

УДК 619:616-078:637.12.05-619:616.5-002.525

<https://doi.org/10.47612/2224-168X-2022-1-11-21>

Лысенко А.П., доктор ветеринарных наук, профессор¹
Высоцкий А.Э., кандидат ветеринарных наук, доцент¹
Притыченко А.Н., кандидат ветеринарных наук, доцент¹
Кучвальский М.В., аспирант²
Якобсон Е.И., магистрант²
Красникова Е.Л., научный сотрудник¹

¹РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», г. Минск

²Белорусский государственный университет, г. Минск

ЛАТЕНТНАЯ ТУБЕРКУЛЕЗНАЯ ИНФЕКЦИЯ У КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Резюме

В молоке коров из условно благополучных по туберкулезу стад, не реагировавших и давших неопределенную реакцию на туберкулин, в 53,3 % и 66,7 % случаев обнаружен геном микобактерий туберкулеза (МБТ), в 40,7 % и 57,1 % – специфические антитела, в 25 % и 22,2 % проб – антигены МБТ, а из 92,3 % и 66,7 % исследованных проб молока, прогретых при температуре 98 °С, были выделены некислотоустойчивые формы МБТ. С учетом отсутствия признаков активного заболевания это свидетельствовало о латентной туберкулезной инфекции у части коров, не реагировавших на туберкулин, как и о том, что туберкулиновая проба не отражает реальной ситуации в стаде. Для элиминации туберкулезной инфекции необходимо использовать альтернативные тесты по определению прямых и косвенных маркеров туберкулезной инфекции, а также разработать новую систему противотуберкулезных мероприятий, учитывающих высокую вероятность передачи измененных форм МБТ трансплацентарно и с молоком.

Ключевые слова: латентный туберкулез, туберкулез крупного рогатого скота, туберкулин для млекопитающих.

Summary

The genome of mycobacterium tuberculosis (MBT) was detected in the milk of cows from conditionally tuberculosis-free herds that did not react and gave an uncertain reaction to tuberculin in 53.3 % 66.7 % of cases, specific antibodies in 40.7 % and 57.1 %, MBT antigens in 25 % and 22.2 % of samples, and non-acid-fast forms of MBT were detected from 92.3 % and 66.7 % of the studied milk samples heated at 98 °C. Taking into account the absence of signs of active disease, this indicated a latent tuberculosis infection in some cows that did not respond to tuberculin and that the tuberculin test did not reflect the real situation in the herd. To eliminate tuberculosis infection, it is necessary to use alternative methods for determining direct and indirect markers of tuberculosis infection and the development of a new system of anti-tuberculosis measures that take into account the high probability of transmission of modified forms of MBT through the placenta and with milk.

Keywords: latent tuberculosis, cattle tuberculosis, tuberculin mammalian.

Поступила в редакцию 27.12.2021 г.

ВВЕДЕНИЕ

К началу XX века туберкулез крупного рогатого скота был широко распространен в странах с развитым скотоводством [1, 2]. К этому времени уже стало понятно, что болезнь наносит не только ущерб скотоводству, но и представляет серьезную угрозу здоровью человека. В частности, в США от заражения микобактериями туберкулеза (МБТ) бычьего вида (*M. bovis*), преимущественно передававшимися

с молоком, ежегодно умирало до 50 000 человек [2, 3]. В связи с этим в ряде стран были приняты национальные программы борьбы с туберкулезом крупного рогатого скота, в основе которых была внутрикожная проба с туберкулином и убой туберкулин-позитивных коров. Стада считались свободными от туберкулеза, если ранее реагировавшие животные были сданы на убой, а две последующие туберкулинизации с интервалом в 6 месяцев дали отрица-

тельные результаты [1, 2]. Для крупных коллективных хозяйств были предложены ускоренные схемы оздоровления с интервалами между исследованиями 30–45 дней [1]. И до сих пор отсутствие у коров клинических признаков туберкулеза, отрицательная реакция на туберкулин у всех животных при двукратной туберкулинизации с интервалом 6 месяцев являются основными критериями благополучия стада. Кроме того, стадо может быть признанным свободным от туберкулеза, если при ежегодном обследовании внутрикожной или симультанной пробой все животные дают отрицательные реакции или стадо сформировано из особей благополучных стад, не реагировавших на туберкулин через 60 дней после формирования [4]. Однако такие критерии благополучия даже по представлениям конца прошлого века не гарантируют отсутствия в стаде животных, инфицированных МБТ. Известно, что чувствительность туберкулиновой пробы редко достигает 100 % [1, 5], а 2–5 % зараженных животных вообще могут быть анергичны к туберкулину [6]. Кроме того, осуществление противотуберкулезных мероприятий приводит к тому, что в организм попадает меньше МБТ, что позволяет иммунной системе переводить их в dormantное состояние, в L-, CWD- (cell wall deficient – с дефектной клеточной стенкой) формы, предотвращая развитие макроскопических туберкулезных изменений и клиническое проявление болезни [7, 8, 9]. Такая латентная инфекция может скрыто протекать пожизненно, так L- (CWD) формы практически не индуцируют гиперчувствительность замедленного типа (ГЗТ) к стандартному туберкулину [10, 11, 12], и инфицированные животные могут длительно оставаться невыявленными. Тем не менее, именно такие особи с большей вероятностью могут стать туберкулин-позитивными. Это происходит из-за того, что персистирующие CWD МБТ обладают не менее 30 % антигенов, общих с антигенами типичных и атипичных нетуберкулезных микобактерий (НТМБ) [13], которые, попадая в организм даже в незначительном количестве, могут вызвать вторичный иммун-

ный ответ и ГЗТ к туберкулину. Вероятно, с этим связано то, что, несмотря на почти 100-летнюю историю противотуберкулезных мероприятий, в оздоровленных стадах без заноса инфекции извне периодически появляются реагирующие на туберкулин особи [14].

Показателем того, что скрытая туберкулезная инфекция может быть в стадах стран, которые давно считаются свободными от туберкулеза крупного рогатого скота, может быть и факт обнаружения ДНК *M. bovis* в 5 % проб ультрапастеризованных молочных продуктов, из которых 89,9 % были произведены в Испании, 6,6 % – во Франции, 0,8 % – в Ирландии, 0,4 % – в Италии, 0,8 % – в Германии, 0,8 % – в Нидерландах, 0,8 % – в Швейцарии [15]. При этом рутинные тесты контроля статуса стада явно свидетельствовали о том, что они официально свободны от туберкулеза и их молоко может идти на экспорт.

Целью работы было выявление риска скрытой туберкулезной инфекции у туберкулинотрицательных коров условно благополучных стад путем исследования молока как возможного фактора передачи инфекции с использованием ПЦР и методов выявления измененных (CWD) форм МБТ, которые трудно обнаружить рутинными тестами.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Внутрикожной туберкулиновой пробой обследовали более 4000 коров длительно благополучных стад, в которых более 28 лет не выявлялись животные с туберкулезными изменениями, но периодически обнаруживались единичные реагирующие на туберкулин коровы, из патологического материала которых при рутинном бактериологическом исследовании МБТ не выделяли.

Животных исследовали туберкулином для млекопитающих с активностью 18055–19000 IU/мл, установленной относительно 1st International standard PPD tuberculin *M. bovis*, который вводили внутрикожно по 0,2 мл в среднюю треть шеи. Ре-

акции учитывали через 72 ч, измеряя кожные складки.

У 30 нереагировавших коров, находившихся в соседних стойлах или в секциях с туберкулинпозитивными особями, а также у 9 коров, давших неопределенную реакцию на туберкулин (с утолщением кожной складки 2-3 мм), отобрали пробы молока.

Пробы молока исследовали в ПЦР на присутствие генома МБТ с праймерами («Праймтех») 16S RNA, MPB 70, MPB 64, Is 6110 (ПЦР-RT). ДНК выделяли из проб, прогретых в лизирующем буфере 5 мин при температуре 95 °С на колонках с сорбентом (ИБОХ НАНБ). Амплификацию проводили на C1000™ ThermoCycler (BioRad) и на CFX96™ Real-Time System (BioRad) по стандартным протоколам.

Пробы молока исследовали в ИФА набором для выявления антимиkobактериальных антител в молоке у крупного рогатого скота и определения их специфичности «ИФА-М МБТ-НТМБ», ТУ ВУ 600049853.065-2017, и набором для выявления в крови и в молоке антигенов микобактерий и их комплексов с антителами «ИФА-ТУБИК», ТУ ВУ 600049853.064-2017.

Для бактериологического посева пробы молока прогревали на твердотельном термостате «Biosan» 2 раза по 15 мин при температуре 99 °С с интервалом 20 ч, 3 пробы были прогреты 10 ч при температуре 98 °С. Прогретье пробы смешивали (1:2) со стимулятором роста ВКГ или MucCel DW, инкубировали 24 ч при температуре 37 °С и высевали на питательную среду MucCel DW [16]. Посевы культивировали при температуре 37 °С. Мазки изолятов окрашивали по Kinyoun, микроскопию проводили на Olimpus B51X (10×100).

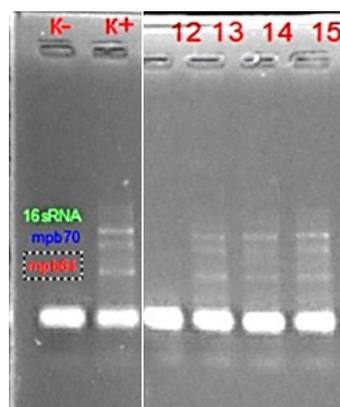
Для исключения возможного влияния введения туберкулина на появление у животных в крови и в молоке бактериологического маркера туберкулезной инфекции провели посев случайным образом отобранных сывороток крови 2 коров благополучного стада, в котором в последние 6 месяцев не проводилась туберкулинизация. Сыворотки фильтровали через стерилизую-

щий фильтр Millex® GP 0.22 μm, смешивали (1:2) со стимулятором роста ВКГ, инкубировали 24 ч при температуре 37 °С и высевали на питательную среду MucCel DW.

Для электрофореза в полиакриламидном геле (12 % ПААГ-ДСН, Laemmli, 1970) и иммуноблоттинга отмытую бактериальную массу изолятов суспендировали в буферном растворе для нанесения образцов (4х), прогревали 7 мин при температуре 98 °С, осаждали центрифугированием при 14 000 об/мин. Перенос осуществляли на Trans-blot SD. Иммунореактивные полипептиды выявляли с использованием бараньих антисывороток (1:60) к *M. tuberculosis* H₃₇Rv и CWD *M. bovis* 8, истощенных смесью антигенов *Staph. aureus*, *Strept. epidermidis*, *E. coli*, *Salm. dublin*, *Klebs. pneumonia*.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

ДНК из молока 53,3 % туберкулино-трицательных коров и 66,7 % особей с неопределенными реакциями на туберкулин дала положительную ПЦР с праймерами MPB 64, MPB 70, Is 6110, специфичными для комплекса *tuberculosis-bovis* (рисунок 1, таблица 1).



К- – отрицательный контроль;
К+ – положительный контроль;
12 – № 12п/388; 13 – № 13п/168;
14 – № 14п/628; 15 – № 15п/619
(сверху вниз амплификаты 16s RNA,
MPB 70, MPB 64)

Рисунок 1. – Электрофорез амплификатов ДНК из проб молока коров

Таблица 1. – Результаты исследования молока

№ коровы	ПЦР +	ИФА антитела	ИФА антигены МБТ и ИК ^X	Результат посева	ПЦР с ДНК изолятов
7/5	64, 6110	НИ	НИ	CWD МБТ	70, 64, 6110
9/7	64, 6110	НИ	НИ	CWD МБТ	64, 6110
2п Б/н	отр.	мбт+	-21 %+	CWD МБТ	16s, 70, 64, 6110
3п/787	16s, 70, 6110	мбт+	отр.	НИ	-
15п/619	16s, 70, 64	±	отр.	CWD МБТ	16s, 70, 64
16п/158	отр.	отр.	отр.	НИ	-
23п/707	отр.	отр.	отр.	НИ	-
18п/464	16s, 64, 6110	отр.	-21 %+	НИ	-
1п/806	16s, 70, 64	±	-18 %+	НИ	-
12п/388	16s, 70, 64 Is 6110	мбт+	отр.	CWD МБТ	16s, 70, 64, 6110
13п/168	16s, 70, 64	отр.	отр.	НИ	-
14п/628	16s, 70, 64	отр.	отр.	НИ	-
22п/502	70, 6110	отр.	отр.	CWD МБТ	16s, 70, 64, 6110
9п/п685	отр.	отр.	отр.	НИ	НИ
11п/947	16s, 70, 64, 6110	мбт+	-30%+	CWD МБТ	16s, 70, 64, 6110
12п/388	16s, 70, 64, 6110	мбт+	отр.	CWD МБТ	16s, 70, 64, 6110
20п/872	отр.	отр.	отр.	НИ	-
25п/097	отр.	отр.	отр.	CWD МБТ	16s, 70, 64
9п/п685	отр.	мбт+	отр.	НИ	-
11п/947	16s, 70, 64, 6110	мбт+	-30 %+	CWD МБТ	16s, 70, 64, 6110
20п/872	отр.	отр.	отр.	НИ	-
25п/097	отр.	отр.	отр.	CWD МБТ	16s, 70, 64
6/130кб	6110	отр.	-32 %+	отр.	-
7/696кб	6110	мбт+	отр.	CWD МБТ	6110
13/027кб	отр.	±	отр.	НИ	-
8/918 пм	отр.	отр.	отр.	НИ	-
10/782пм	отр.	мбт+	отр.	НИ	-
2/849пмр	отр.	мбт+	отр.	НИ	-
4/540пмр	отр.	мбт+	отр.	НИ	-
6/914	6110	±	-34 %+	НИ	-
Итого	Из 30-16+(53,3 %)	Из 27-11+(40,7 %)	Из 28-7+(25 %)	Из 13-12+(92,3 %)	

Примечания к таблицам 1 и 2: ^X – ИК иммунные комплексы и % снижения ОП в сравнении с контролем; НИ – не исследовали; жирным шрифтом выделены положительные результаты, красным цветом – пробы, прогретые 10 ч при температуре 98 °С

Повышенный уровень антител к антигенам МБТ выявлен у 40,7 % туберкулинотрицательных коров и 57,1 % животных с неопределенными реакциями на туберку-

лин. Антигены МБТ в молоке обнаружены, соответственно, в 25 % и 22,2 % случаев.

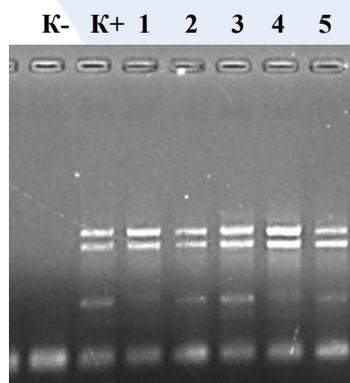
В ПЦР ДНК изолятов реагировала с праймерами комплекса *tuberculosis-bovis* –

MPV 70, MPV 64, Is 6110 (таблицы 1–3, рисунок 2), что указывало на то, что они являются CWD формами МБТ. Посевы прогретого молока, инкубированного в стимуляторах роста, в 92,3 % и 66,7 % слу-

чаев дали рост на среде МусСел DW некислоустойчивых (НКУ) полиморфных палочковидных форм с морфологией, характерной для CWD МБТ [17] (таблица 3).

Таблица 2. – Результаты исследования молока коров, давших неопределенные реакции на туберкулин

№ коровы	ПЦР +	ИФА антитела	ИФА антигены МБТ и ИК ^Х	Результат посева	ПЦР с ДНК изолятов
7п/Б/н	6110	мбт+	отр.	CWD МБТ	16s, 70, 64, 6110
17п/924	16s, 70, 64	НИ	отр.	НИ	-
24п/937	отр.	-	отр.	НИ	-
7п/Б/н	6110	мбт+	отр.	CWD МБТ	16s, 70, 64, 6110
17п/924	16s, 70, 64	НИ	отр.	НИ	-
24п/937	отр.	отр	отр.	НИ	-
14/422 кб	6110	мбт+	-24%+	НИ	-
1/360пм	отр,	отр.	±	отр.	-
3/764пм	6110	мбт+	-27%+	НИ	-
Итого	Из 9-6+(66,7 %)	Из 7-4+(57,1 %)	Из 9-2+(22,2 %)	Из 3-2+(66,7 %)	



К- – отрицательный контроль;
 К+ – положительный контроль;
 1 – № 7/5; 2 – № 2п б/н; 3 – № 11п/947;
 4 – № 12п/388; 5 – № 15п/619
 (сверху вниз амплификаты 16s RNA, MPV 70, MPV 64)

Рисунок 2. – Электрофорез амплификатов ДНК изолятов из молока коров

С данными ПЦР коррелировали результаты иммуноблоттинга с антисывороткой к *M. tuberculosis* H₃₇Rv, с которой реагировало до 18 полипептидов изолятов, а их спектр почти не отличался от спектра

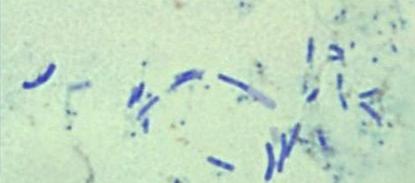
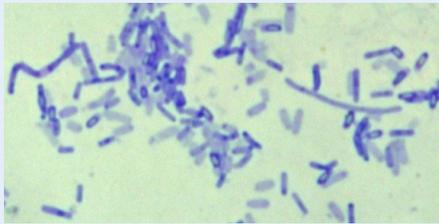
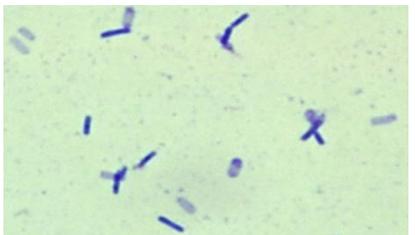
экспериментально полученного штамма CWD *M. tuberculosis* H₃₇Rv и изолята CWD *M. bovis* из лимфатического узла коровы с туберкулезными гранулемами (рисунок 3).



1 – CWD *M. tuberculosis* H₃₇Rv;
 2 – CWD *M. tuberculosis* H₃₇Rv;
 3 – изолят CWD МБТ из молока коровы 25п/097;
 4 – изолят CWD МБТ из лимфатического узла коровы с туберкулезными гранулемами

Рисунок 3. – Иммуноблоттинг. Электрофорез в 12%-ном ПААГ-ДСН, антисыворотка (барана) к *M. tuberculosis* H₃₇Rv, истощенная смесь бакмассы нетуберкулезной микрофлоры (1:60)

Таблица 3. – Изоляты из гретого молока туберкулинотрицательных коров

№ коровы, ПЦР+ с ДНК изолята	Морфология изолята	Характерные для CWD МБТ формы клеток у изолята
<p>2п Б/н 16s RNA, 70, 64, Is 6110</p>		
<p>11п/947 16s RNA, 70, 64, Is 6110</p>		
<p>12п/388 16s RNA, 70, 64, Is 6110</p>		
<p>15п/619 16s RNA, 70, 64</p>		
<p>22п/502 16s RNA, 70, 64, Is 6110</p>		
<p>25/097 16s RNA, 70, 64</p>		

При посеве сывороток крови коров, которым в последние 6 месяцев не вводили туберкулин, рост колоний на 5-е сутки дали обе пробы. Изоляты представляли собой НКУ палочковидные формы с типичной для CWD МБТ морфологией (таблица 4),

которые при продолжительном культивировании без пересева трансформировались в слабоокрашенные или «пустые» овальные формы иногда с КУ элементами красного цвета, а также в нитевидные зернистые формы. После пересева морфология

изолятов становилась одинаковой (таблица 5). Идентичность изолятов из крови 2 коров была подтверждена в электрофорезе в ПААГ-ДСН и иммуноблоттинге с антисывороткой к CWD *M. bovis* (рисунок 4).

При этом их полипептидный и антигенный спектр в основном совпадал со спектром CWD изолята из лимфатического узла коровы, больной туберкулезом.

Таблица 4. – Морфология изолятов из сывороток крови туберкулиноотрицательных коров № 3 и № 5, фильтрованных через Millex® GP 0.22 μm

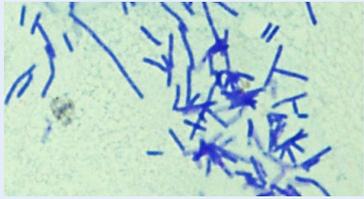
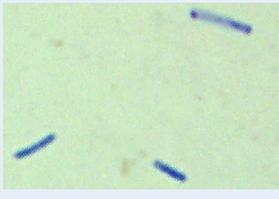
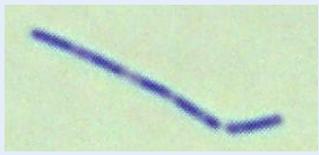
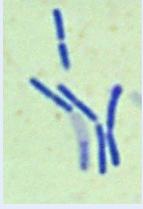
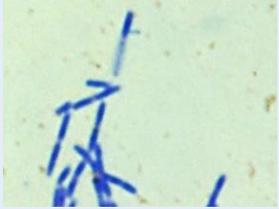
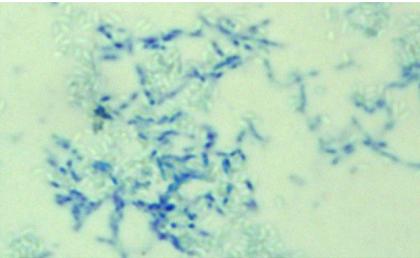
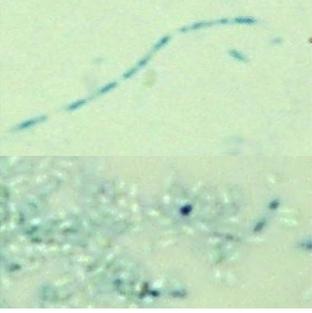
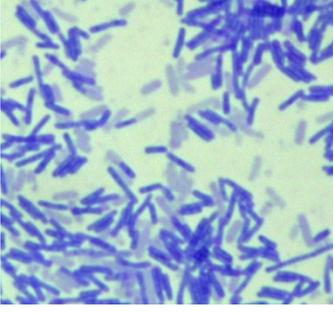
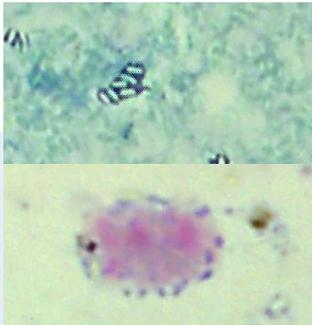
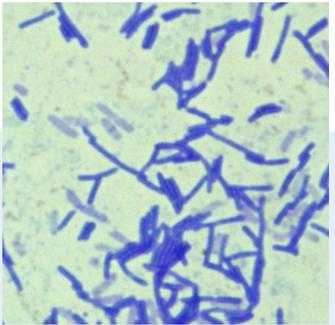
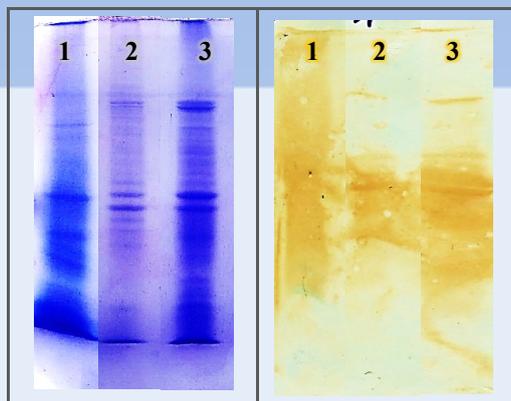
Морфология изолята	Характерные для CWD МБТ формы клеток		
			
			

Таблица 5. – Характерное изменение морфологии изолятов из сывороток крови на среде MycCel DW

Изолят после 2-месячной инкубации и обнаруженные характерные формы	Изолят через 24 ч после пересева	
Изолят из сыворотки № 3		
		
Изолят из сыворотки № 5		
		

Для выяснения статуса коров исследовали молоко, которое по информативности отражения процессов, происходящих в организме, почти не уступает крови, а его получение не требует значительных трудо-

затрат и травматизации животных. Кроме того, есть явная необходимость изучения биобезопасности молока как продукта, широко используемого в питании человека [15, 18].



- 1 – CWD *M. bovis* из лимфатического узла коровы, больной туберкулезом;
2, 3 – изоляты из сывороток крови коров № 3 и № 5 соответственно

Рисунок 4. – Электрофорез в 12%-ном ПААГ-ДСН и иммуноблоттинг с антисывороткой к CWD *M. bovis*, истощенной смесью антигенов нетуберкулезной микрофлоры

Известно, что в молоке коров, больных туберкулезом, как и у реагирующих на туберкулин особей без признаков активного заболевания, с помощью ПЦР можно обнаружить геном МБТ [18–20]. Но неожиданным оказалось получение ПЦР с праймерами *tuberculosis-bovis* и ДНК из 53,3 % проб молока туберкулинотрицательных и 66,7 % коров с неопределенной реакцией на туберкулин. Кроме того, в молоке 40,7 % и 57,1 % животных этих групп обнаружены антитела к антигенам МБТ, а в 25 % и 22,2 % проб – антигены МБТ. С учетом отсутствия признаков активного заболевания (отрицательные результаты аутопсии и бактериологического исследования по традиционным методикам) это свидетельствовало о скрытой латентной туберкулезной инфекции у части животных. Подтверждением этого было выделение некислотоустойчивых CWD-форм МБТ из 92,3 % и 66,7 % исследованных проб молока.

Выделение CWD МБТ из молока еще не означает, что МБТ персистировали в организме именно в этой форме. Пробы молока предварительно инкубировали в стимуляторах роста и высевали на специальную питательную среду, обеспечивающую рост преимущественно CWD-форм независимо от того, в какой форме МБТ присутствуют в пробах [16]. Поэтому изо-

ляты рассматривали как маркеры туберкулезной инфекции. Сейчас уже не вызывает сомнения, что МБТ в организме, помимо классической КУ палочки, могут находиться в дормантном состоянии (с пониженной вирулентностью и метаболизмом), в L-, CWD-, защитных и вирусоподобных формах [7, 11, 20–24]. Эта способность одинаковых по генотипу клеток создавать различные фенотипы считается эффективной формой адаптации для сохранения вида [21].

Выявление измененных форм МБТ рутинными методами почти невозможно из-за трудностей культивирования на традиционных питательных средах, потери КУ, снижения патогенности, изменения антигенного состава, появления других нетипичных свойств. Вместе с тем для прогноза возможного развития инфекционного процесса важно знать, в какой форме МБТ находятся в организме и в молоке. То, что животные не реагировали на туберкулин и в стадах не было признаков активной туберкулезной инфекции, указывает на то, что в организме исследованных особей не было типичных МБТ или они находились в дормантном состоянии. Скорее всего, МБТ персистировали в клетках в L- и CWD-формах, а также присутствовали в крови, в том числе в вирусоподобной фильтрующейся форме. Последнее было подтверждено выделением CWD МБТ из

сывороток крови, пропущенных через фильтр 0.22µm, как в настоящих, так и в ранее проведенных исследованиях [18]. Именно из крови вирусоподобные формы могли попадать в молоко. Вероятно, при этом даже происходит их концентрирование в продукте, так как для образования молока через вымя проходит большой объём крови.

Важным моментом было то, что для деконтаминации молока перед посевом, исходя из ранее установленной уникальной термостабильности МБТ [16, 18], использовали прогревание проб при температуре 98 °С 2 раза по 15 мин с интервалом 12 ч или однократно 10 ч. Большинство исследованных проб дали рост на среде МусСел DW, в том числе в 1 случае из 3 после 10 ч (!) прогрева. Эти результаты позволяют предположить, что в молоке туберкулиноотрицательных и коров с неопределенной реакцией на туберкулин находились термостабильные ультрамелкие «защитные» формы МБТ.

Известно, что при пастеризации молока типичные МБТ гибнут. Действительно, широкое использование термического обеззараживания молока резко снизило этиологическую роль *M. bovis* в заболеваемости человека [3]. Однако уже доказано, что при термическом стрессе МБТ могут образовывать термостабильные «защитные» формы [18, 23, 25, 26]. Опасность и роль таких форм МБТ практически не изучена. Интерес в первую очередь представляет возможность восстановления их жизнеспособности в организме. *In vitro* в этом процессе, видимо, основную роль играют стимуляторы роста (ВКГ, МусСел DW). Предполагается, что они стимулируют поступление в защитные формы водных растворов и активизируют Са-зависимые ферменты [27] и, возможно, синтез ростовых факторов, ускоряющих в субпиколярных концентрациях рост МБТ [28]. Установлено, что жизнеспособность может восстанавливаться и *in vivo* с последующей персистенцией CWD МБТ [25].

Какие риски может обуславливать латентная туберкулезная инфекция и пер-

систенция CWD МБТ у коров? Наиболее заметным может быть эндогенное развитие активного туберкулеза. Маловероятно, что измененные формы МБТ способны быстро трансформироваться в типичные патогенные МБТ. Такая реверсия происходит редко даже при целенаправленных попытках ее индукции, [7, 11]. Способствующим моментом в этом процессе может быть развитие иммунодефицитов [7]. С другой стороны, персистенция живого измененного возбудителя, в частности у практически здоровых в отношении туберкулеза людей, рассматривается как фактор, создающий противотуберкулезную резистентность и вакцинный эффект [7].

Персистенция CWD МБТ, хотя они, как правило, практически не индуцируют чувствительность к классическому туберкулину [10, 12], может способствовать появлению аллергии к нему за счет значительного количества общих антигенов [13] и вторичного иммунного ответа при попадании в организм даже небольшого количества КУ клеток, в том числе нетуберкулезных микобактерий.

Важный момент – выделение с молоком измененных форм МБТ, которые способны выдерживать не только ультрапастеризацию, но и экстремально длительное воздействие высокой температуры. Безусловно, эффекты, которые могут быть связаны с потреблением такого молока и молочных продуктов, нуждаются в глубоком изучении, но уже сейчас известна определенная связь персистенции CWD МБТ с канцерогенезом [24, 29, 30].

В целом полученные результаты показали, что туберкулиновая проба как основной тест оценки статуса стад не отражает реальной ситуации и не позволяет добиться элиминации туберкулезной инфекции. В связи с этим необходимо использовать альтернативные тесты по определению прямых и косвенных маркеров туберкулезной инфекции и разработки новой системы противотуберкулезных мероприятий, в том числе учитывающих высокую вероятность трансплацентарной передачи [31].

ЛИТЕРАТУРА

1. Юсковец, М. К. Туберкулез сельскохозяйственных животных и птиц / М. К. Юсковец. – Минск : Государственное издательство сельскохозяйственной литературы БССР, 1962. – 447 с.
2. Olmstead, A. L. *An Impossible Undertaking: The Eradication of Bovine Tuberculosis in the United States* / A. L. Olmstead, P. W. Rhode // *The Journal of Economic History*. – 2004. – Vol. 64, № 3. – P. 734–772.
3. Palmer, M. V. *Bovine Tuberculosis and the Establishment of an Eradication Program in the United States: Role of Veterinarians* / M. V. Palmer, W. R. Waters // *Veterinary Medicine International*. – 2011. – Vol. 2011. – P. 1–12.
4. Об утверждении санитарных и ветеринарно-санитарных правил по профилактике и ликвидации заболеваний, общих для человека и животных. Туберкулез: постановление Министерства здравоохранения Республики Беларусь и Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь, 26 марта 2010 г., № 31/21 (в ред. постановления Минздрава, Минсельхозпрода от 15.12.2010 № 166/91) // *Эталон-Беларусь [Электронный ресурс]* / Нац. центр правовой информации Республики Беларусь. – Минск, 2010.
5. Лысенко, А. П. Чувствительность и специфичность внутрикожной туберкулиновой и симультанной пробы при туберкулезной инфекции в стаде / А. П. Лысенко // *Наше сельское хозяйство*. – 2016. – № 6. – С. 2–6.
6. Выявление больного туберкулёзом крупного рогатого скота в состоянии анергии к туберкулину / А. Х. Найманов [и др.] // *Ветеринария, зоотехния и биотехнология*. – 2019. – № 1. – С. 17–21.
7. Дорожкова, И. Р. Скрыто протекающая туберкулезная инфекция / И. Р. Дорожкова, З. С. Земскова. – М. : Медицина, 1984. – 222 с.
8. Кузин, А. И. Латентная туберкулезная инфекция и ее значение в эпизоотологии туберкулеза крупного рогатого скота : автореф. дис. ... д-ра ветеринар. наук / А. И. Кузин. – М., 1977. – 30 с.
9. Рубцова, И. Н. Формы персистенции микобактерий в организме животных / И. Н. Рубцова, В. С. Федосеев, Н. Г. Кириленко // *Проблемы борьбы с болезнями жвачных животных в северных областях Казахстана : сб. науч. тр.* – Т. 68. – Целиноград, 1986. – С. 9–15.
10. Chandrasekhar, S. *Studies on cell-wall deficient non-acid fast variants of Mycobacterium tuberculosis* / S. Chandrasekhar, S. Ratnam // *Tubercle and Lung Disease*. – 1992. – Vol. 73, № 5. – P. 273–279.
11. Mattman, L. H. *Cell wall deficient forms: stealth pathogens* / L. H. Mattman. – 3rd ed. – Boca Raton : CRC Press, 2001. – 416 p.
12. Сырым, Н. С. Аллерген из Л-форм микобактерий бычьего вида для диагностики скрытой формы туберкулеза : автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук : 16.00.03 / Н. С. Сырым. – Алматы, 2004. – 19 с.
13. Особенности антигенного состава измененных форм микобактерий туберкулеза / А. П. Лысенко [и др.] // *Проблемы туберкулеза и болезней легких*. – 2010. – № 10. – С. 54–58.
14. *The History of In Vivo Tuberculin Testing in Bovines: Tuberculosis, a One «Health» Issue* / M. Good [et al.] // *Frontiers in Veterinary Science*. – 2018. – Vol. 5. – P. 59.
15. *Detection of Mycobacteria by Culture and DNA-Based Methods in Animal-Derived Food Products Purchased at Spanish Supermarkets* / I. A. Sevilla [et al.] // *Frontiers in Microbiology*. – 2017. – Vol. 8. – P. 1030.
16. Феномен изменчивости микобактерий туберкулеза и его использование для обнаружения туберкулезной инфекции / А. П. Лысенко [и др.] // *Туберкулез – глобальная катастрофа человечества: материалы I Междунар. заочной науч.-практ. конф., 24 марта 2014 г.* / Ростов н/Д : РостГМУ, 2014. – С. 176–198.
17. Вирус бычьего лейкоза – вирусоподобная форма микобактерий туберкулеза? / А. П. Лысенко [и др.] // *Экология и животный мир*. – 2019. – № 1. – С. 15–24.
18. Оценка эффективности термического обеззараживания молока туберкулинпозитивных коров с использованием методов детекции CWD форм микобактерий туберкулеза / А. П. Лысенко [и др.] // *Экология и животный мир*. – 2017. – № 1. – С. 41–48.
19. Бактериологические маркеры микобактериальной инфекции и антитела в крови у животных после введения туберкулина / А. П. Лысенко [и др.] // *Мониторинг, прогнозування, хвороб тварин із використанням сучасних методів эпизоотології, молекулярної біології та біотехнології: міжвідомчий тематичний наук. зб. Міжнар. наук.-практ. конф. : Феодосія, 14–17 вересня 2009 р.* – С. 294–298.

20. *Diagnosis of mycobacteria in bovine milk: an overview* / C.A.D. Bolaños [et al.] // *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*. – 2017. – Vol. 59. – P. 1–13.
21. *RNA-Seq Analysis of Mycobacterium avium Non-Coding Transcriptome* / D. Ignatov [et al.] // *PLoS ONE*. – 2013. – Vol. 8. – № 9. – P. e74209.
22. *Slavchev, G. Stress-induced L-forms of Mycobacterium bovis: a challenge to survivability* / G. Slavchev, L. Michailova, N. Markova // *The New Microbiologica*. – 2013. – Vol. 36. – № 2. – P. 157–166.
23. *Sporulation in mycobacteria* / J. Ghosh [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2009. – Vol. 106. – № 26. – P. 10781–10786.
24. *Tian, Y. Detection of Mycobacterium tuberculosis L-forms and MPB64 gene in breast cancer tissues* / Y. Tian, X.K. Cui, T. Hao // *J. of Practical Medicine*. – 2013. – № 15. – P. 45–46.
25. *The tuberculin skin test: How safe is safe? – the tuberculin contains unknown forms capable of reverting to cell-wall-deficient mycobacteria* / A. P. Lysenko [et al.] // *Clinical and Experimental Medical Sciences*. – 2014. – Vol. 2. – P. 55–73.
26. *Микобактерии туберкулеза при термическом воздействии образуют защитные формы, проходящие через ультрафильтры и восстанавливающие жизнеспособность в виде CWD форм* / А. П. Лысенко [и др.] // *Эпизоотология Иммунобиология Фармакология Санитария*. – 2019. – № 1. – С. 33–45.
27. *Власенко, В. В. Туберкулез в фокусе проблем современности* / В. В. Власенко. – Винница : Наука, 1998. – 350 с.
28. *A family of autocrine growth factors in Mycobacterium tuberculosis* / G. V. Mukamolova [et al.] // *Molecular Microbiology*. – 2002. – Vol. 46, № 3. – P. 623–635.
29. *Clinical end-points associated with Mycobacterium tuberculosis and lung cancer: implications into host-pathogen interaction and coevolution* / Y. Tian [et al.] // *BioMed Research International*. – 2015. – Vol. 2015. – P. 1–9.
30. *Broxmeyer, L. Cancer and the Science of Denial – with Breast Cancer/Long Island Breast Cancer* / L. Broxmeyer // *Journal of Tumor Medicine and Prevention*. – 2017. – Vol. 1, № 3. – P. 1–25.
31. *Трансплацентарная передача туберкулезной инфекции у коров, зараженных Mycobacterium bovis* / А. П. Лысенко [и др.] // *Эпизоотология Иммунобиология Фармакология Санитария*. – 2021. – № 2. – С. 18–25.

ПРЕПАРАТ ВЕТЕРИНАРНЫЙ

ХРОМАРЦИН



ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ГИПОМИКРОЭЛЕМЕНТОЗОВ,
ПОВЫШЕНИЯ УСТОЙЧИВОСТИ ОРГАНИЗМА МОЛОДНЯКА
И ЕГО СОХРАННОСТИ



наночастицы железа, цинка, марганца

- стимулируют синтез металлозависимых ферментов, которые улучшают работу сердечной мышцы;
- ускоряют ключевые биохимические процессы;
- повышают обмен веществ