DOI CrossRef:10.30917/ATT-VK-1814-9588-2019-4-1
УДК 619:579.62;619:577.27

Изучение сенсibiliзирующих свойств атипичных микобактерий разных групп по классификации Ranyon

Мясоедов Ю.М.
Myasoedov Yu.M.

Мясоедов Ю.М., кандидат биологических наук, начальник ОБТК, ФКП "Курская биофабрика", г. Курск, MyasoedovYurij@yandex.ru

Найманов, А.Х. доктор ветеринарных наук, профессор, заведующий лабораторией микобактериозов ВИЭВ, "ФГБНУ Всероссийский институт экспериментальной ветеринарии им. Я.П. Коваленко (ВИЭВ)", г. Москва,

Ключевые слова: сенсibilизация, ППД туберкулин для млекопитающих, КАМ, морские свинки, атипичные микобактерии.

Резюме. Естественным природным резервуаром не туберкулёзных микобактерий являются почва и вода. В связи с этим, атипичные микобактерии характеризуются повсеместным распространением в окружающей среде. При колонизации организма млекопитающих атипичными микобактериями, часто развивается состояние повышенной чувствительности замедленного типа (ПЧЗТ). Состояние ПЧЗТ выявляется при проведении систематической аллергической диагностики животных на туберкулёз. Определение причин развития состояния ПЧЗТ, при попадании в организм животных нетуберкулёзных микобактерий, является одной из задач современной ветеринарной науки.

Целью исследований было изучение сенсibilизирующих свойств атипичных микобактерий 2,3 и 4 групп по классификации Ranyon. В результате проведенных исследований было выявлено, что атипичные микобактерии 2,3 и 4 групп по классификации Раньена: *M. scrofulaceum*, *M. intracellulare*, *M. fortuitum* характеризуются сенсibilизирующей способностью. При этом сенсibilизирующая способность микобактерий *M. scrofulaceum* и *M. intracellulare* в равных дозах превосходит *M. fortuitum*. В связи с этим при изготовлении комплексного аллергена из атипичных микобактерий предпочтительно использовать не туберкулёзные микобактерии, которые чаще всего выявляются на территории Российской Федерации.

Атипичные микобактерии, являясь сапрофитными микроорганизмами, повсеместно распространены в окружающей среде, участвуют в биосферных микробиологических процессах.

Различные виды почв и водные природные источники являются резервуаром не туберкулёзных микобактерий (НТМБ), поэтому их ещё называют "микобактерии окружающей среды". Так, В. Г. Ощепков и соавт. (2003) сообщили об изолировании атипичных микобактерий с поверхности раз-

The study of the sensitizing properties of atypical mycobacteria of different groups according to the Ranyon classification

Myasoedov Yu.M., Najmanov A.H.

Key words: sensitization, PPD tuberculin for mammals, CAM, guinea pigs, non-tuberculous mycobacteria.

Abstract. The natural reservoir of non-tuberculosis mycobacteria is soil and water. The main function of atypical mycobacteria is biospheric microbiological processes. Therefore, atypical mycobacteria are ubiquitous in the environment.

Taking into account the above, atypical mycobacteria can colonize both animals and insects that come in contact with soil and water. Atypical mycobacteria have generic antigens with pathogenic ones. Therefore, when atypical mycobacteria colonize mammals, a state of hypersensitivity of the delayed type (DTH) often develops. The condition of DTH is detected when conducting a systematic allergic diagnosis of animals for tuberculosis using PPD for mammals. Therefore, the study of the reasons for the development of the DTH state when non-tubercular mycobacteria enter the animal organism is one of the main tasks of modern veterinary science. The aim of the research was to study the sensitizing properties of atypical mycobacteria of groups 2,3 and 4 according to the Ranyon classification. As a result of the conducted research, it was revealed that atypical mycobacteria of 2,3 and 4 groups according to Ranyon's classification: *M. scrofulaceum*, *M. intracellulare*, *M. fortuitum* are characterized by sensitizing ability. At the same time, *M. fortuitum* is characterized by less sensitizing ability, in comparison with *M. scrofulaceum* and *M. intracellulare*. In the manufacture of a complex allergen from atypical mycobacteria, it is preferable to use non-tuberculous ones, which are most often isolated on the territory of the Russian Federation.

личных животноводческих объектов, а также от животных реагирующих, и не реагирующих на туберкулин для млекопитающих [7].

А.Х. Найманов и соавт. (2010) изолировали атипичные микобактерии с поверхности животноводческих зданий, а также насекомых населяющих эти здания [4].

Повсеместное распространение нетуберкулёзных микобактерий является причиной сенсibilизации животных к общеродовым антигенам микобактерий, что сопровождается развитием неспецифической аллергической реакции на ППД туберкулин для млекопитающих, выявляемой при осуществлении плановых исследований на туберкулёз [2, 3, 6]. При этом многие вопросы экологии атипичных микобактерий изучены недостаточно, в том числе сенсibilизирующая способность. Так в одной и той же популяции животных, атипичные микобактерии могут сенсibilизировать одних особей, с последующим развитием состояния аллергии, при отсутствии сенсibilизации других.

При возникновении подобной ситуации Наставлением по диагностике туберкулёза животных от 2002 г. регламентировано проведение лабораторных исследований, включающие бактериологические и микроскопические исследования, а также постановку биопробы. Биологическая проба, является ключевым тестом позволяющим оценить биологические свойства выделенных культур микобактерий [5,8].

Оценка сенсibilизации макроорганизма атипичными

Для цитирования / For citation

Мясоедов, Ю.М., Найманов, А.Х. Изучение сенсibilизирующих свойств атипичных микобактерий разных групп по классификации Ranyon // Ветеринария и кормление. – М., 2019. - №4 – С.6-8.

Myasoedov, Yu. M., Najmanov A. H. The study of the sensitizing properties of atypical mycobacteria of different groups according to the Ranyon classification // Veterinaria i kormlenie - M., 2019. - Vol.4. - P.6-8.

микобактериями проводится в лабораторных условиях, на восприимчивых животных – морских свинках. При этом, чувствительность морских свинок к представителям рода микобактерий различается. Например, для моделирования повышенной чувствительности замедленного типа у морских свинок, при использовании патогенных микобактерий, достаточно нескольких десятков микобактерий, в то время как для воспроизведения гиперчувствительности при использовании атипичных микобактерий дозировка должна быть достаточно высокой – несколько миллионов микробных тел [8].

Учитывая широкое распространение быстрорастущих нетуберкулёзных микобактерий, недостаточную изученность сенсибилизирующих свойств различных видов микобактерий, целью исследований было изучение сенсибилизирующих свойств атипичных микобактерий 2,3 и 4 групп по классификации Ranyon.

Материалы и методы

В работе использовали самок морских свинок, массой 500 ± 100 г (в количестве 40 голов). Морских свинок содержали в вольерах, с использованием гранулированного корма. Из совокупности животных согласно принципу аналогов были сформированы 4 группы, по 10 голов.

В работе были использованы микобактерии: *M. scrofulaceum* штамм N- 12 С, *M. intracellulare*, штамм S- 13 С, *M. fortuitum*, штамм 18023, *M. bovis* штамм БЦЖ. Микобактерии выращивали на картофельной среде Павловского, в

течение 25 суток, при температуре 37°C . В последствии на физиологическом растворе готовили суспензии *M. scrofulaceum*, *M. intracellulare*, *M. fortuitum* в концентрации 5 мг/см^3 ; а *M. bovis* в концентрации 2 мг/см^3 . Животных сенсибилизировали нетуберкулёзными микобактериями в дозе 5 мг/см^3 , подкожно, в области коленной складки, микобактериями *M. bovis* в количестве $0,2 \text{ мг/см}^3$ внутрикожно, в области брюшной стенки. Через 30 дней, после сенсибилизации животных, были проведены исследования.

В исследовании были использованы следующие микобактериальные аллергены:

– туберкулин очищенный (ППД) для млекопитающих, стандартный раствор, (производство ФКП "Курская биофабрика");

– аллерген сухой очищенный из атипичных микобактерий (КАМ), (производство ФКП "Курская биофабрика").

Из аллергенов готовили рабочие разведения: ППД для млекопитающих 5 МЕ в $0,1 \text{ см}^3$; КАМ 10 ЕД в $0,1 \text{ см}^3$ физиологического раствора которые инъецировали внутрикожно с левой и правой сторон, в предварительно депилированные участки кожи на боковых поверхностях тела.

Через 24 и 48 часов, после введения микобактериальных аллергенов, проводили учет реакции. Положительной реакцией, на инъекции аллергенов, считали покраснение кожи и развитие припухлости диаметром 5 мм и более.

Статистическая обработка была осуществлена методами вариационной статистики. Достоверность полученных данных оценивали по критерию знаков [1].

Результаты исследований

При изучении сенсибилизирующих свойств нетуберкулёзных микобактерий для оценки эффективности применяемых доз аллергенов: ППД для млекопитающих и КАМ были использованы животные, иммунизированные микобактериями *M. bovis* БЦЖ (группа 4).

Экспериментальные данные полученные при оценке сенсибилизирующих свойств различных групп не туберкулёзных микобактерий представлены в таблице.

Из полученных данных видно, что в первой группе морских свинок, сенсибилизированных *M. intracellulare* через 24–48 часов, после введения аллергенов выявляется состояние ПЧЗТ на 10 ЕД КАМ, при отсутствии реакции на ППД для млекопитающих.

Во второй группе животных, сенсибилизированных *M. scrofulaceum* реакция ПЧЗТ через 24–48 часов в 100% случаев, регистрировалась на 10 ЕД КАМ. Аллергическая реакция на 5 МЕ ППД для млекопитающих была выявлена в 9 случаях из 10. При этом интенсивность реакции на КАМ в сравнении с ППД для млекопитающих была достоверно больше.

В группе морских свинок сенсибилизированных *M. fortuitum* в дозе 5 мг, через 24 и 48 часов, после введения аллергенов, определяется аллергическая реакцию на

Таблица. Оценка сенсибилизирующих свойств различных групп атипичных микобактерий
Table 2. Evaluation of the sensitizing properties of various groups of atypical mycobacteria

номер морской свинки	Сенсибилизация микобактериями											
	<i>M. intracellulare</i> (1 группа м/св)						<i>M. scrofulaceum</i> (2 группа м/св)					
	Учёт реакции на аллергены						Учёт реакции на аллергены					
	через 24 ч			через 48 ч			через 24 ч			через 48 ч		
	КАМ 10 ЕД	Критерий знака	ППД 5 МЕ	КАМ 10 ЕД	Критерий знака	ППД 5 МЕ	КАМ 10 ЕД	Критерий знака	ППД 5 МЕ	КАМ 10 ЕД	Критерий знака	ППД 5 МЕ
1	12,0	>	0	11,5	>	0	16,5	>	12,5	16,0	>	12,0
2	11,0	>	0	11,5	>	0	19,5	>	10,5	19,5	>	10,5
3	10,5	>	0	10,0	>	0	17,0	>	10,0	16,5	>	10,0
4	11,0	>	0	12,0	>	0	12,0	>	9,5	12,5	>	10,5
5	14,5	>	0	13,5	>	0	15,5	>	0	15,0	>	0
6	10,5	>	0	10,5	>	0	18,0	>	9,5	18,5	>	9,0
7	13,0	>	0	12,5	>	0	13,5	>	9,0	14,5	>	10,0
8	13,0	>	0	13,0	>	0	18,5	>	9,5	18,5	>	10,5
9	12,0	>	0	12,0	>	0	15,5	>	10,0	15,0	>	10,0
10	11,5	>	0	11,0	>	0	15,0	>	11,0	15,5	>	10,5
M±m	11,9±0,41	-	0	11,75±0,35	-	0	16,1±0,72	-	9,15±1,06	16,15±0,68	-	9,3±1,4
	Сенсибилизация микобактериями											
	<i>M. fortuitum</i> (3 группа м/св)						<i>M. bovis</i> (4 группа м/св)					
	Учёт реакции на аллергены						Учёт реакции на аллергены					
	через 24 ч			через 48 ч			через 24 ч			через 48 ч		
	КАМ 10 ЕД	Критерий знака	ППД 5 МЕ	КАМ 10 ЕД	Критерий знака	ППД 5 МЕ	КАМ 10 ЕД	Критерий знака	ППД 5 МЕ	КАМ 10 ЕД	Критерий знака	ППД 5 МЕ
1	10,0	>	0	9,0	>	0	13,0	<	14,0	13,0	<	14,5
2	12,0	>	0	11,0	>	0	11,0	<	15,0	12,0	<	14,5
3	11,0	>	0	12,0	>	0	11,5	<	14,0	12,0	<	14,0
4	10,5	>	0	11,5	>	0	14,0	<	16,0	13,5	<	15,5
5	11,5	>	0	12,5	>	0	13,0	<	16,0	12,5	<	15,0
6	12,0	>	0	13,0	>	0	11,5	<	13,0	13,5	<	14,0
7	10,5	>	0	9,5	>	0	12,0	<	15,0	12,0	<	14,5
8	9,5	>	0	11,5	>	0	14,0	<	16,5	13,5	<	16,0
9	8,5	>	0	10,5	>	0	13,5	<	15,5	14,5	<	15,0
10	12,5	>	0	12,5	>	0	10,5	<	12,5	11,5	<	13,5
M±m	10,8±0,4	-	0	11,3±0,42	-	0	12,4±0,4	-	14,45±0,51	12,8±0,3	-	14,35±0,36

КАМ и её отсутствие на ППД для млекопитающих. Поэтому используемая дозировка является приемлемой при исследовании микобактерий *M. fortuitum*.

В группе морских свинок сенсibilизированных *M. bovis* у всех животных выявлена аллергическая реакция на КАМ и ППД для млекопитающих. При этом, интенсивность реакции достоверно больше на ППД для млекопитающих, чем на КАМ, что свидетельствует об эффективности и специфичности используемых дозировок аллергенов.

Таким образом, полученные результаты исследований показывают, что микобактерии *M. scrofulaceum* (2 группа), *M. intracellulare* (3 группа) и *M. fortuitum* (4 группа) по классификации Раньена обладают выраженными сенсibilизирующими свойствами, при использовании дозы равной 5 мг.

Выводы

1. Определено, что нетуберкулёзные микобактерии разных групп, по классификации Раньена (2,3,4): *M. scrofulaceum*, *M. intracellulare*, *M. fortuitum* характеризуются не одинаковой сенсibilизирующей способностью. При этом *M. fortuitum* в сравнении с *M. scrofulaceum* и *M. intracellulare*, характеризуется меньшей сенсibilизирующей способностью.

2. При изготовлении комплексного аллергена из атипичных микобактерий предпочтительно применять наиболее часто выделяемые на территории РФ нетуберкулёзные микобактерии.

Литература

1. Лакин, Г.Ф. Биометрия/Г.Ф. Лакин. - М.: Высшая школа, 1990. - 352 с.
2. Найманов А.Х., Устинова Г.И., Толстенко Н.Г., Вангели Е.П., Кучерку О.Д. Экспериментальные данные по изучению сенсibilизирующих свойств атипичных микобактерий и близкородственных бактерий *Nocardia* и *Rhodococcus*/ Ветеринария и кормление № 6. 2015 г. С. 11-13.
3. Найманов А.Х. Проблемы диагностики и профилактики туберкулёза крупного рогатого скота в современных условиях/ Ветеринарная патология. -2004.-№1-2 (9). С.-18-23.
4. Найманов А.Х. Новые пути распространения и сенсibilизации крупного рогатого скота нетуберкулёзными микобактериями/ А.Х. Найманов, Н.Г. Толстенко, В.С. Суворов, О.В. Якушева// Труды ВИЭВ.-2010.-Т.76.-С.71-80.
5. Наставление по диагностике туберкулёза животных. Утверждено Департаментом ветеринарии Минсельхоза РФ 18 ноября 2002 г. - М. - 2002 г. - 63 с.
6. Овдиенко Н.П., Косенко В.И., Найманов А.Х. и др. Видовая принадлежность микобактерий, выделяемых от крупного рогатого скота и из объектов внешней среды/Проблемы туберкулёза.-1990.-№1.-С.46-48.
7. Ощепков В.Г. О значении симультанной аллергической пробы при диагностических исследованиях крупного рогатого скота на туберкулёз/ В.Г. Ощепков, Л.А. Талер, Н.И. Ивсянов, Г.М. Дюсенова// Сб. научн. Трудов ВНИИБТЖ.-2003.-С. 20-26.
8. OIE. World Organization for Animal Health. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals 2012. Chapter 2.4.7. Bovine tuberculosis. - Vol. 1. - 2012. http://www.oie.net/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm