

АТИПИЧНЫХ МИКОБАКТЕРИЙ, ИЗОЛИРОВАННЫХ ОТ СВИНЕЙ И ОБЪЕКТОВ ВНЕШНЕЙ СРЕДЫ

Ю.И. Смолянинов, доктор ветеринарных наук, профессор

Д.В. Волков, кандидат ветеринарных наук

С.В. Ионина, кандидат биологических наук

А.К. Брем, кандидат ветеринарных наук

Институт экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока СФНЦА РАН

E-mail: uismol@yandex.ru

Ключевые слова: микобактериозы свиней, биоматериал, атипичные микобактерии, фенотипические свойства.

Реферат. Показано, что при бактериологическом исследовании 1207 проб биоматериала от свиней, птиц и проб объектов внешней среды изолированы 106 культур кислотоустойчивых микобактерий (8,8 %). Из биоматериала от реагирующих на туберкулин свиней выделено 7,5 % культур, от кур подсобных хозяйств работников свиноферм – 12,5, от синантропных птиц (голуби, воробьи, 120 проб), обитающих на территории ферм, – 7,5 %, из проб внешней среды объектов свиноводства – 9,4 %. Изучение фенотипических свойств показало принадлежность изолированных культур микобактерий к трем группам по классификации Раньона (II, III и IV). Установлено, что в организме свиней и внешней среде благополучных по туберкулезу свиноводческих хозяйств персистируют 6 видов атипичных микобактерий, включающих *M. xenopi*, *M. avium-intracellulare*, *M. fortuitum*, *M. smegmatis*, *M. phlei* и *M. scrofulaceum*, что подтверждается культуральными, морфологическими и биохимическими свойствами. В структуре видовой принадлежности культур микобактерий наиболее распространены *M. avium-intracellulare* – 51,4 %, *M. smegmatis* – 20,8 и *M. scrofulaceum* – 11,1 %.

DISTRIBUTION AND PHENOTYPIC PROPERTIES OF ATYPICAL MYCOBACTERIA ISOLATED FROM PIGS AND AMBIENT MEDIUM OBJECTS

Iu.I. Smolyaninov, Doctor of Veterinary Sciences, Professor

D.V. Volkov, Ph.D. in Veterinary Sciences

S.V. Ionina, Ph.D. in Biological Sciences

A.K. Brem, Ph.D. in Veterinary Sciences

Institute of Experimental Veterinary Medicine of Siberia and the Far East,

Siberian Federal Research Centre for Agrobiotechnology

of the Russian Academy of Sciences (SFRCA RAS)

Key words: swine mycobacteriosis, biomaterial, atypical mycobacteria, phenotypic properties.

Abstract. In this article, the authors reviewed an experiment in which 106 cultures of acid-fast mycobacteria (8.8%) were isolated. These cultures were isolated by bacteriological examination of 1207 biomaterial samples from pigs, birds and environmental samples. From the biomaterial of pigs reactive to tuberculin, 7.5% cultures were isolated. From the biomaterial of backyard chickens on the pig farmer's farm 12.5% of samples were isolated; 120 samples were isolated from synanthropic birds (pigeons, sparrows). Of these, on-farm birds accounted for 7.5%; 9.4% were isolated from environmental samples outside the premises of the pig farm. The study of phenotypic properties showed the belonging of isolated cultures of mycobacteria to three groups according to Runyon classification (II, III and IV). The authors found that 6 species of atypical mycobacteria, including *M. xenopi*, *M. avium-intracellulare*, *M. fortuitum*, *M. smegmatis*, *M. phlei* and *M. scrofulaceum*.

The presence of mycobacteria was confirmed by cultural, morphological and biochemical properties. In the species composition of mycobacterial cultures, M. avium-intracellulare was the most common with 51.4 %, M. smegmatis with 20.8 % and M. scrofulaceum with 11.1 %.

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

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

Несмотря на то, что туберкулез свиней на территории России в настоящий период регистрируется редко, актуальной остается проблема микобактериозов, распространенных во многих регионах. Микобактериоз, обусловленный заражением свиней атипичными микобактериями в их видовом многообразии, по характеру патолого-анатомических изменений, выявляемых при ветеринарно-санитарной экспертизе туш, практически неотличим от туберкулеза, что вносит неясность в истинную эпизоотическую ситуацию и представляет опасность для людей [1].

Научные данные по микобактериозам свиней в нашей стране представлены в основном региональными особенностями [2–8], однако многие вопросы распространения, видового состава и фенотипических (культурально-морфологических, биохимических) свойств атипичных микобактерий остаются неизученными.

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

Целью исследований явилось изучение распространения микобактериозов и фенотипических свойств атипичных микобактерий, изолированных от свиней и из внешней среды объектов свиноводства.

Объектом исследований явились биоматериал и культуры микобактерий, изолированных от реагирующих на туберкулин свиней и проб внешней среды объектов свиноводства в регионе Сибири.

Аллергические исследования свиней на туберкулез проводили согласно Наставлению по применению (ППД) туберкулинов для млекопитающих и для птиц [9] с использованием туберкулинов производства ФГУП «Курская биофабрика». В экспериментах аллергически исследовано 8508 голов свиней различных половозрастных групп.

Бактериологические исследования по изоляции культур микобактерий из биоматериала от реагирующих на туберкулины свиней и объектов внешней среды (1187 проб) проводили в соответствии с Наставлением по диагностике туберкулеза животных [10]. Материал для исследования обрабатывали по методу Гона–Левенштейна–Сумиоши. Тинкториальные свойства микобактерий определяли при окраске мазков по Цилю–Нильсену.

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

Групповую принадлежность культур атипичных микобактерий определяли по классификации Раньона [11], дифференциально-диагностические тесты использовали по схемам, предложенным А.М. Кадочкиным [12], М.И. Гулюкиным с соавт. [13].

При изучении свойств культур микобактерий в качестве контрольных использовали референтные штаммы патогенных и атипичных микобактерий: *M. bovis* (шт. 8), *M. tuberculosis* (шт. H37Rv), *M. avium* (шт. «Берлин»), *M. intracellulare* (шт. 1411), *M. scrofulaceum* (шт. 2458–Париж), *M. gordonae*, *M. terrae*, *M. phley*, полученных ранее в Центральном НИИ туберкулеза РАМН и Государственном НИИ стандартизации и контроля медицинских биологических препаратов имени Л.А. Тарасевича.

Распространение микобактериозов у свиней

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

Для индикации культур кислотоустойчивых микобактерий комплексному бактериологическому исследованию подвергнуты 1207 проб биоматериала от свиней, птиц и проб объектов внешней среды, из которых изолированы 106 культур кислотоустойчивых микобактерий, что составляет 8,8 % от количества исследованных проб (табл. 1).

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

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

Таблица 1

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

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

Установлена персистенция микобактерий во всех объектах внешней среды свиноводческих хозяйств. Наиболее часто культуры изолировали из проб навозных желобов помещений – 18,7 %, опилок, используемых в качестве подстилки, – 15,4 и комбикорма – 13,3 %.

Определенное эпизоотическое значение имеет помет синатропных птиц (голуби, воробьи), повсеместно обитающих на территории свиноводческих ферм. Полученные данные свидетельствуют о повсеместном распространении кислотоустойчивых микобактерий во внешней среде и их важной роли как основных источников заражения свиней.

Фенотипические свойства изолированных культур микобактерий

Культурально-морфологические свойства изолированных первично из биоматериала от свиней и проб объектов внешней среды в количестве 95 культур микобактерий изучали во второй генерации роста колоний путем пересева на питательную среду Левенштейна–Йенсена.

Для пересева культур готовили бактериальную взвесь, содержащую 1 мг бактериальной массы микобактерий в 1 мл физиологического раствора. В качестве эталона использовали оптический стандарт мутности штамма микобактерий BCG. Взвесь микобактерий в объеме 0,1 л каждой культуры высевали в 5 пробирок с питательной средой Левенштейна–Йенсена и в 1 – с МПБ и культивировали в режимах 22, 37, 45 и 52 °С. Появление первичного роста колоний на поверхности питательной среды учитывали ежедневно в течение первых 9 суток, а затем каждые 5 суток, в срок до 3 месяцев.

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

Чёткое проявление скотохромогенности зарегистрировано у 37, или у 38,9 %, изучаемых культур микобактерий (табл. 2).

Скотохромогенность проявилась у 30 культур, выделенных из биоматериала от свиней, и у 7 – из проб внешней среды. Цвет колоний микобактерий после воздействия светом варьировал от желтого до желто-оранжевого. В контрольных пробирках при культивировании в темноте скотохромогенности не наблюдали. Скотохромогенность проявлялась как у медленно-растущих, так и быстро-растущих культур микобактерий примерно в равном соотношении. Нефотохромогенные (не образующие пигмент на свету) микобактерии, относящиеся к III группе по Раньону, выявлены у 58, или у 61,6 %, культур.

Таблица 2

Культуральные свойства изолированных культур микобактерий

Показатель		Методика исследования	Культуры	
			кол-во	%
1	2	3	4	5
Пигменто-образование	Скотохромогенные	G.P. Kubica [14]	37	38,9
	Нефотохромогенные		58	61,1
Скорость роста	Быстрорастущие (до 7 сут)	W. Kappler [15]	29	30,5
	Медленно-растущие (после 7 сут)		66	69,5

Окончание табл. 2

1	2	3	4	5
Рост при различных температурах	22 °С	Н.М. Макаревич [16]	25	26,3
	37 °С		91	95,8
	45 °С		27	28,4
	52 °С		1	1,1
Корд-фактор	Образование в жидкой питательной среде микроколоний патогенных микобактерий туберкулеза в виде кос, жгутов, завитков и их отсутствие при росте атипичных микобактерий	М. Tsukamura [17]	—	—

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

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

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

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

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

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

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

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

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

При исследовании 95 изолированных культур микобактерий все они дали хороший рост колоний на среде Левенштейна–Йенсена с добавлением салицилата натрия, в связи с чем классифицировались как атипичные (табл. 3).

Таблица 3

Биохимические свойства изолированных культур микобактерий

Биохимический тест	Методика исследований	Культуры с положительной реакцией	
		кол-во	%
Рост на среде с салицилатом натрия	M. Tsukamura [17]	95	100,0
Активность каталазы	L. Wayne [18]	37	38,9
Термостабильность каталазы	G.P. Kubica [14]	—	—
Гидролиз Твин-80	L. Wayne [18]	45	47,4
Осаждение железа	I. Szabo, E. Vandra [19]	3	4,6
Формаминазная активность	H. Nagayama et al. [20]	26	27,4
Редукция теллурита калия	J. Kilburn et al. [21]	69	95,8
Толерантность к хлориду натрия	D. Kestle et al. [22]	66	69,5

Активность каталазы. Тест ставили путем внесения в пробирки с испытуемыми культурами микобактерий раствора перекиси водорода. Реакцию учитывали по образованию пузырьков газа в виде столбика пены в течение 5 мин. Высоту столбика в 45 мм и выше оценивали как положительную реакцию. Для контроля использовали референтные штаммы культур *M. intracellulare* и *M. gordonae*, которые образуют столбик пены свыше 45 мм.

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

Термостабильность каталазы. Реакцию проводили при нагревании на водяной бане при температуре 68 °С в течение 20 мин 0,5 мл взвеси испытуемых культур микобактерий. Во взвесь после охлаждения добавляли 0,5 мл каталазного реагента (10 %-го раствора Твин-80 и 30 %-й перекиси водорода, поровну). Реакцию считали положительной, если в течение 20 мин образовались пузырьки кислорода. Контролем служили культуры микобактерий, которые

не прогревали, а также референтный штамм *M. gordonae*, дающий заведомо положительную реакцию. В опыте из 95 испытуемых культур микобактерий ни одна не показала активности в данной реакции.

Гидролиз Твин-80. Реакцию ставили для дифференциации потенциально патогенных видов микобактерий IV группы по классификации Раньона (*M. scrofulaceum*) и III группы (*M. avium-intracellulare*) от сапрофитных видов этих групп *M. gordonae*, *M. terrae* и др. В реакции смешивали 0,5 мл реактива Твин-80, 0,1 мл основного нейтрального красного и 100 мл фосфатного буферного раствора Соренсена (pH 7,0). Смесь в пробирках по 4 мл автоклавировали при температуре 120 °C в течение 15 мин. При смешивании образовывался раствор соломенно-желтого цвета за счет связанного нейтрального красного, а при гидролизе происходило освобождение нейтрального красного, и окраска восстанавливалась до красного цвета. В пробирки вносили 3–4-недельную культуру микобактерий и культивировали при температуре 37 °C 48 ч. При положительной реакции цвет среды изменялся от розового до красного. Контролем служили пробирки с питательной средой без культур и культура референтного штамма *M. scrofulaceum*, которая также давала заведомо отрицательную реакцию. В реакции дифференцировано 8 культур как *M. scrofulaceum* и 37 культур как *M. avium-intracellulare*.

Осаждение лимонно-аммиачного железа. В пробирки с испытуемыми культурами микобактерий вносили по 0,5 мл раствора лимонно-аммиачного железа и культивировали при температуре 37 °C в течение 10 сут. Положительной считали культуру, окрашиваемую в коричневый цвет. Для контроля использовали референтный штамм *M. phley*, дающий заведомо положительную реакцию. В данном тесте выявлены три полевые культуры *M. phley* (IV группа по Раньону), у которых при культивировании проявилось окрашивание в коричневый цвет. При этом две культуры были изолированы из проб биологического материала от свиней и одна – от голубя.

Толерантность к хлориду натрия. Тест, основанный на способности быстрорастущих культур (кроме *M. diernhoferi*) расти на среде Левенштейна–Йенсена с добавлением хлорида натрия, использовали для дифференциации медленно растущих микобактерий от быстрорастущих, а также вида *M. triviale* от других микобактерий III группы по Раньону. При постановке реакции в среду Левенштейна–Йенсена добавляли хлорид натрия в 5 %-й концентрации. Взвесь испытуемых культур микобактерий высевали на питательную среду с раствором хлорида натрия. Появление роста колоний культур микобактерий через 4 недели считали положительной реакцией. Результаты теста показали полное ингибирование роста у 66 испытуемых культур микобактерий на среде Левенштейна–Йенсена, что позволило дополнительно отнести их к группе медленно растущих. У остальных 29 культур наблюдали хороший рост микобактерий при добавлении в среду хлорида натрия, которые классифицировались как быстрорастущие.

Формамидазная активность. Тест основан на катализе образования аммиака из формамида ферментом формамидазы, присутствующим у некоторых видов атипичных микобактерий. Взвесь микобактерий из расчёта 10 мг/мл по оптическому стандарту мутности микобактерий BCG на фосфатно-буферном растворе Соренсена (pH 7,2) разливали в две пробирки по 0,5 мл. Одну пробирку использовали в качестве контроля. В первую пробирку добавляли 0,5 мл раствора формамида, а в контрольную – 0,5 мл буферного раствора. Пробирки помещали в термостат на 4 ч при температуре 37 °C. Затем в каждую пробирку последовательно добавляли 0,1 мл раствора сернокислого марганца, 1 мл фенолового реактива, 0,5 мл гипохлорида кальция и помещали в кипящую водяную баню на 20 мин. Появление синей или желтовато-синей окраски раствора считали положительной реакцией, указывающей на присутствие аммиака у быстрорастущих культур микобактерий IV группы по классификации Раньона. В опыте положительную реакцию проявили 26 культур микобактерий, что позволило отнести их ко II и IV группам

по Раньону, включая виды *M. smegmatis* (15 культур), *M. phlei* (3 культуры) и *M. crofulaceum* (8 культур).

Редукция теллурита калия. Тест использовали для дифференциации быстрорастущих микобактерий IV группы по Раньону и микобактерий комплекса *avium-intracellulare* от других видов медленно растущих микобактерий. Реакция основана на восстановлении теллурита калия под воздействием фермента редуктазы, присутствующей у некоторых видов атипичных микобактерий. В пробирки с жидкой питательной средой Локкемана вносили испытуемые культуры микобактерий и выращивали 7 сут при температуре 37 °С. При появлении роста микобактерий (помутнение) добавляли по две капли 0,2 %-го раствора теллурита калия. Реакцию учитывали на 3, 6, 10 и 14-е сутки. Учет реакции показал появление интенсивно-черного или коричневого осадка в 69 пробирках с испытуемыми культурами микобактерий, на основании чего они были отнесены к III и IV группам по Раньону. В трех пробах реакция оценена как отрицательная ввиду отсутствия пигментированного осадка, и 4 культуры микобактерий отнесены ко II группе по классификации Раньона.

Видовой состав изолированных культур атипичных микобактерий. Результаты исследований позволили определить групповую и видовую принадлежность 72 культур атипичных микобактерий из 95 анализируемых и отнести их к трем группам по классификации Раньона – II, III и IV (табл. 4).

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

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

Таблица 4

**Видовой состав атипичных микобактерий,
изолированных от свиней, птиц и из внешней среды**

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

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

Из проб объектов внешней среды, включая синантропных птиц (голуби, воробьи), изолированы и идентифицированы 28 культур различных видов атипичных микобактерий. Все 6 видов культур, изолированных из объектов внешней среды, соответствовали видам, изоли-

рованным из биоматериала от свиней. При этом половина всех изучаемых культур была представлена видом комплекса *M. avium-intracellulare*, что свидетельствует о их наиболее широком распространении во внешней среде.

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

Принадлежность 23 культур (24,2 %) не установлена ввиду нечеткости показаний отдельных диагностических тестов.

Проведенные исследования позволяют сделать следующие выводы.

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

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

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

4. В связи с идентичностью патолого-анатомических поражений при туберкулезе и микобактериозах свиней окончательный диагноз можно поставить только по результатам комплексных бактериологических исследований и изучения культурально-морфологических и биохимических свойств кислотоустойчивых микобактерий.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Особенности противотуберкулезных мероприятий при микобактериозах свиней / А.Х. Найманов, Н.Г. Толстенко, Е.П. Вангели, В.М. Калмыков // Ветеринария. – 2016. – № 11. – С. 3–6.
2. Лиепиньш Э.А. Краевые особенности этиологии и диагностики туберкулеза у свиней в Латвийской ССР: автореф. дис. ... канд. вет. наук. – Тарту, 1975. – 24 с.
3. Козлов Н.Н. Об этиологии микобактериозов у свиней в некоторых районах Эстонской ССР // Теоретические и практические вопросы ветеринарии. – Тарту, 1977. – Т. I. – С. 75–78.
4. Румачик И.И. Туберкулезные изменения у свиней и их этиология: автореф. дис. ... канд. вет. наук. – Минск, 1980. – 21 с.
5. Нечваль И.Т. Микобактериоз свиней (эпизоотология, диагностика, профилактика и мероприятия по их ликвидации): автореф. дис. ... д-ра вет. наук. – М., 1986. – 46 с.
6. Нурмадов К. Результаты изучения культур микобактерий, выделенных от свиней в некоторых хозяйствах Таджикской ССР // Профилактические и лечебно-ветеринарные мероприятия в животноводческих комплексах – Душанбе, 1987. – С. 4–8.
7. Солонко А.А., Сахончик П.Е. Микобактериоз свиней на комплексе // Ветеринарная наука – производству. – Минск, 1988. – Т. 26. – С. 37–44.
8. Пакурина Т.А., Околелов В.И. Спектрофотометрия для диагностики микобактериозов свиней // Ветеринария сельскохозяйственных животных. – 2009. – № 5. – С. 33–38.
9. Наставление по применению (ППД) туберкулинов для млекопитающих и для птиц. – М., 1999.
10. Наставление по диагностике туберкулеза животных. – М., 2002.

11. Runyon E. Differentiation des mycobacteria anonimes (atypiques) et des bacillus tuberculosis des mamileres // Bull. Union Intern. tuberc. – 1959. – Vol. 29, N. 1–2. – P. 72–83.
12. Кадочкин А.М. Дифференциация и индентификация микобактерий // Ветеринария. –1984. – № 9. – С. 62–64.
13. Методические наставления по проведению исследований при микобактериозах животных / М.И. Гулюкин, А.Х. Найманов, Н.П. Овдиенко [и др.]. – М., 2012. – 85 с.
14. Kubica G.P. The current nomenclature of the mycobacteria // Bull. Int. Union Against Tuberc. – 1979. – Vol. 54, N. 2. – P. 204–211.
15. Kappler W. Klassifizierung und Identifizierung von jangsian wachsenden atypischen mycobacterien // Z. Tuberk. – 1968. – Jg. 127. – S. 31–35.
16. Макаревич Н.М. Атипичные микобактерии: методы идентификации, источники выделения, течение, клиника туберкулеза: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – М., 1973. – 37 с.
17. Tsukamura M.A. Review of the metods of identification and differentiation of Mycobacteria // Rev. Ifest. Dis. – 1981. – Vol. 3, N. 5. – P. 844–861.
18. Wayne L.G. Classification and identification of mycobacteria // Amer. Rev. Resp. Dis. – 1967. – Vol. 96. – P. 88–95.
19. Szabo I., Vandra F. Classification des mycobacteries saprophites // Rev. Immunol. – 1961. – Vol. 25, N. 5–6. – P. 372–378.
20. Nagayama H., Konno K., Oka S. Formamidase in mycobacteria from other mycobacteria // Nature. – 1961. – Vol. 190. – P. 219–221.
21. Kilburn J.O., Silcox V.A., Kubica G.P. Differential identification of mycobacteria. V. The tellurite reduction test // Amer. Rev. Respir. Dis. – 1969. – Vol. 99 (1). – P. 94–100.
22. Kestle D., Abolt V., Kubica G. Differencial identification of mycobacteria. II. Subgroups of groups II and III (Runyon) with different clinical significanse // Amer. Rev. Resp. Dis. – 1967. – Vol. 95. – P. 1041–1052.

REFERENCES

1. Najmanov A.H., Tolstenko N.G., Vangeli E.P., Kalmykov V.M., *Veterinariya*, 2016, No. 11, pp. 3–6. (In Russ.)
2. Liepin'sh E.A. *Kraevye osobennosti etiologii i diagnostiki tuberkulyoza u svinej v Latvijской SSR* (Regional features of the etiology and diagnosis of tuberculosis in pigs in the Latvian SSR), Extended abstract of candidate's thesis, Tartu, 1975, 24 p. (In Russ.)
3. Kozlov N.N. *Teoreticheskie i prakticheskie voprosy veterinarii*, Tartu, 1977, Vol. I, pp. 75–78. (In Russ.) Rumachik I.I. *Tuberkuleznye izmeneniya u svinej i ih etiologiya* (Tuberculous changes in pigs and their etiology), Extended abstract of candidate's thesis, Minsk, 1980, 21 p. (In Russ.)
4. Rumachik I.I. *Tuberkuleznye izmeneniya u svinej i ih etiologiya* (Tuberculous changes in pigs and their etiology), Extended abstract of candidate's thesis, Minsk, 1980, 21 p. (In Russ.)
5. Nechval' I.T. *Mikobakterioz svinej (epizootologiya, diagnostika, profilaktika i meropriyatiya po ih likvidacii)* (Mycobacteriosis of pigs (epizootology, diagnosis, prevention and measures for their elimination)), Extended abstract of Doctor's thesis, Moscow, 1986, 46 p. (In Russ.)
6. Nurmadov K. *Profilakticheskie i lechebno-veterinarnye meropriyatiya v zhivotnovodcheskih kompleksah*, Dushanbe, 1987, pp. 4–8. (In Russ.)
7. Soloneko A.A., Sahonchik P.E. *Veterinarnaya nauka – proizvodstvu*, Minsk, 1988, Vol. 26, pp. 37–44. (In Russ.)
8. Pakusina T.A., Okolelov V.I. *Veterinariya sel'skohozyajstvennyh zhivotnyh*, 2009, No. 5, pp. 33–38. (In Russ.)

9. *Nastavlenie po primeneniyu (PPD) tuberkulinov dlya mlekopitayushchih i dlya ptic* (Instructions for use (DPO) of tuberculins for mammals and birds), Moscow, 1999.
10. *Nastavlenie po diagnostike tuberkuleza zhivotnyh* (Manual for the diagnosis of animal tuberculosis), Moscow, 2002.
11. Runyon E. Differentiation des mycobacteria anonimes (atypiques) et des bacillus tuberculosis des mamileres, *Bull. Union Intern. tuberc.*, 1959, Vol. 29, No. 1–2, pp. 72–83.
12. Kadochkin A.M. *Veterinariya*, 1984, No. 9, pp. 62–64. (In Russ.)
13. Gulyukin M.I., Najmanov A.H., Ovdienko N.P. i dr., *Metodicheskie nastavleniya po provedeniyu issledovaniy pri mikobakteriozah zhivotnyh* (Methodological instructions for conducting research in animal mycobacteriosis), Moscow, 2012, 85 p.
14. Kubica G.P. The current nomenclature of the mycobacteria, *Bull. Int. Union Against Tuberc.*, 1979, Vol. 54, No. 2, pp. 204–211.
15. Kappler W. Klassifizierung und Identifizierung von langsam wachsenden atypischen mycobacterien, *Z. Tuberk.*, 1968, Jg. 127, pp. 31–35.
16. Makarevich N.M. *Atipichnye mikobakterii: metody identifikacii, istochniki vydeleniya, techenie, klinika tuberkuleza* (Atypical mycobacteria: identification methods, sources of isolation, course, tuberculosis clinic), Extended abstract of Doctor's thesis, Moscow, 1973, 37 p.
17. Tsukamura M.A. Review of the methods of identification and differentiation of Mycobacteria, *Rev. Infect. Dis.*, 1981, Vol. 3, No. 5, pp. 844–861.
18. Wayne L.G. Classification and identification of mycobacteria, *Amer. Rev. Resp. Dis.*, 1967, Vol. 96, pp. 88–95.
19. Szabo I., Vandra F. Classification des mycobacteries saprophytes, *Rev. Immunol.*, 1961, Vol. 25, No. 5–6, pp. 372–378.
20. Nagayama H., Konno K., Oka S. Formamidase in mycobacteria from other mycobacteria, *Nature*, 1961, Vol. 190, pp. 219–221.
21. Kilburn J.O., Silcox V.A., Kubica G.P. Differential identification of mycobacteria. V. The tellurite reduction test, *Amer. Rev. Respir. Dis.*, 1969, Vol. 99 (1), pp. 94–100.
22. Kestle D., Abolt V., Kubica G. Differential identification of mycobacteria. II. Subgroups of groups II and III (Runyon) with different clinical significance, *Amer. Rev. Resp. Dis.*, 1967, Vol. 95, pp. 1041–1052.