

ЭТИОЛОГИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ МИКОБАКТЕРИОЗОВ СВИНЕЙ
В НОВОСИБИРСКОЙ ОБЛАСТИ

ETIOLOGY OF MYCOBACTERIOSIS IN PIGS IN THE NOVOSIBIRSK REGION

Ключевые слова: микобактериоз свиней, атипичные микобактерии, биоматериал, культуральные и биохимические свойства, индикация, идентификация, биопроба, внешняя среда.

Сдерживающий фактор успешного развития свиноводства – распространение инфекционных болезней, одним из которых является микобактериоз. Микобактериоз, обусловленный заражением свиней атипичными микобактериями в их видовом многообразии, при ветеринарно-санитарной экспертизе туш свиней практически не отличим от туберкулеза, что вносит неясность в истинную эпизоотическую ситуацию. Комплексному бактериологическому исследованию подвергнут биоматериал от убитых на мясоперерабатывающих предприятиях реагирующих на ППД-туберкулины для млекопитающих и для птиц, свиней, кур подсобных хозяйств работников свиноферм, синантропных птиц, отстрелянных на территории хозяйств, и проб внешней среды, всего 1207 проб. При исследовании биоматериала от реагирующих на туберкулины свиней изолированы 58 культур кислотоустойчивых микобактерий, или 7,5% от количества исследованных проб. Частота изоляции культур из биоматериала от кур составила 12,5%, от синантропных птиц – 7,5, из проб объектов внешней среды – 9,4%. По результатам изучения культуральных, морфологических и биохимических свойств в организме свиней, реагирующих на ППД-туберкулины для млекопитающих и для птиц, и внешней среде благополучных по туберкулезу свиноводческих хозяйств Новосибирской области персистируют 6 самостоятельных видов атипичных микобактерий 2-4-й групп классификации по Раньону, включая *M. xenopi*, *M. avium-intracellulare*, *M. fortuitum*, *M. smegmatis*, *M. phlei* и *M. scrofulaceum*. Наибольшее количество полевых изолятов как из биоматериала от свиней, так и проб внешней среды представлено микобактериями комплекса *avium-intracellulare*, что свидетельствует об их широком распространении. Из проб различных объектов внешней среды, как основных источников распространения микобактериозов у свиней, изолированы и идентифицированы 28 культур различных видов атипич-

ных микобактерий также с преваляцией культур комплекса *avium-intracellulare*.

Keywords: *mycobacteriosis in pigs, atypical mycobacteria, biologic material, cultural and biochemical properties, indication, identification, biological sample, external environment.*

The spread of infectious diseases, including mycobacteriosis, hinders the successful development of pig husbandry. Mycobacteriosis resulting from infestation of pigs with atypical mycobacteria in their species diversity does not practically differ from tuberculosis at veterinary examination, and that makes the epizootic situation unclear. We carried out a comprehensive bacteriological examination of biomaterial taken from avian and mammalian tuberculin PPD-reacting pigs slaughtered at meat-processing enterprises, from hens raised at small holdings of pig-farm workers, from synanthropic birds killed at the territory of farms as well as samples from the external environment, altogether 1207 samples. When examining biologic material from tuberculin-reacting pigs, we have isolated 58 cultures of acid-fast mycobacteria, or 7.5 percent of the samples studied. The rate of cultures isolation from hen biomaterial amounted to 12.5 percent, from synanthropic birds – 7.5 percent, from environmental samples – 9.4 percent. Resulting from cultural, biochemical and morphological studies, 6 species of atypical mycobacteria were found to persist in the organism of pigs, reacting to avian and mammalian PPD complexes, and in the environment of tuberculosis-free pig-producing farms in the Novosibirsk Region. These mycobacteria species belong to 2-4 groups according to the Runyon classification, and include *M. xenopi*, *M. avium-intracellulare*, *M. fortuitum*, *M. smegmatis*, *M. phlei*, and *M. scrofulaceum*. Most of field isolates from both pig biologic material and the environment are represented by *M. avium-intracellulare* complex that indicates their wide distribution. From the samples of various environmental objects, being main sources of mycobacterioses in pigs, 28 cultures of different species of atypical mycobacteria were isolated and identified with *M. avium-intracellulare* complex prevailing.

Донченко Николай Александрович, д.в.н., руководитель, Институт экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока, Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий РАН, Новосибирская обл. E-mail: Tbc2009@yandex.ru.

Donchenko Nikolay Aleksandrovich, Dr. Vet. Sci., Head, Institute of Experimental Veterinary Medicine of Siberia and Far East, Siberian Federal Scientific Center of Agrobiotechnologies, Rus. Acad. of Sci., Novosibirsk Region. E-mail: Tbc2009@yandex.ru.

Смолянинов Юрий Иванович, д.в.н., проф., гл. н.с., Институт экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока, Сибирский федеральный научный центр агrobiотехнологий РАН, Новосибирская обл. E-mail: uismol@yandex.ru.

Волков Дмитрий Владимирович, м.н.с., Институт экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока, Сибирский федеральный научный центр агrobiотехнологий РАН, Новосибирская обл. E-mail: dvvolkov1978@yandex.ru.

Smolyaninov Yuriy Ivanovich, Dr. Vet. Sci., Prof., Chief Staff Scientist, Institute of Experimental Veterinary Medicine of Siberia and Far East, Siberian Federal Scientific Center of Agrobiotechnologies, Rus. Acad. of Sci., Novosibirsk Region. E-mail: uismol@yandex.ru.

Volkov Dmitriy Vladimirovich, Junior Staff Scientist, Institute of Experimental Veterinary Medicine of Siberia and Far East, Siberian Federal Scientific Center of Agrobiotechnologies, Rus. Acad. of Sci., Novosibirsk Region. E-mail: dvvolkov1978@yandex.ru.

Введение

Сдерживающим фактором успешного развития свиноводства являются многочисленные инфекционные болезни свиней. Несмотря на то, что туберкулез свиней в России почти не регистрируется, актуальной остается проблема микобактериозов, распространенных повсеместно. Микобактериоз, обусловленный заражением свиней атипичными микобактериями, при патологоанатомическом исследовании паренхиматозных органов и лимфатических узлов практически не отличим от туберкулеза, что вносит неясность в истинную эпизоотическую ситуацию.

Цель работы – индикация микобактерий из биоматериала от свиней, реагирующих на ППД-туберкулины для млекопитающих и для птиц, а также объектов внешней среды, изучение их тинкториальных, культуральных, биохимических свойств и видового состава.

Материал и методы исследований

Комплексному бактериологическому исследованию подвергнут биоматериал от убитых на мясоперерабатывающих предприятиях реагирующих на ППД-туберкулины для млекопитающих и для птиц, свиней, кур подсобных хозяйств работников свиноферм, синантропных птиц (голуби, воробьи), отстрелянных на территории хозяйств, и проб внешней среды, всего 1207 проб.

Биоматериал обрабатывали по методу Гона-Левенштейна-Сумиоши и культивировали на плотной питательной среде Левенштейна-Йенсена при температуре 37°C. Кислотоустойчивость микобактерий определяли в мазках при окраске по Цилю-Нильсену [1, 2].

Культуральные свойства изолированных из биоматериала от свиней и проб объектов внешней среды определяли у 95 культур микобакте-

рий. Бактериальную взвесь готовили из расчета 1 мг бактериальной массы в 1 мл физиологического раствора по стандарту мутности штамма микобактерий BCG.

Групповую классификацию микобактерий проводили по методу Раньона [3]. Классификация основана на способности образовывать пигмент при культивировании отдельными видами микобактерий [4], скорости роста [5] и росте при различных температурах (22, 37, 45 и 52°C).

Биохимические свойства определяли по комплексу дифференциально-диагностических тестов, позволяющих установить видовую принадлежность изолированных культур микобактерий [6-9].

Результаты исследований

При исследовании биоматериала от реагирующих на туберкулины свиней изолированы 58 культур кислотоустойчивых микобактерий, или 7,5% от количества исследованных проб (табл. 1). Частота изоляции культур из биоматериала от кур составила 12,5%, от синантропных птиц – 7,5, из проб объектов внешней среды – 9,4%.

По объектам внешней среды чаще культуры микобактерий изолировали из проб навозных желобов (18,7%), опилок, используемых в качестве подстилки (15,4%), и комбикорма (13,3%). В целом из биоматериала от свиней, птиц и проб внешней среды изолированы 106 культур микобактерий.

Культуральные свойства. Скотохромогенность (образование пигмента на свету) установлена у 37, или у 38,9%, изолированных культур микобактерий. Цвет колоний варьировал от желтого до желто-оранжевого. Нефотокромогенные (не образующие пигмент на свету), относящиеся к 3-й группе классификации по Раньону, составили 58 культур (61,1%).

Таблица 1

Частота изоляции микобактерий из биоматериала от свиней, птиц и проб внешней среды свиноводческих хозяйств Новосибирской области

Объект бактериологического исследования	Исследовано, проб	Изолировано культур	
		количество	%
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
в том числе:			
– 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

По скорости роста 29 культур (30,5%) были отнесены к быстрорастущим, появление колоний у которых установлено в период до 7 сут. культивирования. Остальные 66 культур отнесены к медленнорастущим (рост позднее 7 сут.). Некоторые культуры, обладающие медленным ростом (до 7 сут.), классифицировались как нефотохромогенные (непигментные) и отнесены к 3-й группе по классификации Раньона.

Из 95 культур микобактерий 91 (95,8%) дали выраженный рост колоний при температуре 37°C. 25 культур (26,3%) показали рост при температуре 25°C, причем все они росли и при 37°C. При температуре 45°C рост зарегистрирован у 27 (28,4%) культур, которые росли также при температуре 37°C. Одна быстрорастущая культура росла как при температуре 37, так и 52°C, однако не проявляла ростовых свойств при температуре 25°C. Эта особенность позволила сразу классифицировать ее как *M. phlei*.

Биохимические свойства. При исследовании 95 изолированных культур микобактерий все они дали рост колоний на среде Левенштейна-Йенсена в реакции с салицилатом натрия и четко

классифицировались как атипичные (табл. 2). В реакции активности каталазы 37 культур микобактерий (39%) дифференцированы как *M. avium-intracellulare*. В реакции термостабильности каталазы все культуры показали отрицательный результат.

В реакции гидролиза Твин-80 8 культур дифференцированы как *M. scrofulaceum* и 37 – как комплекса *M. avium-intracellulare*. Всего в данном тесте идентифицировано 45 культур микобактерий.

В реакции осаждения лимонно-аммиачного железа три полевые культуры дифференцированы как *M. phlei* (4-я группа по Раньону), у которых при культивировании проявилось окрашивание в коричневый цвет. При этом 2 культуры были изолированы из биоматериала от свиней и 1 – от голубя.

Реакция толерантности к хлориду натрия показала полное ингибирование роста у 66 культур микобактерий на среде Левенштейна-Йенсена, что позволило дополнительно отнести их к медленнорастущим. У 29 культур наблюдали рост при добавлении в среду хлорида натрия (быстрорастущие).

По формамидазной активности положительную реакцию проявили 26 культур микобактерий 4-й группы по Раньону, включая виды *M. smegmatis* (15 культур), *M. phlei* (3 культуры) и *M. scrofulaceum* (8 культур), изолированных как из биоматериала от свиней и птиц, так и проб внешней среды.

В диагностическом тесте редукции теллурита калия 69 культур дополнительно были отнесены к 3- и 4-й группам по Раньону и 3 – ко 2-й группе.

По результатам культурально-морфологических и биохимических свойств идентифицированы 6 самостоятельных видов атипичных микобактерий, персистирующих в организме свиней и внешней среде свиноводческих хозяйств: *M. xenopi*, *M. avium-intracellulare*, *M. fortuitum*, *M. smegmatis*, *M. phlei* и *M. scrofulaceum* (табл. 3).

Заключение

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

Результаты комплексных бактериологических исследований, а также 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 свиноводческих хозяйств Новосибирской области. При идентификации культуры микобактерий отнесены к 6 видам 2-, 3- и 4-й групп по классификации Раньона.

Таблица 2

Биохимические свойства изолированных культур атипичных микобактерий

Диагностический тест	Метод (автор теста)	Положительная реакция, культур	
		кол-во	%
Рост на среде с салициловым натрием	Tsukamura M.	95	100,0
Активность каталазы	Wayne L.	37	38,9
Термостабильность каталазы	Cubica J., Pool G.	–	–
Гидролиз твин-80	Wayne L.	45	47,4
Осаждение лимонно-амиачного железа	Szabo I., Vandra E.	3	4,6
Формамидазная активность	Nagayama H. et al.	26	27,4
Редукция теллурита калия	Kilburn J. et al.	69	95,8
Толерантность к хлориду натрия	Kestle D. et al.	66	69,5

Таблица 3

Видовой состав атипичных микобактерий, изолированных из биоматериала от свиней и проб 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	–	44	11	17	72
Не идентифицированы	2-4	14	7	2	23
Итого		58	18	19	95

Библиографический список

1. Наставление по диагностике туберкулёза животных. Утв. Департаментом ветеринарии МСХ РФ. – М., 2002. – 63 с.
2. ГОСТ 26072-89 (СТ СЭВ 3457-81). Животные и птица сельскохозяйственные. – М., 1989.
3. Runyon, E. Anonymous mycobacteria in pulmonary diseases // Med. Clin. North Am. – 1959. – Vol. 43 (1). – P. 273-290.
4. Kubica G.P., et al. Numerical Taxonomy of Selected Slowly Growing Mycobacteria // J. Gen. Microbiol. – 1973. – Vol. 74 (1). – P. 159-167.
5. Kappler W. Klassifizierung und Identifizierung von langsam Wachsenden atypischen Mykobakterien // Z. Tuberk. – 1968. – 127:31-35.
6. Зыков М.П., Ильина Т.Б. Потенциально-патогенные микобактерии и лабораторная диагностика микобактериозов. – М., 1978. – 161 с.
7. Кадочкин АМ. Дифференциация и индентификация микобактерий // Ветеринария. – 1984. – № 9. – С. 62-64.
8. Макаревич Н.М., Дорожкова И.Р. Пути совершенствования современных методов лабораторной диагностики туберкулеза // Бюл.: ВИЭВ. – 1983. – Вып. 51. – С. 24-28.
9. Гулюкин М.И., Найманов А.Х., Овдиенко Н.П. и др. Методические наставления по проведению исследований при микобактериозах животных // ВИЭВ. – М., 2012. – 85 с.

References

1. Nastavlenie po diagnostike tuberkuleza zhivotnykh. Utv. Departamentom veterinarii MSKh RF. – M., 2002. – 63 s.
2. GOST 26072-89 (ST SEV 3457-81). Zhivotnye i ptitsa selskokhozyaystvennye. – M., 1989.
3. Runyon, E. Anonymous mycobacteria in pulmonary diseases // Med. Clin. North Am. – 1959. – Vol. 43 (1). – P. 273-290.
4. Kubica G.P., et al. Numerical Taxonomy of Selected Slowly Growing Mycobacteria // J. Gen. Microbiol. – 1973. – Vol. 74 (1). – P. 159-167.
5. Kappler W. Klassifizierung und Identifizierung von langsam Wachsenden atypischen Mykobakterien // Z. Tuberk. – 1968. – 127:31-35.
6. Zykov M.P., Ilina T.B. Potentsialno-patogennye mikobakterii i laboratornaya diagnostika mikobakteriozov. – M., 1978. – 161 s.
7. Kadochkin A.M. Differentatsiya i indentifikatsiya mikobakteriy // Veterinariya. – 1984. – № 9. – S. 62-64.
8. Makarevich N.M., Dorozhkova I.R. Puti sovershenstvovaniya sovremennykh metodov laboratornoy diagnostiki tuberkuleza // Byul. VIEV. – 1983. – Vyp. 51. – S. 24-28.
9. Gulyukin, M.I., Naymanov A.Kh., Ovdienko N.P. i dr. Metodicheskie nastavleniya po provedeniyu issledovaniy pri mikobakteriozakh zhivotnykh // VIEV. – M., 2012. – 85 s.



УДК 576.852.24

Т.Н. Орлова, А.Н. Иркитова, А.В. Гребенщикова
T.N. Orlova, A.N. Irkitova, A.V. Grebenshchikova

ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ ДЕКСТРАНАЛЯ-40 В ПРОМЫШЛЕННОЙ МИКРОБИОЛОГИИ

THE PROSPECTS OF DEXTRANAL-40 APPLICATION IN INDUSTRIAL MICROBIOLOGY

Ключевые слова: декстраналь, численность бактерий, *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus subtilis*.

Декстраналь – природный полисахарид, который продуцируют некоторые бактерии, например, *Leucopos-toc mesenteroides* и *L. dextranicum*. В промышленных масштабах декстраналь получают в результате модифи-

цирования декстрана химическими или физическими способами. Одним из самых современных и перспективных направлений применения декстраналя является его использование в промышленной микробиологии в качестве компонента питательных и защитных сред. Представлены результаты исследования, в котором декстраналь-40 добавляли в питательную среду для культивиро-