Бруцеллез	403	27956	32,2	72,0
2	Туберкулез	105	6739	8,4	17,3
3	Трихофития	102	416	8,1	1,0
4	Лептоспироз	97	516	7,7	1,3
5	Лейкоз	94	143	7,5	0,3
6	Пастереллез	85	1260	6,8	3,2
7	Колибактериоз	78	216	6,2	0,5
8	Сальмонеллез	64	167	5,1	0,4
9	Злокачественный отек	56	54	4,4	0,1
10	Эмфизематоз. карбункул	48	274	3,8	0,7
11	Актиномикоз	34	367	2,7	0,9
12	Бешенство	28	288	2,2	0,7
13	Хламидиоз	23	35	1,8	0,09
14	Некробактериоз	12	275	0,9	0,7
15	Паратуберкулез	8	44	0,6	0,11
16	Сибирская язва	7	34	0,5	0,08
17	Диплококк. инфекция	6	27	0,4	0,06
	Всего	1250	38811	100,0	100,0

Как видно из таблицы 1, из 17 болезней нозологического профиля туберкулез занимает второе место. На долю туберкулеза приходится 8,4 % неблагополучных пунктов и 17,3 % заболевших животных. За это время убито 25007 голов, из которых более 70 % коров.

2.2.1. Влияние зональных особенностей на эпизоотический процесс

Природно-климатические условия республики имеют свои характерные особенности и могут повлиять прямо или косвенно на эпизоотический процесс. По характеру рельефа, природным усло-

виям и специализации сельского хозяйства территория республики делится на горную, предгорную и равнинную зоны, где туберкулез проявляется и протекает с разной степенью напряженности (таблица 2).

Таблица 2

Распространение туберкулеза крупного рогатого скота по зонам за 1987–2015 гг.

Зоны	Всего неблагоп. пунктов	%	Кол-во исслед. живот.	%	Заболело	%
Равнинная	86	60,5	8254429	43,22	25972	65,6
Предгорная	38	26,7	5674204	29,71	9977	25,2
Горная	18	12,6	5124163	26,83	3594	9,08
Всего	142	100	19098634	100	39592	100

Как видно из таблицы 2, природно-климатические условия всех трех зон (температура, рН, влажность) способствуют сохранению возбудителя во внешней среде, о чем свидетельствует их стационарное неблагополучие по туберкулезу. Наибольшее количество неблагополучных пунктов (60,5 %) и заболевших животных (65,6 %) приходится на равнинную зону, наименьшее – 12,6 % и 9,08 % – на горную соответственно.

Имеются все основания считать реактивность на туберкулин зависимой от условий содержания скота и времени года. Вероятно, зимне-стойловый период содержания и снижение уровня иммунобиологической реактивности способствуют перезаражению животных. Так, из 6863470 исследованных голов диагноз на туберкулез подтвержден у 7974 животных (0,11 %), причем более 83 % больных выявлено в весенне-осенний период.

2.3. Совершенствование метода диагностики

2.3.1. Общая характеристика коринебактерий

Дана обоснованная систематика коринебактерий. На основании изученных морфологических, физиологических, культуральных и хемотаксономических признаков показано уникальное своеобразие данных таксонов.

2.3.2. Биосфера и эволюционная приспособленность коринебактерий к макроорганизму

Обсемененность коринебактериями объектов внешней среды и возможность циркуляции их в организме животных определяли в пробах: почвы – 180, кормов – 260, воды – 250, навоза – 150, крови крупного рогатого скота, реагирующего на туберкулин, – 90, молока – 30, лимфатических узлов – 35. Результаты изученных культуральных, тинкториальных, ферментативных и других свойств приведены в таблице 3.

Как видно из таблицы 3, результаты морфо-функциональных и физиолого-биохимических свойств подтвердили принадлежность выделенных таксонов к роду *Corynebacterium*.

Исследования показали, что объекты внешней среды, независимо от эпизоотической ситуации по туберкулезу, контаминированы коринебактериями. Всего исследовано 840 проб из объектов внешней среды и 155 из биоматериала. Выделено 364 и 87 культур соответственно, большинство из которых составляли *C. xerosis*, *C. bovis*, *C. pseudotuberculosis*.

2.3.3. Методы выделения коринебактерий.

В разделе сформулирована научно обоснованная методика обнаружения и идентификации коринебактерий, описаны методы, позволяющие быстро и просто определить диагноз таксона.

2.4. Сенсибилизирующие свойства к туберкулину

2.4.1. Разработка аллергена, изучение его специфичности и чувствительности в лабораторных и производственных условиях

Для получения активного белка культуру *Corynebacterium xerosis* № 1911 выращивали на синтетической среде Сотона с добавлением н-алканов. Из осажденного белка готовили маточный раствор 10 % концентрации, а затем испытуемые концентрации 0,00005; 0,0001; 0,0002; 0,0003; 0,0004 и 0,0005 мг в 0,1 см². Чувствительность аллергена определяли на 24 морских свинках через 25 дней после кожного заражения коринебактериями (таблица 4).

Из материалов таблицы 4 видно, что пороговая чувствительность аллергена находится в пределах 0,00005 мг в 0,1 мл раствора, повышается до концентраций 0,0003 мг, и в дальнейшем, независимо от его увеличения, интенсивность реакций снижается. В связи с чем за единицу белка коринебактерий была принята доза – 0,0003 мг в 0,1 мл раствора.

Результаты исследования свойств выделенных культур

№ п/п	Свойства	Пробы					Корма
		Почва		Кровь	Навоз	Корма	
		Горная зона	Предгорн. зона				
1	Рост на среде Бучина	+	+	+	+	+	+
2	Скорость роста (сут)	2-3	2-3	2-3	3-5	3-4	3-4
3	Титры	1,3×10 ³	1,6×10 ⁴	4,7×10 ⁵	6×10 ⁴	175×10 ⁵	84×10 ⁴
4	Рост на накоп. среде с н-алканами	7 %+	20 %+	24 %+	2 %+	1 %+	1,5 %+
5	Окраска по Граму	+	+	90 %+	+	98 %+	+
6	Подвижность	-	-	-	-	-	98 %-
7	Кислотоустойчивость	-	-	-	-	-	-
8	Тест на липид LCN-A	+	+	+	90 %+	+	+
9	Тест (R. Hugh – E. Lefson)	+	+	90 %+	96 %+	78 %+	=
10	Тест на каталазу – пероксидазу – цитохромоксидазу	+	+	+	+	+	+
		+	+	+	+	+	+
11	Чувствительность к - 0,1 % олеату Na - 8 % NaCl - 4 % K	+	-	+	+	-	-
		-	+	-	-	-	-
		-	-	+	+	+	+
12	Разложение - крахмала - желатина - козеина - Твина 40 - 60 - 80	+	-	-	+	+	+
		-	+	-	-	-	-
		+	+	+	+	+	+
		+	+	+	+	+	+
		-	+	+	+	+	+
13	Восстановление нитратов в нитриты	90 %+	80 %+	98 %+	70 %+	60 %+	90 %+

Таблица 4

**Зависимость интенсивности реакций на аллергены
от концентраций белка**

Концентрация белка в аллергене (мг в 0,1 мл)	(Corynebacterium xerosis № 1911)	
	Интенсивность реакций, мм ²	M±m
0,00005	---- 1,8 --- ---	0,45±0,45
0,0001	6,3 --- 12,4 ---	4,68±2,97
0,0002	21,6 30,4 28,2 33,4	28,40±2,50
0,0003	90,3 72,4 87,2 83,1	83,25±3,91
0,0004	86,3 60,5 64,8 71,2	70,70±5,60
0,0005	70,7 50,3 64,2 58,4	60,90±4,34

Комплексный аллерген готовили исходя из содержания белка в КАМе – 1350 единиц действия и 0,0003 мг белка коринебактерий. Для чего 20,25 мг влажной культуры *C. xerosis* смешивали с 10 мл КАМа. Для получения рабочего раствора содержанием 15 единиц действия в 0,1 мл, 0,2 мл (1350 ед.) растворяли в 8,8 мл физраствора (1:45). Испытание проводили на морских свинках, зараженных микобактериями (*M. scrofulaceum*, *M. БЦЖ*) и коринебактериями (*C. xerosis*). Каждой культурой были заражены по 7 морских свинок и 7 служили контролем. Данные представлены в таблице 5.

Таблица 5

**Результаты сравнительной оценки интенсивности
реакции на аллерген у морских свинок**

№ п/п	Заражающая культура	Кол-во животных в опыте	Интенсивность реакций в мм ² на			
			комплексный аллерген	M±m	КАМ	M±m
1	Corynebacterium xerosis	1	97,36	71,03± 12,88	–	53,23± 10,86
		2	–		64,22	
		3	72,16		85,13	
		4	88,19		46,09	
		5	63,24		77,45	
		6	100,19		62,57	
		7	76,17		37,18	
2	Mycobacterium scrofulaceum	1	87,64	60,46± 13,98	89,17	69,11± 11,60
		2	64,28		34,20	
		3	–		107,17	
		4	100,15		26,24	
		5	90,83		77,42	
		6	43,16		92,30	
		7	37,19		57,26	
3	Mycobacterium БЦЖ	1	98,69	56,92± 11,85	34,18	61,40± 13,56
		2	37,34		92,30	
		3	66,70		67,24	
		4	55,10		106,30	
		5	–		26,17	
		6	76,48		87,49	
		7	64,12		16,12	
4	Контроль	1	–	–	–	–
		2	–		–	
		3	–		–	
		4	–		–	
		5	–		–	
		6	–		–	
		7	–		–	

Из таблицы 5 видно, что наибольшая интенсивность реакций на аллерген была у морских свинок, зараженных коринебактерией, а на КАМ – значительно слабее. В остальных группах морские свинки реагировали менее интенсивно, чем на КАМ, что свидетельствует о значительном превосходстве аллергена с коринебактериозным сенсибином по сравнению с КАМом.

Достоверность результатов лабораторных исследований подтверждена нами и в производственных условиях на 88 животных с неопределенными результатами симультанной пробы с КАМ.

2.4.2. Динамика аллергических реакций на туберкулин у зараженных коринебактериями животных

Динамику аллергических реакций на туберкулин изучали на 36 морских свинок, зараженных культурой М. БЦЖ, М. avium, С. xerosis № 1911, С. ulcerans № 675, С. bovis (таблица 6).

Таблица 6

Динамика проявления аллергических реакций на туберкулин и коринебактериозный сенситин у экспериментально зараженных животных

№ п/п	Заражающая культура	Интенсивность реакций (мм ²) через					
		30 дней		60 дней		90 дней	
		Туберкулин	Туберкулин	Коринебактериозный сенситин	Туберкулин	Коринебактериозный сенситин	
1	М. БЦЖ	145,3±35,6	125,1±37,6	133,1±18,5	176,3±85,6	36,6(-)	
2	М. avium	112,5±36,5	154,3±47,2	136,7±29,8	137,2(-)	–	
3	С. xerosis № 1911	167,4±76,2	76,3(-)	65,7±29,2	–	63,5±16,6	
4	С. ulcerans № 675	76,7±16,8	64,5±43,8	85,8±20,6	72,4±27,3	37,8±6,3	
5	С. bovis	57,9±12,4	61,2±16,4	–	76,4±20,3	92,3±17,7	
6	Контроль	–	–	–	–	–	

Примечание: (-) – единично реагировали.

Как видно из таблицы 6, морские свинки, зараженные коринебактериями, реагировали на туберкулин до 90 дней (срок наблюдения), зараженные микобактериями на коринебактериозный сенситин – до 60 дней, а через 90 дней реагировали только отдельные животные. Установлено также повышение Т- и В-лимфоцитов в реакции розеткообразования под действием антигенов (таблица 7).

**Содержание Т- и В-лимфоцитов в периферической крови морских свинок
через 30, 60, 90 дней после заражения**

№ п/п	Заражающая культура	Относительное содержание Т- и В-розеткообразующих клеток, %											
		Исходное		1-е исследование		2-е исследование		3-е исследование					
		Т	В	Т	В	Т	В	Т	В				
1	М. БЦЖ	19,7±1,6	32,6±3,4	21,6±1,6	40,6±2,3	26,7±5,4	60,5±1,6	25,8±5,6	36,5±6,4				
2	М. avium	22,3±3,4	27,7±5,6	23,7±2,4	38,4±3,2	23,9±3,6	70,4±4,3	22,7±2,3	40,8±3,3				
3	С. xerosis № 1911	21,9±2,1	30,2±1,9	26,5±3,7	54,8±6,4	29,7±6,4	40,6±2,8	28,8±6,4	35,6±2,8				
4	С. ulcerans № 675	20,8±3,4	29,7±4,6	22,6±2,7	46±7,4	25,4±3,2	39,4±1,8	19,4±2,3	43,5±6,4				
5	С. bovis	21,5±2,7	30,7±2,4	22,7±1,6	48±2,3	28,7±2,9	41,7±3,3	30,6±4,5	37,5±2,8				
6	Контроль	21,0±1,3	30,8±1,9	20,1±1,6	29,6±2,5	19,9±5,6	28,7±3,7	20,6±1,7	31,2±2,3				

Как видно из таблицы 7, увеличение обеих популяций клеток наблюдали только у морских свинок, зараженных микобактериями. В остальных группах отмечали снижение количества Т-лимфоцитов в 3-м этапе исследований и В-лимфоцитов после 60 дней.

Аналогичные результаты получены нами и в реакции бласт-трансформаций лимфоцитов. Как видно из таблицы 8, бластообразование лимфоцитов отмечено у всех подопытных животных, причем в первых двух группах процент бластов повышался до 90 дней, в остальных – до 60 дней с дальнейшим снижением до 3 месяцев.

Таблица 8

Показатели клеточного иммунитета у зараженных микобактериями и коринебактериями морских свинок через 30, 60 и 90 дней

№ п/п	Заражающая культура	Показатель иммунной реакций, %		
		РБТЛ		
		1-е исслед.	2-е исслед.	3-е исслед.
1	М. БЦЖ	12,3±0,3	13,4±0,6	16,4±0,8
2	М. avium	10,6±0,7	9,7±0,5	12,4±0,2
3	С. xerosis № 1911	6,4±0,07	7,8±0,06	6,3±0,08
4	С. ulcerans № 675	4,5±0,04	6,5±0,09	6,1±0,03
5	С. bovis	5,7±0,02	6,3±0,03	5,8±0,06
6	Контроль	1,6±0,01	1,5±0,2	1,5±0,09

Полученные данные подтверждают близость антигенной структуры корине- и микобактерий.

2.5. Аллергическая диагностика коринебактериоза и ассоциативных с ним инфекций

Целесообразность использования коринебактериозного аллергена при диагностике коринебактериоза изучали на 25 морских свинок. Для этого была определена чувствительность аллергена на сенсibilизированных коринебактериями (С. xerosis № 1911) животных через 27 дней после подкожного заражения. Данные представлены в таблице 9.

Как видно из таблицы 9, интенсивность реакции увеличивалась до дозы аллергена 0,2 мл с последующим снижением. С связи чем

наиболее оптимальной оказалась доза 0,2 мл (средняя интенсивность реакции – 4,84±1,21).

Таблица 9

Результаты испытания различных доз аллергена на сенсibilизированных коринебактериями морских свинок

Дозы аллергена, мл	Интенсивность реакции, мм			
	Через 48 ч	M±m	Через 72 ч	M±m
0,1	–	3,31±0,84	–	3,82±0,97
	4,16		4,94	
	3,95		4,30	
	4,74		4,63	
	3,68		5,23	
0,2	5,33	4,16±1,04	6,36	4,84±1,21
	4,91		6,02	
	5,13		5,94	
	–		–	
	5,44		5,87	
0,3	–	3,59±0,92	–	3,81±1,00
	4,72		5,77	
	5,02		5,01	
	4,18		4,19	
	4,03		4,07	
0,4	3,23	3,09±0,83	4,66	2,57±1,11
	4,87		3,03	
	3,17		–	
	–		–	
	4,18		5,17	

Специфичность аллергена изучали на морских свинок, зараженных коринебактериями, атипичными микобактериями, а также на больных туберкулезом животных (таблица 10).

Как видно из таблицы 10, интенсивность реакции у животных, зараженных коринебактериями, составляет 6,92±0,28, тогда как у зараженных атипичными микобактериями и больных туберкулезом животных – 4,76±0,33 и 4,95±38 соответственно. Сенсibilизированные животные реагировали на гомологичный аллерген с большей интенсивностью. Полученные данные свидетельствуют о высокой специфичности аллергена.

Таблица 10

Результаты испытания аллергена на специфичность

Группа животных	Число	Количество реагировавших	%	Интенсивность реакций
Зараженные коринебактериями (С. хerosis № 1911)	15	14	93,3	6,92±0,28
Зараженные атипичными микобактериями (М. scrofulaceum № 12-С)	15	12	80	4,76±0,33
Больные туберкулезом	6	3	50	4,95±0,38

2.6. Разработка методов культивирования коринебактерий

2.6.1. Сравнительное изучение питательных сред

С целью совершенствования питательной среды для выделения коринебактерий проводили сравнительное изучение наиболее часто используемых сред с двукратной повторяемостью. Культуру каждого штамма в дозе 500 клеток в 0,1 см³ высевали на 6 чашках Петри (таблица 11).

Таблица 11

Результаты испытания питательных сред для выделения коринебактерий

Среда	Показатель прорастания колоний, ++++				Величина колоний (мм) через 48 часов
	24 часа		48 часов		
	Тест-штаммы	Нативный материал	Тест-штаммы	Нативный материал	
Нитритный агар	–	–	–	–	–
Среда Сотона	–	–	–	±	–
Накопительная среда	–	–	–	–	–
Кровяной агар	+++	+++	++++	++++	1,5–2,5
Кровяно-теллуритовый агар	+++	+++	++++	++++	2,2–3,4
Среда Бучина	++	++	++	+++	2,5–3,3
Сывороточный агар	+	+++	+++	++++	2,1–3,0

Примечание: + + + + – сплошной рост, колонии не поддаются подсчету;
 + + + – обильный рост (от 30 до 56 колоний);
 + + – умеренный рост (от 16 до 33 колоний);
 + – скудный рост (от 5 до 8 колоний).

Как видно из таблицы 11, практическую значимость и диагностическую ценность показала среда Бучина, хотя она и обладает слабыми ингибирующими свойствами.

2.6.2. Совершенствование питательной среды для изолирования коринебактерий

За основу взята среда Бучина, где дистиллированная вода была заменена геотермальной как дополнительным источником микромакроэлементов, а также фактором роста (таблица 12).

Таблица 12

Характеристика роста коринебактерий на питательных средах

Среда	Показатель прорастания колоний, ++++				Величина колоний (мм) через 48 часов
	24 часа		48 часов		
	Тест-штаммы	Нагивный материал	Тест-штаммы	Нагивный материал	
Нитритный агар	–	–	+	+	1,6–1,9
Среда Согона	–	–	+	+	2,1–2,3
Клауберг II	–	+	+	++	1,0–2,4
Кровяной агар	+++	++++	++++	++++	1,5–2,5
Кровяно-теллуритовый агар	+++	+++	++++	++++	2,2–3,4
Сывороточный агар	+++	+++	++++	++++	2,1–3,0
Среда Бучина	+	++	++	+++	2,5–3,3
Предлагаемая среда	+++	++	+++	+++	2,7–3,5

Примечание: ++++ – сплошной рост, колонии не поддаются подсчету;
 +++ – обильный рост (от 20 до 46 колоний);
 ++ – умеренный рост (от 12 до 23 колоний);
 + – скудный рост (от 2 до 6 колоний).

Как видно из таблицы 12, на усовершенствованной среде рост колонии тест-штаммов в количестве от 20 до 46 появлялся за 1 сутки, а эпизоотических – от 12 до 23. В дальнейшем изменений в чашках не наблюдалось, что является показателем высокой ингибирующей активности среды.

Далее определяли оптимальное количество геотермальной воды, для чего приготовили 3 варианта среды (по 15 чашек Пе-

три) с содержанием в процентном отношении 65, 85 и 100. На все варианты сред произвели посев *C. xerosis*. Данные представлены в таблице 13.

Таблица 13

Сроки и характер появления роста на средах различных вариантов

Варианты сред с различным содержанием геотермальной воды, %	Показатели прорастания колоний, ++++	<i>Corynebacterium xerosis</i>	
		Число чашек Петри с ростом через	
		24 суток	48 суток
65	++++	3	5
	++	2	3
	+	5	2
85	++++	2	3
	++	6	6
	+	2	1
100	+++	8	9
	++	2	1

Примечание: ++++ – сплошной рост;
 +++ – обильный рост;
 ++ – умеренный рост;
 + – скудный рост.

Как видно из таблицы 13, рост первичных колоний на всех вариантах сред отмечен через 24 часа. Однако в варианте со 100 % содержанием геотермальной воды рост был обильным, не происходило прорастание культуры и не менялись морфологические свойства колонии, что дает основания для использования в дальнейшей работе.

2.7. Распространение и видовой состав нокардий и родококков

Нокардии и родококки имеют широкое распространение в объектах внешней среды. Нами выделено 156 культур (53,79 %) из 290 проб почвы с пастбищ и животноводческих объектов, из которых 75 – нокардий и 96 – родококки.

Изучена также возможность циркуляции их в организме крупного рогатого скота (37 проб) (таблица 14).

Таблица 14

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

№ п/п	Хозяйство	Район	Кол-во проб	Выделенные культуры			
				Нокардии	%	Родоккокки	%
1	СПК «Усишинский»	Акушинский	7	1	14,28	3	42,85
2	СПК «Хуринский»	Лакский	4	–	–	3	75,00
3	КФХ «Ленина»	Лакский	10	1	10,00	2	20,00
4	СПК «Хамамаюртовский»	Бабаюртовский	10	3	30,00	1	10,00
5	КФХ «Рассвет»	Карабудахкентский	6	1	16,66	1	16,66
	ВСЕГО		37	6	16,21	10	27,02

Как видно из таблицы 14, всего выделено 16 культур (43,24 %), в том числе: родококков – 10 (62,5 %) и нокардий – 6 (37,5 %).

2.7.1. Разработка аллергенов из нокардий и родококков

Для получения активного белка из культуральной жидкости *N. asteroides* и *R. bronchiales* выращивали на усовершенствованной нами синтетической среде Сотона с добавлением 2 % парафина. Далее испытуемые концентрации белка 0,00001; 0,0002; 0,0003; 0,0004; 0,0005 и 0,0006 мг в 1 см³ получали по аналогии с коринебактериями. Аллерген изучали на 40 кроликах, зараженных музейными культурами микобактерий, нокардий и родококков, а также изолятами (10 мкг влажной культуры в физиологическом растворе, вводили подкожно на депилированный участок брюшной поверхности). Аллергические реакции изучали 3-кратным исследованием через каждые 30 дней (таблица 15).

Из материалов таблицы 15 видно, что все кролики, зараженные микобактериями, реагировали на ППД-туберкулин стабильно с высокой интенсивностью и с меньшей – на нокардин. Зараженные нокардиями реагировали интенсивнее на гомологичный аллерген.

Аналогичный опыт был поставлен и по испытанию родококкового сенситина. Данные представлены в таблице 16

Таблица 15

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

№ п/п	Заражающая культура	Интенсивность реакции (мм ²) при исследовании через							
		30 дней		60 дней		90 дней			
		ППД-туберкулин	Нокардин	ППД-туберкулин	Нокардин	ППД-туберкулин	Нокардин	ППД-туберкулин	Нокардин
1	M. БЦЖ	171,7±14,4	101,5±575	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	N. asteroides	100,0±0	196,0±53,1	—	219,0±56,0	100,0±0	62,0±0	—	—
5	N. transvalensis	110,0±10,0	135,0±7,7	166,0±0	150,0±0	75,0±0	—	—	—
6	R. equi	150,0±0	—	—	50,0±0	—	—	—	—
7	R. bronchialis	—	—	—	67,0±11,3	—	—	—	—
8	Контроль	—	—	—	—	—	—	—	—

Таблица 16

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

№ п/п	Заражающая культура	Интенсивность реакции (мм ²) при исследовании через							
		30 дней		60 дней		90 дней			
		ППД-туберкулин	Сенситин родококков	ППД-туберкулин	Сенситин родококков	ППД-туберкулин	Сенситин родококков	ППД-туберкулин	Сенситин родококков
1	M. БЦЖ	162,5±11,5	71,3±10,4	187,2±54,3	94,2±12,0	134,6±22,5	—	—	—
2	M. scrofulaceum	124,4±22,2	84,2±9,5	170,1±24,8	54,0±0,1	91,5±34,4	42,4±3,4	—	—
3	N. asteroides	75,5±14,4	86,5±22,4	—	31,3±0,1	—	—	—	—
4	N. brasiliensis	56,2±8,5	41,3±0,1	72,5±14,0	—	—	—	—	—
5	R. bronchialis	87,6±14,2	119,2±22,3	93,5±13,1	213,0±35,2	—	112,5±32,3	—	—
6	R. equi	45,4±0	76,6±23,4	99,8±13,4	174,1±24,5	—	94,6±0	—	—
7	Контроль	—	—	—	—	—	—	—	—

Как видно из таблицы 16, через 30 дней после заражения на туберкулин реагировали все кролики, а на 90-й – только на родококковый сенситин. Интенсивность реакций у всех кроликов на гомологичный родококковый сенситин была наибольшей.

2.7.2. Сенсибилизирующие свойства к туберкулину

Сенсибилизирующие к туберкулину свойства 13 культур изучены нами в экспериментальных условиях. Результаты отражены в таблице 17.

Таблица 17

Динамика аллергических реакций на туберкулин у экспериментально зараженных кроликов

№ п/п	Заражающая культура	Кол-во гол. в опыте	Дни исследования и результаты		
			30	60	90
1	М. БЦЖ	4	171,7±14,4	193,5 ±78,5	215(1)
2	M. avium	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 (Хамамаюрт-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 (Хамамаюрт-2)	4	207,8±16,7	–	–
13	R. erithropolis (Хамамаюрт-13)	4			
14	Контроль	5	–	–	–

Как видно из таблицы 17, кролики, зараженные микобактериями, реагировали на туберкулин в течение всего периода, зараженные нокардиями и родококками – до 30 дней, а контрольные – отрицательно.

Таким образом, установлено, что микобактерии, нокардии и родококки имеют общие антигенные субстанции, о чем свидетельствуют перекрестные кожные аллергические реакции на туберкулин. Результаты наших исследований показывают целесообразность использования симультанной пробы с указанными аллергенами для дифференциации туберкулиновых реакций. В опыте на 326 животных доказана возможность использования вместо КАМ указанных аллергенов с сохранением методики и принципа оценки. При этом установлена выраженность реакций на туберкулин у 18 (5,52 %), на родококковый аллерген – у 38 (11,65 %) животных.

2.8. Совершенствование метода дифференциации аллергических реакций на туберкулин

2.8.1. Дифференциация микобактериоподобных микроорганизмов и их идентификация

В разделе приведены простые и доступные методы для детальной классификации коринебактерий от родственных микроорганизмов (микобактерии, нокардии, родококки), основанные на результатах физиологических и биохимических тестов.

2.8.2. Разработка комплексного аллергена из микобактериоподобных микроорганизмов, испытание в лабораторных и производственных условиях

Недостатком КАМ является низкая эффективность в случаях сенсибилизации животных микобактериоподобными микроорганизмами (коринебактериями, нокардиями и родококками). Учитывая это, мы решили расширить антигенную структуру КАМ сенситинами из коринебактерий, нокардий и родококков (*Mycobacterium scrofulaceum* № 12-С, *M. intracellulare* № 13-Н, *Nocardia asteroides* ВКМ Ас 1077, *Rhodococcus bronchialis* ИМВ Ас 737 и *Corinebacterium xerosis* № 1911). При изготовлении аллергена мы исходили из пороговой единицы белка коринебактерии, определенной нами, – 0,0003 мг, нокардии – 0,0005 мг и родококков – 0,0004 мг в 0,1 см².

Исследование проводили в политесте. Опытным морским свинкам на депилированный участок реберной поверхности вводили исследуемый аллерген с одной стороны и комплексный антиген с другой в дозе 0,1 мл (15 ед.). Оценку реакций проводили через 24 часа после введения.

Испытание проводили на 30 морских свинок (по 5 голов на каждый антиген), зараженных микобактериями (*scrofulaceum*, БЦЖ), коринебактериями (*xerosis*), нокардиями (*asteroidis*) и родококками (*bronchialis*). Данные представлены в таблице 18.

Как видно из таблицы 18, морские свинки, зараженные *C. xerosis*, *M. scrofulaceum*, *N. asteroides* и *R. bronchialis*, реагировали на опытный аллерген интенсивнее, чем на комплексный. В группе зараженных *M. БЦЖ* реакция на комплексный аллерген была незначительной.

Таким образом, у морских свинок, зараженных коринебактериями, атипичными микобактериями, нокардиями и родококками, исследуемый комплексный аллерген по чувствительности значительно превосходит КАМ.

Превосходство аллергена показали и результаты его испытания на 136 реагирующих на туберкулин животных, у которых симультанная проба с КАМ оставалась неопределенной.

2.9. Разработка универсальной среды для микобактериоподобных микроорганизмов

Для изолирования микобактериоподобных микроорганизмов в лабораторных условиях пользуются разными средами, в связи с чем возникла необходимость в конструировании единой питательной среды. Для решения этого вопроса нами были взяты за основу компоненты из наиболее часто используемых питательных сред для культивирования коринебактерий, нокардий и родококков на геотермальной воде (гидролизат кильки, углеводы, агар, минеральные соли).

Характер роста на универсальной среде (М-10) нокардий, родококков и коринебактерий представлен в таблице 19.

Как видно из таблицы 19, на универсальной среде обнаружили умеренный рост на первые сутки с тест-штаммами и с нативным материалом – до 12 колоний, на вторые сутки – до 23 колоний в чашках с нативным материалом на фоне хороших, ингибирующих постороннюю микрофлору, свойств.

Предлагаемая среда показала высокие дифференцирующие и ингибирующие свойства и по росту культур коринебактерий. Колонии появились на первые сутки в количестве от 4 до 12 в чашках с тест-штаммами и с нативным материалом. На вторые сутки

обнаружили обильный рост в обеих чашках – до 23 колоний без сопутствующей микрофлоры, что является показателем высокой ингибирующей активности. Рост отличался не только числом, но и характером и размером колоний.

Таблица 18

Интенсивность реакций у зараженных морских свинок на заявленный аллерген

№ п/п	Заражающая культура	Кол-во животных в опыте	Интенсивность реакций (мм ²) на			
			заявленный аллерген	M±m	комплексный аллерген	M±m
1	C. xerosis	1	125,10	114,36 ±3,60	102,19	88,76 ±4,03
		2	115,15		77,14	
		3	109,23		86,16	
		4	118,12		88,15	
		5	104,19		90,17	
2	M. scrofulaceum	1	102,13	103,57 ±5,83	98,15	92,75 ±3,66
		2	126,13		101,14	
		3	100,18		86,16	
		4	94,29		96,18	
		5	95,12		82,13	
3	M. БЦЖ	1	93,18	92,76 ±3,74	97,12	98,14 ±2,49
		2	87,17		99,11	
		3	82,18		103,19	
		4	98,13		89,16	
		5	103,15		102,14	
4	N. asteroides	1	108,15	108,56 ±4,34	88,17	88,97 ±4,46
		2	101,16		101,13	
		3	97,17		96,17	
		4	116,18		76,18	
		5	120,12		83,18	
5	R. bronchialis	1	100,16	100,16 ±3,77	88,16	91,95 ±4,01
		2	87,18		79,13	
		3	107,14		102,15	
		4	98,18		98,14	
		5	108,12		92,16	
6	Контроль	1	–	–	–	–
		2	–	–	–	–
		3	–	–	–	–
		4	–	–	–	–
		5	–	–	–	–

Таблица 19

Характеристика роста нокардий и родококков на питательных средах

Среды	Показатель прорастания колоний, ++++				Величина колоний (мм) через 48 часов
	24 часа		48 часов		
	Тест-штаммы	Нативный материал	Тест-штаммы	Нативный материал	
Среда Мюнца	+	–	+	+	0,8–1,2
УМ-агар	–	–	+	++++	1,3–1,5
Среда с овсяной мукой	+	–	++++	+	0,9–1,6
Декстрозный агар	–	–	–	+	1,3–1,7
Питательный бульон	+	++++	++++	++++	0,7–1,9
Универсальная среда	++	++	++	+++	1,5–1,8

Примечание: ++++ – сплошной рост, колонии не поддаются подсчету;
 +++ – обильный рост (от 13 до 23 колоний);
 ++ – умеренный рост (от 4 до 12 колоний);
 + – скудный рост (от 1 до 3 колоний);
 (–) – рост отсутствует.

Исследования показали, что универсальная среда обладает высокими дифференцирующими и ингибирующими свойствами. Колонии появлялись в первые сутки как с тест-штаммами, так и с эпизоотическими.

2.10. Сравнительная характеристика аллергенов в диагностике туберкулеза КРС

Диагностическую ценность симультанной пробы с ППД-туберкулином для млекопитающих и КАМ, с ППД-туберкулином для млекопитающих и ППД-туберкулином для птиц в благополучных по туберкулезу хозяйствах изучали на 1675 животных 15 хозяйств 8 районов во всех почвенно-климатических зонах.

Реакция на туберкулин у животных в благополучных хозяйствах проявлялась независимо от вертикальной зональности. Из общего числа исследованных количество реагирующих составило 17,4 %, в том числе: в горной зоне – 12,5 %, предгорной – 18,9 % и равнинной – 21,0 %.

В хозяйствах горной зоны, где сенсбилизация животных обусловлена в основном представителями IV группы атипичных микобактерий, симультанная проба с ППД-туберкулином для млекопитающих и КАМ намного превосходит по чувствительности и диагностической значимости пробу с ППД-туберкулином для млекопитающих и ППД-туберкулином для птиц.

В хозяйствах предгорной и равнинной зон, где преобладают представители комплекса *M. avium – intracellulare*, диагностическая ценность проб практически одинаковая.

2.11. Совершенствование мер борьбы с туберкулезом КРС с учетом зональных особенностей

В практике современного животноводства при дифференциации аллергических реакций на туберкулин возникает необходимость применения большого комплекса диагностических тестов, что связано с выявлением в стадах животных с парааллергическими реакциями на туберкулин. Частое выявление животных с неспецифическими реакциями на туберкулин сделало аллергическую пробу ориентировочной при первичной постановке диагноза. Вместе с тем массовый характер проявления неспецифических реакций у животных в ранее благополучных по туберкулезу хозяйствах приводит к значительному экономическому ущербу, связанному с неоправданным убоем и проведением комплекса профилактических и оздоровительных мероприятий.

В связи с возникшей ситуацией встала новая проблема по дифференциации специфических и неспецифических реакций. На сегодня предложено множество разнообразных схем комплексной диагностики туберкулеза у крупного рогатого скота из-за отсутствия единого метода, позволяющего реально установить или отклонить диагноз в каждом конкретном случае. Наши исследования показали, что для этих целей с успехом можно применять внутривенную и пальпебральную пробы с ППД-туберкулином для млекопитающих, предусмотренные «Наставлением по диагностике туберкулеза животных».

В настоящее время диагностика туберкулеза еще более усложнилась. Это обусловлено тем, что с 1991 года в агропромышленном комплексе страны происходят глубокие социально-экономические преобразования, связанные с переходом на рыночные отношения, разукрупнением совхозов и колхозов, образованием предприятий

разнообразных форм собственности. Так, в структуре поголовья крупного рогатого скота по России более 60 %, а по Республике Дагестан – 97 % скота приходится на индивидуальные хозяйства. Соответственно увеличилось количество животных в частном подворье. Нередки случаи, когда фермерскими хозяйствами и гражданами приобреталось поголовье из расформированных неблагополучных по туберкулезу ферм. При этом повысилась опасность возникновения новых мелких очагов болезни, что важно в эпизоотологическом и эпидемиологическом отношении. Такая ситуация закономерно привела к изменению стратегии и тактики борьбы с туберкулезом. Поскольку профилактика и меры борьбы с этой инфекцией основаны на диагностике, востребованными оказались методы, позволяющие вести индивидуальный учет и оценку результатов исследований.

При оценке результатов симультанной пробы с КАМом следует учитывать все реакции по каждой корове с критериями аллергических реакций: «+» (положительная), «-» (отрицательная), «=» (сомнительная). Исходя из этого, на наш взгляд, положительными следует считать реакции животных с большей интенсивностью на ППД-туберкулин для млекопитающих, отрицательными – с большей интенсивностью на КАМ, сомнительными – реагирующие одинаково на разные аллергены (с разницей не более 2 мм). Предлагаемая методика вписывается в рамки требований унифицированных методов диагностики туберкулеза в странах Европейского Союза.

Массовое выявление неспецифических реакции в благополучных хозяйствах обострило проблему этиологического фактора сенсбилизаций.

Атипичные микобактерии, рассматриваемые как основной объект сенсбилизации макроорганизма к туберкулину, выделяются в 48,9 % случаев от реагирующих и в 52,6 % случаев от не реагирующих на туберкулин животных. В этой связи изолирование атипичных микобактерий из организма реагирующих животных не дает гарантию рассматривать их как объект сенсбилизации. Кроме того, не все представители данной группы обладают одинаковыми сенсбилизующими свойствами, что ставит в зависимость диагностическую ценность симультантных проб с ППД-туберкулином для млекопитающих и КАМ, ППД-туберкулином для млекопитающих и ППД-туберкулином для птиц от видов

атипичных микобактерий. Так, по чувствительности и диагностической значимости проба с ППД-туберкулином для млекопитающих и КАМ намного превосходит в хозяйствах горной зоны, где сенсibilизация животных обусловлена в основном представителями IV группы атипичных микобактерий. В хозяйствах предгорной зоны, где изолируют представители III группы, значимость ППД-туберкулина для птиц и ППД-туберкулина для млекопитающих выше. В равнинной, где в основном изолируют представители *M. avium – intracellulareae*, диагностическая ценность аллергенов равнозначная.

Кроме того, установлено, что факторами неспецифической сенсibilизации к туберкулину являются также близкородственные к микобактериям таксоны *Corinebacterium*, *Nocardium*, *Rhodococcus*, которых следует дифференцировать, как имеющих широкую распространенность не только в объектах внешней среды, но и в организме животных. Так, коринебактерии выделены из биоматериала в 52,12 и 43,33 % случаев из объектов внешней среды, нокардий – 35,71 и 43,65 %, родококков – 64,28 и 56,34 % соответственно. Все они с микобактериями имеют общие физико-химические, физиологические, хемотоксономические и генетические свойства. Из них нами разработаны сенситины, изучены физико-химические свойства и в эксперименте определена возможность использования их для дифференциации аллергических реакций. Полученные результаты позволили нам разработать комплексную систему дифференциальной диагностики туберкулеза крупного рогатого скота. Установлено, что сконструированные моноаллергены из коринебактерий и нокардий позволяют аллергически диагностировать также и коринебактериоз и нокардиоз.

Кроме того, комплексные аллергены на основе КАМ и коринебактериозного сенситина, КАМ и сенситинов из нокардии и родококков, а также КАМ и сенситинов из коринебактерий, нокардий и родококков позволяют надежно дифференцировать аллергические реакции при первичной постановке диагноза в благополучных по туберкулезу хозяйствах. При использовании этого комплекса удастся выявить анергичных животных как в частном подворье, так и в крупных стадах, что способствует ускорению оздоровления хозяйств. Использование комплексного аллергена повышает эффективность симультанной пробы при дифференциации неспецифических реакций на туберкулин.

Природно-климатические условия Дагестана, прямо или косвенно влияющие на иммунологический статус животных, ставят реактивность организма животных на туберкулин в зависимость от сезонов года. Число реагирующих на туберкулин животных заметно возрастает в весенне-осенние месяцы, на которые приходится более 70,5 % реагирующих.

Исходя из изложенного, контрольно-диагностические исследования на туберкулин в хозяйствах горной и предгорной зон считаем целесообразным проводить один раз в год – осенью перед постановкой животных на стойло, в плоскостной – два раза, весной (март, апрель, май) и осенью (сентябрь, октябрь), затем осуществлять постоянный контроль осмотром туш убойных животных.

Среди методов диагностики особое место занимает бактериологическое исследование биоматериала животных, так как оно является самым достоверным. В этой связи нами было проведено сравнительное изучение наиболее часто используемых питательных сред для изолирования коринебактерий, где наилучшей оказалась среда Бучина, хотя качественная характеристика ее оставляет желать лучшего. Поэтому нами дистиллированная вода заменена геотермальной, как дополнительным источником минеральных солей. При сравнительном изучении данная среда значительно превосходила первоначальный вариант по высеваемости коринебактерий из биоматериала на 65–70 %, по скорости роста – на 1–2 дня и по накоплению биомассы.

Следует отметить, что отсутствие диагностических сред для идентификации микобактериоподобных микроорганизмов создает определенные трудности в работе. В этой связи нами сконструирована универсальная питательная среда (М-10) на основе кильки, парафина, крови и геотермальной воды, которая обладает хорошими ростовыми и ингибирующими свойствами.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования позволили установить периодичность в проявлении туберкулеза в республике с характерными природно-климатическими особенностями, зависимыми от вертикальной зональности, широкое распространение атипичных и микобактериоподобных микроорганизмов в природе, а также

перекрестную циркуляцию микобактерий в организме человека и животных. В этиологии неспецифических реакций важную роль играют коринебактерии, нокардии и родококки, что показывает высокая степень интенсивности перекрестных реакций.

Моноаллергены, а также комплексный аллерген из микобактериоподобных микроорганизмов имеют значительное превосходство по чувствительности и специфичности при дифференциации неспецифических реакций, вызванных гомологичными микроорганизмами.

Универсальная питательная среда (М-10) для углеводородокисляющих микроорганизмов на основе геотермальной воды и усовершенствованная среда Бучина для изолирования коринебактерий показали практическую значимость и диагностическую ценность на фоне высокой активности ингибирующих свойств, что позволяет существенно сократить время проведения лабораторных исследований.

ВЫВОДЫ

1. Туберкулез крупного рогатого скота в Республике Дагестан носит стационарный характер и имеет тенденцию к распространению, что связано с социально-экономическими преобразованиями и особенностями вертикальной зональности. Удельный вес неблагополучных пунктов составляет 8,4 %, заболевших животных – 17,3 %. Эпизоотологические показатели (на 100 тыс. голов) характеризуются: заболеваемостью – 57 голов, реагирующими в равнинной зоне – 21,0 %, предгорной – 18,9 % и горной – 12,5 %.
2. Эпизоотическими особенностями туберкулеза крупного рогатого скота в республике являются высокая инфицированность, сезонное проявление реагирующих на внутрикожную пробу животных (май – июнь и сентябрь – октябрь), широкое распространение атипичных микобактерий в природе, выделенных из биоматериала (62,16 %) и из объектов внешней среды (65,7 %); преобладание в горной зоне представителей IV группы (55,6 %), предгорной – III (66,3 %) и равнинной – III и IV (23,4 %).
3. Широкое распространение коринебактерий, нокардий и родококков в природе подтверждено выделением из биомате-

- риалов и объектов внешней среды: коринебактерий в 52,12 и 43,33 %; нокардий – 35,71 и 43,65 %; родококков – 64,28 и 56,34 % соответственно. При идентификации *C. xerosis* составляла 62 %, *C. bovis* – 24 %, *N. asteroides* – 68,9 %, *R. erhitropolis* – 45,2 % и *R. coprofilus* – 20,8 %.
4. В этиологии неспецифических реакций важную роль играют микобактериоподобные микроорганизмы – коринебактерии, нокардии и родококки. На коринебактериозный сенситин реагировало 80 % зараженных микобактериями животных со средней интенсивностью ($4,76 \pm 0,33$), на туберкулин – 93,3 % ($5,33 \pm 0,18$). Реагирующих на нокардин – 58,9 % со средней интенсивностью ($4,14 \pm 0,09$ мм), а на родококковый сенситин – 17,76 % ($3,84 \pm 0,08$ мм).
 5. Интенсивность кожной реакции зависит от содержания активного белка в сенситине. Оптимальные дозы, оттитрованные на морских свинках, составляют для *C. xerosis* – 0,0003 мг в 0,1 мл раствора, *N. asteroides* – 0,0005 мг и *R. bronchialis* – 0,0004 мг.
 6. Сенситин из коринебактерий для диагностики коринебактериозных инфекций является более специфическим и чувствительным, что позволяет предотвратить неоправданный убой животных и излишние расходы.
 7. Аллерген из атипичных микобактерий КАМ (*M. scrofulaceum* № 12-С и *M. intracellulare* № 13-Н) и коринебактериозного сенситина (*C. xerosis* № 1911) в лабораторных и практических условиях показал высокую специфичность при дифференциации неспецифических реакций на туберкулин.
 8. Расширенная сенситинами из нокардий и родококков антигенная структура КАМ оказалась стерильной, безвредной, специфической и активной.
 9. Комплексный аллерген из атипичных микобактерий и микобактериоподобных микроорганизмов, состоящий из КАМ (*M. scrofulaceum* № 12-С, *M. intracellulare* № 13-Н), нокардий (*N. asteroides* ВКМ Ас 1077), родококков (*R. bronchialis* ИМВ Ас) и коринебактериозного сенситина (*C. xerosis* № 1911), показал значительное превосходство по чувствительности, что позволяет повысить эффективность симультанной пробы при дифференциации неспецифических реакций на туберкулин.

10. Универсальная питательная среда (М-10) для углеводородокисляющих микроорганизмов (коринебактерий, нокардий и родококков) на основе гидролизата кильки, углеводов, агара, минеральных солей и геотермальной воды и усовершенствованная среда Бучина (с геотермальной водой) обладают хорошими ростовыми свойствами на фоне высокой активности ингибирующих свойств и массивностью колоний.
11. Экономическая эффективность от наших разработок составляет 3 рубля 44 копейки на каждый затраченный рубль.

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. Рекомендация по диагностике и профилактике туберкулеза КРС утверждены ученым советом ФГБНУ «Прикаспийский ЗНИВИ» (протокол № 6 от 21.05.2002) НТС комитета правительства РД по ветеринарии (протокол № 4 от 24.06.2002).
2. Мероприятия по оздоровлению хозяйств от туберкулеза утверждены методическим советом ФГБОУ ВО «Дагестанский государственный аграрный университет им. М. М. Джамбулатова» (протокол № 4 от 23.12.09), ученым советом ФГБНУ «ПЗНИВИ» (протокол № 1 от 10.12.09) и НТС МСХ РД (протокол № 3 от 24.12.09).
3. Рекомендация по профилактике и мерам борьбы с туберкулезом КРС в Дагестане утверждены ученым советом ФГБНУ «Прикаспийский ЗНИВИ» (протокол № 2 от 04.02.09), методическим советом ФГБОУ ВО «Дагестанский государственный аграрный университет им. М. М. Джамбулатова» (протокол № 7 от 25.03.09) и НТС МСХ РД (протокол № 2 от 28.03.09).
4. Дифференциальную диагностику аллергических реакций в благополучных по туберкулезу хозяйствах проводить с использованием гомологичных моно- и комплексных сенситинов из микроорганизмов, близкородственных к микобактериям.
5. Изоляцию микобактериоподобных микроорганизмов проводить на универсальной среде (М-10), а коринебактерий – на усовершенствованной среде Бучина.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ

Основным методом диагностики туберкулеза в настоящее время является внутрикожная туберкулиновая проба. Однако частое проявление реакции на туберкулин у животных, sensibilizированных атипичными и сапрофитными, а также микобактериоподобными микроорганизмами, делает результаты этой пробы ориентировочными. Проявление неспецифических реакций в благополучных хозяйствах в РД отмечается независимо от вертикальной зональности, вызывая определенные трудности в успешной реализации комплекса мероприятий по профилактике и ликвидации туберкулеза, в связи с чем возникает настоятельная необходимость применения целого комплекса методов для их дифференциации.

Следует отметить малую эффективность симультанной пробы с КАМ при дифференциации неспецифических реакций, кроме того, его невозможно применить на ограниченном поголовье.

В этой связи актуально изыскание наиболее действенных методов и схем для дифференциации неспецифических реакций на туберкулин как в общественном, так и в частном секторе, что, в конечном итоге, позволит значительно сократить неоправданный убой здоровых животных и снизить размеры экономического ущерба. В связи с чем создание и введение в широкую практику моноспецифических сенситинов из близкородственных к микобактериям микроорганизмов и создание на их основе комплексных аллергенов для дифференциации неспецифических реакций на туберкулин открывают перспективу решения одной из важных проблем в туберкулезе – диагностики.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Публикации в научных журналах, рецензируемых ВАК

1. Баратов, М. О. К вопросу о детальной классификации коринебактерий [Текст] / М. О. Баратов, О. П. Сакидибиров, М. М. Ахмедов, Н. А. Алиев // Проблемы развития АПК региона. – 2010. – № 4. – С. 72–76.
2. Баратов, М. О. Сенсибилизирующие свойства коринебактерий к туберкулину [Текст] / М. О. Баратов, М. М. Ахмедов, О. П. Сакидибиров, Д. А. Девришов // Ветеринарная медицина. – 2011. – № 1. – С. 31–33.
3. Баратов, М. О. К выяснению причин неспецифических реакции на туберкулин [Текст] / М. О. Баратов, М. М. Ахмедов, О. П. Сакидибиров // Ветеринарный врач. – 2014. – № 2. – С. 24–27.
4. Баратов, М. О. Питательная среда для культивирования коринебактерий [Текст] / М. О. Баратов, М. М. Ахмедов, О. П. Сакидибиров // Ветеринарный врач. – 2014. – № 5. – С. 44–48.
5. Баратов, М. О. Динамика аллергических реакций на туберкулин у зараженных коринебактериями животных [Текст] / М. О. Баратов, М. М. Ахмедов, О. П. Сакидибиров // Ветеринарный врач. – 2015. – № 2. – С. 25–28.
6. Баратов, М. О. Сравнительная характеристика диагностической ценности симульгантных проб [Текст] / М. О. Баратов, М. М. Ахмедов, О. П. Сакидибиров, Э. А. Вердиева // Проблемы развития АПК региона. – 2015. – № 1(21). – С. 38–41.
7. Баратов, М. О. Комплексный аллерген из микобактериоподобных микроорганизмов [Текст] / М. О. Баратов, М. М. Ахмедов, О. П. Сакидибиров // Ветеринарный врач. – 2015. – № 6. – С. 22–26.
8. Баратов, М. О. Туберкулез КРС в Дагестане – проблемы и суждения [Текст] / М. О. Баратов, М. М. Ахмедов, О. П. Сакидибиров, У. Ю. Ахмедова // Проблемы развития АПК региона. – 2016. – № 1(25). – Ч. 2. – С. 73–76.
9. Баратов, М. О. Универсальная среда для микобактериоподобных микроорганизмов [Текст] / М. О. Баратов, А. Найманов, М. И. Нажалов, Э. А. Вердиева // Ветеринарный врач. – 2016. – № 3. – С. 32–37.
10. Джамбулатов, З. М. Коринебактериозный сенситин: получение, стандартизация, производственное испытание [Текст] / З. М. Джамбулатов, М. О. Баратов, М. М. Ахмедов, О. П. Сакидибиров // Проблемы развития АПК региона. – 2016. – № 4 (28). – С. 32–38.
11. Баратов, М. О. Распространение и видовой состав нокардий и родококков [Текст] / Баратов М. О. // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета (Научный журнал КубГАУ) [Электронный ресурс]. – Краснодар : КубГАУ, 2016. – № 10 (124). – Режим доступа: <http://ej.kubagro.ru/2016/10/pdf/81.pdf>, 0,625 у.п.л. – IDA [article ID]: 1241610081. <http://dx.doi.org/10.21515/1990-4665-124-08>.

*Материалы, опубликованные в других научных журналах
и сборниках конференций*

12. Баратов, М. О. Некоторые природно-климатические аспекты туберкулеза животных в условиях Дагестана [Текст] / Р. А. Нуратинов, М. О. Баратов // Матер. конф., посвящ. 75-летию научной деятельности Вологодской научно-исслед. вет. станции «Научное обеспечение ветеринарного обслуживания животноводства в условиях реформирования сельскохозяйственного производства». – Вологда, 2007. – С. 20–23.
13. Баратов, М. О. Влияние природно-географических условий Дагестана на интенсивность эпизоотического процесса по туберкулезу [Текст] / М. О. Баратов, М. М. Ахмедов // Матер. рег. науч.-практ. конф. студентов, аспирантов и молодых ученых ЮФО, посвящ. 75-летию ФГОУ ВПО «ДагГАУ» «Молодые ученые – вклад в реализацию национального проекта «Развитие АПК». – Махачкала, 2007. – С. 213–214.
14. Баратов, М. О. Сезонная динамика туберкулеза КРС в РД [Текст] / М. О. Баратов, М. М. Ахмедов // Матер. Всерос. науч.-практ. конф., посвящ. 75-летию ДагГАУ «Образование, наука, инновационный бизнес сельскохозяйственных регионов». – Махачкала, 2007. – С. 215–216.
15. Баратов, М. О. Эпизоотические особенности туберкулеза крупного рогатого скота в РД [Текст] / М. О. Баратов, М. М. Ахмедов, О. П. Сакидибиров // Матер. Всерос. науч.-практ. конф., посвящ. 75-летию ДагГАУ «Образование, наука, инновационный бизнес сельскохозяйственных регионов». – Махачкала, 2007. – С. 88–92.
16. Баратов, М. О. Диагностика туберкулеза в условиях реформирования сельскохозяйственного производства [Текст] / М. О. Баратов, М. М. Ахмедов, О. П. Сакидибиров // Матер. юбилейной конф., посвящ. 40-летию со дня создания ГНУ ПЗНИВИ «Основные проблемы ветеринарной медицины и стратегия борьбы с заболеваниями сельскохозяйственных животных в современных условиях». – Махачкала, 2007. – С. 126–128.
17. Баратов, М. О. Зависимость интенсивности эпизоотического процесса туберкулеза от природно-географических условий региона [Текст] / М. О. Баратов, М. М. Ахмедов, О. П. Сакидибиров // Матер. юбилейной конф., посвящ. 40-летию со дня создания ГНУ ПЗНИВИ «Основные проблемы ветеринарной медицины и стратегия борьбы с заболеваниями сельскохозяйственных животных в современных условиях». – Махачкала, 2007. – С. 129–132.
18. Баратов, М. О. Циркуляция коринебактерии в объектах внешней среды в условиях Дагестана [Текст] / М. О. Баратов, М. М. Ахмедов, О. П. Сакидибиров // Матер. науч.-практ. конф., посвящ. 70-летию факультета вет. медицины «Достижения ветеринарной науки и практики – сельскохозяйственному производству». – Махачкала, 2008. – С. 107–109.

19. Баратов, М. О. Дифференцирующие культурально-морфологические признаки коринебактерий [Текст] / М. О. Баратов, М. М. Ахмедов, О. П. Сакидибиров // Матер. Всерос. науч.-практ. конф. «Повышение продуктивности сельскохозяйственных животных и птицы на основе инновационных достижений». – Новочеркасск, 2009. – С.17–20.
20. Баратов, М. О. Сравнительное изучение наиболее часто используемых питательных сред для выделения коринебактерий [Текст] / М. О. Баратов, М. М. Ахмедов, О. П. Сакидибиров // Матер. Всерос. науч.-практ. конф. «Повышение продуктивности сельскохозяйственных животных и птицы на основе инновационных достижений». – Новочеркасск, 2009. – С. 20–22.
21. Баратов, М. О. Сравнительное изучение различных методов лечения болезней сосков вымени [Текст] / М. О. Баратов, М. М. Ахмедов, О. П. Сакидибиров // Ветеринарная патология. – 2010. – № 2. – С. 47–51.
22. Баратов, М. О. Краткий экскурс в систематику коринебактерий [Текст] / М. О. Баратов, М. М. Ахмедов, О. П. Сакидибиров // Матер. Междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 65-летию победы в ВОВ «Современные проблемы и перспективы развития аграрной науки». – Махачкала, 2010. – С. 322–324.
23. Баратов, М. О. Место коринебактерий в микробной экосистеме в условиях Дагестана [Текст] / М. О. Баратов, М. М. Ахмедов, О. П. Сакидибиров // Матер. Междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 65-летию Победы в ВОВ «Современные проблемы и перспективы развития аграрной науки». – Махачкала, 2010. – С. 324–326.
24. Баратов, М. О. Народно-хозяйственное значение коринебактерий [Текст] / М. О. Баратов, О. П. Сакидибиров, М. М. Ахмедов, Д. А. Девришов // Матер. Междунар. науч.-практ. конф. «Современные проблемы, перспективы и инновационные тенденции развития аграрной науки». – Махачкала, 2010. – С. 76–77.
25. Баратов, М. О. Эволюционная приспособленность коринебактерий к макроорганизму [Текст] / М. О. Баратов, О. П. Сакидибиров, М. М. Ахмедов, Д. А. Девришов // Матер. Междунар. науч.-практ. конф. «Современные проблемы, перспективы и инновационные тенденции развития аграрной науки». – Махачкала, 2010. – С. 77–80.
26. Баратов, М. О. Ферментативные свойства коринебактерий [Текст] / М. О. Баратов, О. П. Сакидибиров // Матер. IV Междунар. науч.-практ. конф. «Молодые ученые в решении актуальных проблем науки»: сб. работ. – Владикавказ, 2013. – Ч. 1. – С. 277–279.
27. Баратов, М. О. Биосфера коринебактерий [Текст] / М. О. Баратов, М. М. Ахмедов, О. П. Сакидибиров // Матер. Междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 75-летию факультета вет. медицины «Современные проблемы и перспективы развития ветеринарной науки». – Махачкала, 2014. – С. 69–71.

28. Баратов, М. О. Характерные особенности роста коринебактерий [Текст] / М. О. Баратов, М. М. Ахмедов, О. П. Сакидибиров // Матер. Междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 75-летию факультета вет. медицины «Современные проблемы и перспективы развития ветеринарной науки». – Махачкала, 2014. – С. 72–73.

Патенты Российской Федерации на изобретение

29. Патент 2409387 Российская Федерация, А61К 39/35, С07 4/04, С 12R 1/32. Комплексный аллерген для дифференциации аллергических реакций на ППД-туберкулин для млекопитающих [Текст] / Баратов М. О., Ахмедов М. М., Кабардиев С. Ш., Алиев А. Д. ; заявитель и патентообладатель Государственное научное учреждение Прикаспийский зональный научно-исследовательский ветеринарный институт. – № 2009104660/10 ; заявл. 11.02.2009 ; опубл. 20.01.2011, Бюл. № 2.
30. Патент 2592372 Российская Федерация, G01N 33/49. Способ диагностики коринебактериоза и ассоциативных с коринебактериями инфекций у животных [Текст] / Баратов М. О., Найманов А. Х. ; заявитель и патентообладатель Государственное научное учреждение Прикаспийский зональный научно-исследовательский ветеринарный институт. – № 2015106091/15 ; заявл. 20.02.2015 ; опубл. 20.07.2016, Бюл. № 20.
31. Патент 2588670 Российская Федерация, С12N 1/20, С12R 1/15. Питательная среда для культивирования коринебактерий [Текст] / Баратов М. О., Ахмедов М. М. ; заявитель и патентообладатель Государственное научное учреждение Прикаспийский зональный научно-исследовательский ветеринарный институт. – № 2014120590/10 ; заявл. 21.05.2014 ; опубл. 10.07.2016, Бюл. № 19.

Методические рекомендации

32. Баратов, М. О. Диагностика, профилактика и меры борьбы с туберкулезом крупного рогатого скота в Дагестане [Текст] : метод. рекомендации / М. О. Баратов, М. М. Ахмедов, З. М. Джамбулатов. – Махачкала, 2009.
33. Баратов, М. О. Мероприятия по оздоровлению хозяйств от туберкулеза [Текст] : метод. рекомендации / М. О. Баратов, М. М. Ахмедов, З. М. Джамбулатов, О. П. Сакидибиров. – Махачкала, 2009.
34. Баратов, М. О. Коринебактерии (Общая характеристика, идентификация, методы выделения и генетические свойства) [Текст] : метод. рекомендации / М. О. Баратов, М. М. Ахмедов, С. Ш. Кабардиев, О. П. Сакидибиров. – Махачкала, 2010.

Монография

35. Баратов, М. О. Коринебактерии [Текст] : монография / М. О. Баратов, М. М. Ахмедов, З. М. Джамбулатов, О. П. Сакидибиров, Н. А. Алиев. – Махачкала, 2011. – С. 95.

Подписано в печать 24.04.2017. Формат 60x84 $\frac{1}{16}$.
Гарнитура «Таймс». Бумага офсетная. Печать офсетная.
Усл. печ. л. 2,0. Тираж 130. Заказ № 183.

Отпечатано в типографии издательско-полиграфического комплекса СтГАУ
«АГРУС», г. Ставрополь, ул. Пушкина, 15.

