

Федеральное Государственное Бюджетное Научное Учреждение
«Всероссийский научно-исследовательский институт
экспериментальной ветеринарии имени Я.Р.Коваленко»

На правах рукописи

СОШНИКОВА ЕКАТЕРИНА МИХАЙЛОВНА

**ДИНАМИКА БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ В СЫВОРОТКЕ
КРОВИ МЕЛКОГО РОГАТОГО СКОТА ПРИ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ЗАРАЖЕНИИ ТУБЕРКУЛЁЗОМ И
ПАРАТУБЕРКУЛЁЗОМ**

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

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель -
кандидат биологических наук, с. н.с. - Г.И.Устинова

Москва – 2016

ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ

ППД-туберкулин – сухой очищенный туберкулопротеин

КАМ – комплексный аллерген из атипичных микобактерий

АсТ – аспаргатаминотрансфериаза

АлТ – аланинаминотрансфериаза

ОГЛАВЛЕНИЕ

1. ВВЕДЕНИЕ.....	4
2. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	9
2.1. Краткая справка о туберкулезе мелкого рогатого скота.....	9
2. 1.1. Этиология туберкулеза	9
2.1.2. Диагностика туберкулеза	12
2.1.3. Патогенез	23
2.1.4. Заключение.....	25
2.2. Краткая справка о паратуберкулезе мелкого рогатого скота.....	25
2.2.1. Этиология паратуберкулеза.....	25
2.2.2. Диагностика паратуберкулеза.....	28
2.2.3. Патогенез.....	40
2.2.4. Заключение.....	42
3. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ	43
3.1. Материалы и методы.....	43
3.1.1. Туберкулез	46
3.1.2. Паратуберкулез	48
3.2. Результаты исследований.....	51
3.2.1. Экспериментальный туберкулез коз.....	51
3.2.2. Экспериментальный паратуберкулез овец и коз	59
3.4. Обсуждение результатов исследований.....	88
4. ВЫВОДЫ.....	103
5. ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ.....	104
6. СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ.....	105
7. ПРИЛОЖЕНИЯ.....	138

1. ВВЕДЕНИЕ

Общая характеристика работы

Актуальность темы. Туберкулез крупного и мелкого рогатого скота представляет собой одну из актуальнейших проблем инфекционной патологии сельскохозяйственных животных. Это заболевание наносит не только экономический ущерб сельскому хозяйству, но и, по-прежнему, остается социально-биологической проблемой, постоянно требующие проведения не только противотуберкулезных мероприятий, но и углубления теоретических знаний о сущности ответной реакции макроорганизма на возбудителя туберкулеза. Известно, что ведущая роль в развитии туберкулезного процесса принадлежит реактивности организма, поэтому считается более перспективным познание биохимических процессов реактивности и естественной резистентности животного к инфекциям. Однако до сих пор отсутствуют биохимические тесты, с помощью которых можно было бы прогнозировать тенденцию развития туберкулезного процесса.

В последнее время широко развивается козоводство. Коз разводят чаще в фермерских и индивидуальных хозяйствах, где они содержатся с крупным рогатым скотом и птицей, которые могут быть больными туберкулезом и являются источником возбудителя болезни для коз. Поэтому важен контроль за благополучием коз по туберкулезу.

Существует противоречивое суждение о восприимчивости коз к различным видам возбудителя туберкулеза. Длительное время существовало мнение о невосприимчивости или малой восприимчивости коз к возбудителю туберкулеза. А.С.Донченко (1990) считает, что козы резистентны к *M.tuberculosis*, а более восприимчивы к *M.bovis*. Н.П. Овдиенко с соавт. (2009), Найманов А.Х. с соавт. (200, 2014) подтверждают это мнение, что козы действительно более восприимчивы к бычьему виду, менее – к птичьему, и сравнительно устойчивы к человеческому виду микобактерий туберкулеза.

Возбудителем паратуберкулеза является *Mycobacterium avium*, subspecies *paratuberculosis*, который вызывает заболевание у крупного рогатого скота, овец, коз, верблюдов, северных оленей и других домашних и диких животных с характерным поражением желудочно-кишечного тракта. Паратуберкулез домашних животных распространен во многих странах мира, о чем свидетельствуют многочисленные данные зарубежной литературы. По данным МЭБ паратуберкулез зарегистрирован в 61 стране мира, в том числе и в нашей стране [208].

Паратуберкулез — хроническая инфекционная болезнь жвачных животных — характеризуется эпизоотологическими, патогенетическими и другими особенностями течения инфекционного процесса, изучению поддается с большим трудом. По мнению Щуревского В.Е и Овдиенко Н.П. (1985), а также Насынова Б.Б. (1995) до настоящего времени недостаточно определены причины и условия, при которых лишь у некоторых инфицированных животных возникает интенсивное размножение возбудителя и развивается своеобразная патология в кишечнике, нарушая его основные физиологические функции, что приводит к полному истощению и в конечном итоге летальному исходу.

В связи с указанным для детального изучения патогенеза данного заболевания нами поставлен эксперимент по воспроизведению паратуберкулезной инфекции на мелком рогатом скоте, с целью проследить за динамикой развития инфекционного процесса болезни.

Цель и задачи

Целью настоящей работы было изучение динамики количественных параметров биохимических показателей в сыворотке крови при экспериментальном заражении *Mycobacterium bovis* коз и *Mycobacterium avium*, subspecies *paratuberculosis* коз и овец в зависимости от стадии развития инфекционного процесса, с учетом аллергической и иммунологической реактивности зараженных животных.

В связи с этим были поставлены следующие задачи:

– изучить аллергическую реактивность подопытных экспериментально зараженных животных в динамике инфекционного процесса туберкулеза и паратуберкулеза;

– изучить динамику биохимических показателей сыворотки крови при туберкулезе коз и паратуберкулезе коз и овец;

– дать сравнительную оценку изменения биохимического состава крови мелкого рогатого скота при алиментарном и внутривенном заражении паратуберкулезом;

- дать сравнительную оценку изменения биохимического состава крови коз при туберкулезе и паратуберкулезе.

Научная новизна:

Представлена характеристика биохимического состава крови в динамике инфекционного процесса туберкулеза при экспериментальном заражении коз.

Определены количественные изменения в основных биохимических показателях сыворотки крови мелкого рогатого скота (козы, овцы) при различных способах заражения возбудителем паратуберкулеза в экспериментальных условиях.

Установлено, что степень изменений биохимических показателей крови мелкого рогатого скота зависит от метода заражения.

Установлено, что изменения биохимического состава крови у мелкого рогатого скота может служить дополнительным диагностическим тестом при дифференциации туберкулеза и паратуберкулеза.

Практическая значимость:

- Результаты исследований включены в «Методические рекомендации по диагностике микобактериальных инфекций», утвержденные отделением ветеринарной медицины РАСХН, 2012 г.

- Биохимическое исследование сыворотки крови позволяет оценить степень органного поражения организма возбудителем болезни на разных стадиях ее течения.

- Изменение биохимического состава крови происходит на ранних стадиях заблевания, поэтому регулярное и систематическое биохимическое исследование сыворотки крови в неблагополучных хозяйствах может служить одним из дополнительных методов диагностирования инфекций на ранних стадиях развития инфекционного процесса.

- Учитывая особенности изменений биохимических показателей сыворотки крови при туберкулезе и паратуберкулезе в динамике развития патологического процесса, их сходства и различия, исследование биохимического состава крови может служить дополнительным тестом при установлении диагноза и при дифференциации микобактериозов.

Апробация работы: Основные положения диссертационной работы доложены на Международной научно-практической конференции «Достижения супермолекулярной химии и биохимии в ветеринарии и зоотехнии», посвященной 80-летию кафедры биохимии ФГОУ ВПО МГАВМиБ (2008), Международной научно-практической конференции, посвященной 90-летию МГАВМиБ (2009). Основные положения, выводы и практические предложения, изложенные в диссертации обсуждены на межлабораторном совещании научных сотрудников ВИЭВ.

Публикации результатов исследования. По материалам диссертации опубликовано 7 научных работ, в т. ч. 4 статьи в научных журналах, рекомендованных ВАК Российской Федерации.

Личный вклад соискателя заключается в проведении биохимических исследований сывороток крови от опытных и контрольных животных по следующим показателям: общий белок, мочевины, креатинин, общий кальций, неорганический фосфор, общее железо, билирубин (общий и прямой), АсТ, АлТ, щелочная фосфатаза, общий холестерин, триглицериды; анализе, обобщении и интерпретации полученных результатов собственных исследований; в подготовке научных публикаций.

Автор выражает глубокую благодарность за оказание научно-методической помощи д.б.н., профессору В.Ф. Полякову и д.в.н, профессору А.Х.Найманову, к.в.н. Толстенко Н.Г.

В выполнении отдельных этапов работы, связанных с клиническим осмотром животных, проведении туберкулинизации, экспериментального заражения опытных животных принимали участие к.в.н. В.А. Сидорчук, к.б.н. С.Н.Степновой и в проведении патоморфологических исследований - к.в.н В.С.Суворову и к.в.н.О.В. Якушевой, за что автор также приносит им свою благодарность.

Основные положения, выносимые на защиту:

— данные, полученные при экспериментальном заражении коз *Mycobacterium bovis*; динамика биохимических показателей крови коз и их интерпретация;

— результаты, полученные при экспериментальном заражении овец и коз *Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis*; динамика биохимических показателей крови овец, коз и их интерпретация;

— сравнительная оценка различных методов экспериментального заражения живой культурой паратуберкулеза мелкого рогатого скота.

— сравнительная оценка изменения биохимического состава крови мелкого рогатого скота при туберкулезе и паратуберкулезе.

Объем и структура диссертации . Диссертация изложена на 139 страницах, и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов исследования, их обсуждения, выводов и списка литературы в количестве 335 источников, из них 217 отечественных и 118 зарубежных. Диссертация иллюстрирована 7 таблицами и 32 рисунками.

2. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

2.1. Краткая справка о туберкулезе мелкого рогатого скота

Туберкулез – инфекционная болезнь животных и человека, вызываемая, микобактериями туберкулеза, характеризующая поражением органов и тканей с образованием в них специфических туберкулов, подвергающихся казеозному некрозу и протекающая преимущественно хронически.

Туберкулез известен с древних времен и регистрируется во всех странах мира. Возбудителя туберкулеза открыл Р.Кох в 1882 году. tuberculosis, который имеет три основны

Возбудитель микобактерий: человеческого (*M. tuberculosis*), бычий (*M. bovis*) и птичий (*M. avium*), существует также возбудитель хладнокровных [43,121,182].

Морфологические свойства указанных видов микобактерий во многом сходны и представляют собой прямые или изогнутые палочки, длина их 1,5 - 5 мкм, ширина – 0,2-0,5 мкм, спор и капсул не образует [10, 52,88,122].

Патогенные свойства микобактерий не одинаковы по отношению к животным и человеку [20,47,99,121, 275].

Для мелкого рогатого скота наиболее патогенен возбудитель туберкулеза бычьего вида. Это подтверждено лабораторными исследованиями патологического материала, взятого от больных коз и овец [21,27,49,60,159,142,144,253,252], но возможно и инфицирование микобактериями туберкулеза человеческого и птичьего типов [46,154,201].

2.1.1. Этиология туберкулеза

В настоящее время туберкулез продолжает оставаться одной из сложных проблем инфекционной патологии в большинстве стран мира.

Так в последние годы отмечается увеличение заболеваемости людей туберкулезом во многих странах мира. Поэтому, учитывая сложившую обстановку по туберкулезу в мире, Всемирная организация здравоохранения и Международный союз борьбы с туберкулезом объявили туберкулез

«Проблемой всемирной опасности» и «экокологическим бедствием XX века», а 24 марта - Всемирным днем борьбы с туберкулезом.

Микобактерии туберкулеза бычьего вида (*M.bovis*) являются основным возбудителем туберкулеза крупного рогатого скота, но они патогенны для других домашних, диких животных, плотоядных животных, морских свинок, кроликов и человека.

О распространении туберкулеза судят в основном по данным аллергических исследований и послеубойной экспертизы.

Исследования, проведенные в нашей стране, показали, что мелкий рогатый скот болеет туберкулезом чаще, чем принято считать [161, 186,183,161,201,205]

Большинство исследователей подчеркивают, что козы и овцы заболевают туберкулёзом при совместном содержании с большим крупным рогатым скотом [60,86,121,133,144,161]. В условиях экстенсивного животноводства возможности передачи возбудителя меньше, так как козы содержатся в основном на пастбищах [4,67, 74,75, 183].

Н. Савов и соавт. [219] провели исследования в благополучных по туберкулезу крупного рогатого скота хозяйствах и выявили 122 овцы, реагирующие на туберкулины для млекопитающих и для птиц. При исследовании патологического материала убитых коз выделили возбудителей туберкулёза *M.bovis*.

Исследования С. Кельдыбаева [67] и А.С. Донченко и соавт.[47] показали, что больные туберкулезом овцы играют определенную роль в эпизоотологии туберкулеза крупного рогатого скота, коз, а также могут быть источником заражения людей, так как они являются бактериовыделителями.

У больных туберкулёзом коз чаще всего выделяли микобактерии туберкулёза бычьего вида [189,162,154,61,158,42,160]. Т. Schliesser [315] ; M.N. Tag el Din [319,46,252] выделяли микобактерии туберкулеза птичьего вида, а микобактерии туберкулеза человеческого видов выделяли

[99,47,310,273]. М. Keyhani, [273] выделял *Mycobacterium tuberculosis* в молоке экспериментально зараженных туберкулезом овец.

Частота заражения и распространения *M. bovis* у коз колеблется в зависимости от местных условий и контактов с основным хозяином – крупным рогатым скотом [205]. Источником возбудителя инфекции у коз были туберкулезные куры или дикие птицы.

Однако Р.О. Драбкина и В.А. Равич-Щербо [51] полагали, что козы нечувствительны к возбудителю туберкулеза человеческого вида, обладают небольшой чувствительностью к возбудителю туберкулеза птичьего типа и чувствительны к микобактериям туберкулеза бычьего вида. У козлят микобактерии туберкулеза бычьего вида вызывают распространенные изменения, приводящие к смерти; микобактерии туберкулеза человеческого вида обуславливают только местные изменения или вовсе не вызывают их.

В современной медицине коз используют в качестве доноров для получения препаратов иммуноглобулинов, получаемых из иммунной плазмы крови животных [36,37,14,56] К таким препаратам относятся антитимоцитарные иммуноглобулины (АТГАМ, США; АТГ-Фрезениус, Германия; Тимоглобин, Франция; Антилимфолин, Россия), обладающие выраженным иммуносупрессивным действием и применяемые для лечения апластической анемии, реакций отторжения при пересадке органов и тканей.

При экспериментальном заражении овец установлено, что они более восприимчивы к возбудителю туберкулеза бычьего вида Н.Савов, [119]

Отмечена возможность заражения овец возбудителем туберкулеза птичьего и человеческого видов [162,188,189,42]

Генерализованный туберкулез овец описали В. Whitty и соавт. [292].

Р. Л. Кадымов с соавт. [60] изучали патогенную роль возбудителя *M.tuberculosis* для овец. Во внутренних органах и лимфатических узлах установили патологоанатомические изменения, характерные для туберкулеза. Прогрессирование процесса наблюдалось в пределах поражённого органа. Установлен факт заболевания здоровых овец при контакте с больными, что

свидетельствует о миграции микобактерий туберкулёза человеческого вида от больных животных к здоровым.

Ю.Я. Кассич и соавт. [66] изучали восприимчивость овец к *M.kansassii*, *M.scrofulaceum*, *M.intracellulareae* и *M.fortuitum* и показали развитие у них свойственных туберкулёзу поражений, сенсибилизации к туберкулёзу и выработку в высоких титрах комплементсвязывающих антител.

А.Н. Шаров [196,197] выявил, что у мелкого рогатого скота, экспериментально заражённого возбудителем туберкулёза различных видов и нетуберкулёзными (атипичными) микобактериями I, II и III групп по классификации Раньона, развивается состояние аллергии, проявляющееся в реакциях туберкулёзного типа на внутрикожное введение гомологичных и гетерологичных аллергенов.

Таким образом, результаты исследований по чувствительности мелкого рогатого скота к разным видам возбудителя туберкулёза неоднозначны.

Большинство исследователей [62,162,106,107,68,59,163] считают, что для овец и коз более патогенны микобактерии туберкулёза бычьего вида, менее – птичьего и весьма слабо патогенны микобактерии туберкулёза человеческого вида. Отмечены случаи генерализованного туберкулёза у овец [292,60], обусловленного *M.bovis*, а также *M. tuberculosis*. При заражении овец *M.avium* отмечают патологоанатомические изменения, характерные для туберкулёза [189,49]. Тырина В.С. (1979) считает, что этот вид возбудителя обуславливает у овец, в основном, сенсибилизацию организма и возникновение реакций на туберкулин. Показана и сенсибилизирующая роль у овец атипичных микобактерий

2.1.2. Диагностика туберкулеза

2.1.2.1. Аллергическая диагностика туберкулёза мелкого рогатого скота

В основу аллергической диагностики туберкулёза мелкого рогатого скота положен феномен Коха (1891) о повышенной чувствительности

зараженных животных к повторному парентеральному введению микобактерий туберкулёза.

В.М.Авилов с соавт. [5] полагают, что успех борьбы с туберкулезом сельскохозяйственных животных во многом зависит от эффективности его диагностики. В настоящее время ветеринарной практикой принят и узаконен комплексный подход при диагностике животных, включающий эпизоотологические и клинические методы, методы иммунологических (аллергических и серологических), патоморфологических и бактериологических (биологических) исследований.

Основным методом туберкулинизации является туберкулиновая проба. Эффективность этой пробы зависит от места введения, дозы и объема туберкулина, физиологического состояния животных.

Согласно наставлению по применению туберкулинов [136, 179] для аллергической диагностики туберкулёза млекопитающих и птиц аллерген вводят внутрикожно млекопитающим в область шеи, а мелкому рогатому скоту вводят внутрикожно на внутренней поверхности бедра или локтевой складки. По мнению многих исследователей это место внутрикожного введения туберкулина является лучшим [1,51,55,68,169,201].

По данным А.Б. Бояхчан, [27] и О.Г. Тер-Ованесовой [178] наиболее удобными местами введения туберкулина у овец и коз являются надколенная складка и бесшерстный участок за локтевым суставом. Здесь легко проверить точность введения препарата и заметить даже незначительную реакцию, которая наступает раньше, чем у крупного рогатого скота, т.е. на 24 – 48 часу уже обнаруживали максимальное утолщение кожной складки, и к 72 часам реакция затухала.

М.К. Юсковец [216] исследовал овец и коз однократным внутрикожным введением туберкулина в бесшерстную кожу на внутренней стороне правого и левого бедра и на наружной стороне уха. Результаты исследований показали, что через 24 часа у туберкулёзных овец и коз на месте введения туберкулина наблюдали незначительное покраснение и

небольшой отек, постепенно увеличивающийся к 48 – 72 часам.

Оптимальной дозой является 0,1 мл туберкулина, учет реакции проводили через 48 часов после введения аллергена.

А.С. Донченко и соавт. [49] считают, что наиболее удобным местом введения и читки внутрикожной реакции является кожа верхней наружной части уха. Авторы исходили из того, что в области уха кожа обычно тонкая, эластичная, лучше сохранена. Слаборазвитая подкожная клетчатка и наличие хряща способствует более рельефному выпячиванию воспалительного отека, что облегчает учет реакции. ППД туберкулин для млекопитающих является более специфичным аллергеном при исследовании мелкого рогатого скота, зараженных микобактериями туберкулёза бычьего и человеческого видов, чем альттуберкулин.

I. Drasan [253] также считает возможным введение овцам и козам туберкулина в кожу бедра и уха.

П.И. Кокуричев [74] предлагал мелкому рогатому скоту вводить туберкулин подкожно в подхвостовую складку двукратно и учет реакции производят через 48 и 72 часа.

А. Н. Шаров [86] испытал интрапальпебральную туберкулиновую пробу у овец, зараженных возбудителем туберкулеза бычьего и птичьего видов, а также атипичными микобактериями 1,2 и 3 групп по классификации Раньона. Автор считает, что интрапальпебральная проба у мелкого рогатого скота является эффективным методом определения сенсibilизации организма животных к микобактериальным аллергенам и превосходит по чувствительности, простоте выполнения и четкости реакции внутрикожную пробу (в области внутренней поверхности бедра, подхвостовой и локтевой складки).

Приведенные данные показывают разнообразие результатов исследования по эффективности разных мест введения туберкулина мелкому рогатому скоту при аллергической диагностике туберкулёза [1,160] .

В последнее время появились работы по совершенствованию аллергической диагностики у крупного рогатого скота [105,110], изготовлению моноштаммных туберкулинов для диагностики туберкулеза [79,81,82,94,184,185]. Некоторые исследователи считают, что в процессе изготовления туберкулина не происходит глубокой биологической очистки, так как технологический регламент не может обеспечить стерильности и специфичности препарата [94,34]. Комиссионная проверка коммерческих серий туберкулина (ППД) для млекопитающих отечественного производства подтвердила их эффективность и специфичность [71, 149].

2.1.2.2. Серологическая диагностика туберкулеза

Серологические методы для прижизненной диагностики туберкулеза животных предлагались многими исследователями [64,66,92,93]. Наиболее изученным методом такой диагностики является реакция связывания комплемента. При этом в качестве антигена использовались микобактерии туберкулеза.

Первый наиболее чувствительный и специфический антиген приготовили Кальметт и Массоль (1911).

А.В. Говоров [37] отмечает, что методика РСК при туберкулезе крупного рогатого скота специфична, и ее можно использовать, как дополнительный диагностический тест, а ее показания полностью зависят от используемого антигена.

Ю.Я. Кассич [66] предложил комплексный туберкулезный антиген (КТА УНИИЭВ). По его данным положительные реакции с этим антигеном в диагностическом титре имели место в среднем у 15 – 18 % животных. У 96% серопозитивных животных на вскрытии во внутренних органах и лимфоузлах обнаружены туберкулезные поражения.

Э.Д.Лакман [92] разработали и апробировали в ветеринарной практике антиген, полученный из микобактерий путем воздействия на них фенола.

А.Г. Кравец с соавт. [86] рекомендуют применять РСК с антигеном СибНИВИ в комплексе с другими методами при первичной диагностике туберкулеза и дифференциации парааллергических туберкулиновых реакций.

Кроме того, для диагностики туберкулеза предлагались следующие диагностические тесты: реакция диффузионной преципитации в агаровом геле (РДПА), реакция непрямого гемагглютинации (РНГА), реакция бласттрансформации лейкоцитов (РБТЛ), реакция торможения миграции клеток и ИФА [45, 94, 135, 151, 152, 153]

В последнее время большое внимание уделяется комплексному применению серологических и иммунологических методов диагностики туберкулеза [2, 15, 17, 23, 24, 28, 31, 32, 83, 98, 100, 101, 107, 108, 191, 192, 195] .

2.1.2.3. Бактериологическая диагностика

В лабораторной практике основными методами выявления микобактерий туберкулеза являются: бактериоскопический, культуральный и биопроба.

Культуральный метод исследования материала для обнаружения и идентификации выделенных культур микобактерий имеет решающее значение для правильной оценки эпизоотической ситуации и проведения оздоровительных мероприятий.

Биопробу применяют для обнаружения возбудителя болезни в исследуемом материале и определения его видовой принадлежности.

Исследователи отмечают трудности выделения возбудителя туберкулёза от мелкого рогатого скота.

Так, А.Б. Бояхчан [27]; О.Г. Тер-Ованесян [178] исследуя патологический материал микроскопией пораженных участков органов, во всех случаях обнаруживали микобактерии, однако непосредственно культуру не выделяли. Выделить культуру возбудителя удалось только путем первого – третьего пассажа на морских свинках. Рост микобактерий из материала морских свинок на твердых питательных средах появлялся на 5 – 6 неделях в

виде единичных скудных колоний беловато-желтого цвета [10, 29, 40]. Рост последующих генераций наблюдался в виде отдельных скоплений или пышных налетов на третьей неделе. Колонии были сухие, шероховатые (R-форма), с трудом отделялись от поверхности среды и плохо эмульгировались в физиологическом растворе. Вирулентность культур была снижена.

С. Кельдыбаев [67], Я.А. Благодарный [21]; Е.А. Кривцова [88] отмечают, что даже при наличии туберкулёзных изменений в органах обследованных животных, трудно выделить микобактерии туберкулёза на питательных средах. Получить культуру возбудителя удалось лишь посредством биопробы на морских свинках. Почти во всех случаях у морских свинок, погибших в течение первых двух месяцев после заражения или убитых, процесс протекал септически, без видимых бугорковых поражений. У этих животных наблюдали небольшие увеличения селезенки и печени с застойными явлениями. Единичные бугорки отмечались лишь в последующих пассажах. В дальнейшем для изучения видовой принадлежности выделенных культур в эксперимент были включены и кролики.

Классические поражения внутренних органов у морских свинок и кроликов в виде генерализованного туберкулёза были получены лишь при заражении чистыми культурами первого и второго пассажа.

А.С. Донченко [49] исследовал материал от естественно зараженных туберкулезом овец и выделил 16 культур микобактерий бычьего и 4 – человеческого видов. Микобактерии туберкулеза бычьего вида, выделенные из биоматериала естественно зараженных овец, росли на среде Гельберга в течение 27 – 44 суток. Морские свинки пали через 79 – 82 суток после заражения, а кролики – через 82 – 90. Из 32 лабораторных животных у 10 на вскрытии был установлен генерализованный туберкулёз, у остальных – множественные некротические очаги во внутренних органах. При посеве на питательную среду биоматериала от убитых животных рост их появлялся в среднем на 29-е сутки.

Культуры возбудителя туберкулеза бычьего вида, выделенные из биоматериала от экспериментально зараженных овец, росли на питательной среде в среднем на 28-е сутки. Морские свинки пали после заражения на 78 – 83-и, а кролики – на 77 – 87-е сутки. У лабораторных животных на вскрытии был установлен генерализованный туберкулез. Из их органов эта культура микобактерий была выделена на среде Гельберга на 22-е сутки.

Автор подчеркивает, что возбудители туберкулеза бычьего и человеческого видов, выделенные от естественно зараженных овец и коз, менее вирулентны, чем эталонные штаммы этих видов возбудителя.

2.1.2.4. Патоморфологическая диагностика.

Течение и патологоанатомические изменения при туберкулёзе зависят от резистентности организма и условий окружающей его среды, вирулентности и концентрации возбудителей, пути заражения и стадии инфекционного процесса к моменту убоя животного.

Патологоанатомические изменения при туберкулёзе весьма разнообразны. Процесс может протекать в виде экссудативных изменений с появлением некроза или пролиферативных воспалительных процессов с разрастанием соединительнотканых элементов (эпителиоидные, лимфоидные и гигантские клетки [206, 211,217,253,309]. При установлении диагноза на туберкулез макроскопическая картина поражений в органах, лимфоузлах имеет решающее значение. [201].

2.1.2.5. ПЦР-диагностика

Одним из современных и перспективных методов выявления микобактерий туберкулёза является метод ДНК-гибридизационного зондирования и полимеразной цепной реакции (ПЦР).

В зарубежной и отечественной литературе имеются сообщения об успешном применении ПЦР при диагностике многих инфекционных болезней, в том числе и по изучению возможности применения ПЦР при

диагностике туберкулёза животных [128,129, 198,199,109, 303,]. Несмотря на большое количество публикаций по изучению диагностического значения ПЦР при туберкулезе крупного рогатого скота, единого мнения о диагностической ценности и возможности ее применения при диагностике туберкулёза крупного рогатого скота неимеется.

Применение ПЦР для послеубойной диагностики туберкулёза экспериментально зараженных различными видами микобактерий коз позволяет обнаружить ДНК возбудителя туберкулёза в патматериале при наличии или отсутствии видимых патологоанатомических и патологоморфологических изменений [97] .

В связи с указанным с учетом эпидемической и эпизоотической ситуации по туберкулёзу в нашей стране, недостаточную изученность вопросов диагностики, длительность, трудоемкость и сравнительно низкую эффективность классических методов прижизненной и лабораторной диагностики этого хронического заболевания, дальнейшее совершенствование и изучение возможности применения различных модификаций ПЦР при диагностике туберкулёза у крупного рогатого скота и других видов животных является своевременным и актуальным.

2.1.2.6. Биохимическая диагностика туберкулёза

На зависимость изменений в белковом составе сыворотки крови животных от характера и интенсивности патологического процесса в организме указывает большое количество авторов.

При туберкулёзе А. Rzentkowski (1905) установил нормальные показатели остаточного азота крови, в то время как G. Burgnoffer (1924) отметил некоторое его повышение у крупного рогатого скота, больного туберкулёзом.

F. Pezzangora (1936) показал, что у кроликов, экспериментально зараженных возбудителем туберкулёза бычьего и птичьего вида, происходит повышение уровня остаточного азота в течение недели.

Г. Ф. Коромыслов [85] показал, что изменения биохимических показателей наиболее выражены при инфицировании животных микобактериями туберкулёза бычьего вида. При этом степень биохимических изменений находится в зависимости от характера туберкулёзного процесса. Так, в сыворотке крови животных, больных туберкулёзом, установлено накопление глобулинов, которое чаще всего сопровождается уменьшением количества альбуминов. При генерализованном течении туберкулёзного процесса выявлено наиболее значительное увеличение гамма-глобулинов (до 50 % всех сывороточных белков). Содержание общего белка при этом было увеличено. Наряду с этим при длительном течении туберкулёзного процесса у животных чаще всего отмечалась положительная РСК.

Общее количество гликопротеидов в сыворотке крови увеличивалось в основном, за счет накопления альфагликопротеидов.

Показатель активности каталазы крови был значительно снижен у животных с тяжелым туберкулёзным процессом.

После введения туберкулинов животным, инфицированным микобактериями туберкулёза бычьего вида, наступало увеличение альфа- и гамма-глобулинов, а также уменьшение альбуминов, количество остаточного азота, как правило, увеличивалось.

Изменения в биохимическом составе крови у животных, дважды инфицированных микобактериями туберкулёза человеческого типа, были временными и незначительными.

После однократного заражения животных микобактериями туберкулёза птичьего вида, наблюдалось увеличение количества бета- и гамма-глобулинов, а также положительная РСК. В сыворотке крови таких животных несколько увеличивалось содержание гликопротеидов.

Появление слабо выраженных туберкулиновых реакций, может наблюдаться в зимнее-весенний период у больных туберкулёзом животных вследствие белковой недостаточности. Об этом свидетельствует низкий уровень содержания белка в сыворотке крови.

Рудой Н.М. [160] на основании своих наблюдений, связывает увеличение альфа-глобулиновой фракции с инфильтративной фазой туберкулёзного процесса. В то же время он не установил полного параллелизма между пролиферативным типом тканевой реакции при туберкулёзе и увеличением уровня гамма-глобулинов при неблагоприятном течении болезни, которое он объясняет поступлением в кровь патологических белков, подвижность которых совпадает с подвижностью гамма-глобулинов.

На увеличение количества гамма-глобулинов и снижение уровня альбуминов при туберкулёзе крупного рогатого скота также указывает [83, 86, 331].

W. Weber (331) наблюдал случаи, когда кожная проба на туберкулин не давала реакции, а электрофоретическая картина белков крови была характерна для заболевания туберкулёзом, и диагноз в дальнейшем подтверждался патологоанатомическим вскрытием.

В.М.Красов [86] исследуя крупный рогатый скот, реагирующий на туберкулин, часть из которого имела клинические признаки туберкулёза, установил, что в белковом составе крови происходят изменения, характеризующиеся уменьшением содержания альбумина и бета-глобулина и увеличением уровня гамма-глобулинов. Автор считает, что степень указанных изменений прежде всего зависит от интенсивности течения процесса: чем активнее протекает заболевание, тем сильнее выражены изменения в соотношении белковых фракций крови.

Б.А. Никаноров [116], исследуя белковый состав сыворотки крови крупного рогатого скота, экспериментально зараженного возбудителем туберкулёза птичьего типа, не установил резких изменений в количественном содержании белка и белковых фракций. У зараженных животных наблюдал небольшое увеличение количества бета- и гамма-глобулинов (на 1 – 4 %), за счет соответственного снижения уровня альбуминов и альфа-глобулинов. Подобное незначительное изменение белковой картины крови автор считает показателем доброкачественного течения патологического процесса.

В. Н. Донченко [48] установила, что у больного туберкулёзом крупного рогатого скота количество остаточного азота в сыворотке крови было выше, чем у здоровых. Этот факт автор объясняет повышенным распадом белка и деструкцией тканей под влиянием туберкулёзного процесса.

Одним из важнейших окислительно-восстановительных ферментов крови является каталаза, функцией которого является его антиоксидантная активность в защите организма от различных заболеваний, в том числе и при туберкулезе.

Д. Белчев [218] используя с некоторой модификацией методику каталазной пробы Грифона, применяемую для диагностики кишечной формы туберкулёза человека, установил, что высота столбца пены суспензии из испражнений у заведомо больных туберкулёзом коров значительно выше, чем у здоровых животных.

Также при туберкулёзе животных имеет большое значение определение липазы. С ухудшением состояния организма при туберкулёзе снижается и липолитическая активность крови [57].

Также содержание минеральных элементов крови (кальция, магния и неорганического фосфора) имеет важное значение при патологических процессах в организме животных. Большая часть фосфора находится в соединении с кальцием и магнием, поэтому обмен этих элементов тесно связан между собой. Уменьшение содержания кальция при туберкулёзе крупного рогатого скота было отмечено Н.М. Климовым [69].

2.1.3. Патогенез туберкулеза

Самый характерный патологоанатомический признак туберкулёза – очаговое изменени – туберкул (бугорок), который дал название болезни – туберкулёзу.

В классической форме туберкул имеет типичное строение: в центре его располагается некротический очаг, нередко с отложением извести, а по периферии грануляционная ткань, состоящая из двух зон (поясов): зоны эпителиоидных, гигантских клеток и зоны лимфоидных клеток [206,211,212].

Ф. Гутира и И. Марек [44] отмечали, что у мелкого рогатого скота патологические изменения в основном похожи на изменения у крупного рогатого скота. На серозных оболочках у них также образуются жемчужные образования и ворсинчатые разрастания. Местом локализации могут быть также вымя и семенники. В противоположность картине болезни других млекопитающих, у овец в туберкулах не наблюдается постепенного омертвления, творожистого перерождения и обызвествления, так как туберкулёзные узлы у них большей частью находят уже обызвествленными с фиброзно-мозолистым ободком. Встречаются и генерализованные формы, туберкулёзный менингит у ягнят и туберкулёз позвонков.

В.В. Федоров [186] отмечает, что у овец, заразившихся в естественных условиях, генерализованных форм туберкулёза не отмечено. Характерной для туберкулёзного процесса у овец является интенсивная петрификация не только старых инкапсулированных очагов, но и молодых, лишенных капсулы.

П.И. Кокуричев [74], В.И. Ротов [161], В.П. Шишков и соавт. [206] считают, что у мелкого рогатого скота первичное поражение чаще наблюдается в легких в виде полного или неполного первичного комплекса, в последнем случае в бронхиальных или средостенных лимфатических узлах по типу диффузной реакции с последующим некрозом и казеозным перерождением центральных участков грануляционной ткани. Пораженный лимфоузел пронизывается неправильной формы беловатыми очажками, в которых вкраплены бело-желтые гнезда казеозных масс с крупинками извести.

Однако встречается поражение туберкулёзом печени, селезенки, вымени и других органов. Изменения в таковых во многом сходны с изменениями при туберкулёзе крупного рогатого скота [186,27,178,67,181]

обнаружили, что чаще поражаются легкие в виде единичных и множественных очагов казеозного некроза, находящихся в состоянии петрификации, инкапсуляции. Но встречались и единичные случаи поражения печени, где обнаружены инкапсулированные сильно обызвествленные очаги казеозного некроза с наличием бугорков эпителиоидно-лимфоидного типа. Нередко вокруг очагов обнаруживали рубцовую ткань.

А.С. Донченко [49] при убое больных туберкулёзом овец обнаружил во всех случаях туберкулёзные изменения во внутренних органах и лимфоузлах. У 49,3 % овец поражения локализовались в средостенных лимфоузлах. Они имели вид творожистого лимфаденита с бугорковыми поражениями и иногда достигали больших размеров. У 25,3 % - в средостенных лимфоузлах и печени крупноочаговые поражения, у 6 % - генерализованная форма туберкулёза.

Ю.Я. Кассич и соавт. [65] изучали патологоанатомические изменения у баранов, привитых внутримышечно культурами живых атипичных и убитых автоклавированием патогенных микобактерий. Установили, что *M. kansasie*, *M. scrofulaceum*, *M. intracellularea* и *M. fortuitum*, а также *M. bovis*, *M. avium* и *M. tuberculosis* вызывают развитие свойственных туберкулёзу изменений. Наиболее выраженные поражения у баранов были одновременно в легких, в подвздошных лимфоузлах,

При дифференциальной диагностике отмечают сходные с туберкулезом поражения, вызванные псевдотуберкулёзом, актиномикозом, плесневыми грибами, гельминтами [201], которые дифференцируются гистологическим исследованием.

Итак, наличие характерного строения узелков с эпителиоидными и гигантскими клетками, обнаружение кислотоустойчивых бактерий в них являются надежными показателями для морфологической диагностики туберкулёза.

2.1.4. Заключение

Из данных литературы видно, что заболевание считается установленным при обнаружении у животных патологоанатомических изменений, характерных для туберкулеза, выделение возбудителя культуральным методом, наличии положительной биопробы у лабораторных животных, то есть, при подтверждении патогенных свойств возбудителя. В связи с этим прижизненная диагностика туберкулеза возможна лишь при комплексном эпизоотологическом и диагностическом подходе, включающем эпизоотологические, аллергические и серологические, патоморфологические и бактериологические методы исследования.

2.2. Краткая справка о паратуберкулёзе мелкого рогатого скота

Паратуберкулез – хроническое заболевание домашних и диких жвачных животных, характеризующееся устойчивой диареей, прогрессирующим истощением и другими признаками, характерными для хронического энтероколита, вызванная *M. paratuberculosis*.

2.2.1. Этиология паратуберкулеза.

Впервые болезнь описал у крупного рогатого скота профессор Дрезденского ветеринарного института Альберт Ионе и его американский ассистент Лангдон Фротингейм в 1895 г., затем Вукович в 1908 г. установил эту болезнь у овец в Югославии. Болезнь эта регистрируется более чем в 60 странах мира [241, 272, 276, 301, 302, 312, 316].

T. Twort and G. Ingram [329] впервые отметили что, зараженные внутривенно культурой *M. paratuberculosis* козы заболевают паратуберкулезом.

Pande [298, 299] отметил вспышку паратуберкулеза в стаде коз в штате АССам (Индия). В Японии паратуберкулез среди ангорских коз отметили M. Eveleth and D. Eveleth [256].

В России паратуберкулез до 1914 г. не отмечали.

В дальнейшем паратуберкулез мелкого рогатого скота описали К.А. Дорофеев и П.А. Калачев [50], а в последующем В.В. Корнеев [77], Б.Б. Насынов [112]

К.А. Дорофеев и П.А. Калачев [50] наблюдали паратуберкулез у индийского зебу, гибрида сероукраинского скота с аравийским зебу и антилопы канна. О паратуберкулезе у зебу сообщает также И. Катич [272].

А.П. Аликаева [11, 12], А.И. Бороденок [26], И.В. Поддубский [155] подробно описали клинические признаки, патолого-анатомические и гистологические изменения и бактериологическую диагностику паратуберкулеза животных, а В.В. Корнеев [77] эпизоотологию, морфологические и биологические свойства возбудителя при паратуберкулезе северных оленей.

И. Катич [272] описал случай паратуберкулеза миниатюрных африканских коз, у гривастых африканских баранов и муфлонов

В других литературных данных описаны случаи паратуберкулеза у свободноживущих снежных баранов и одной горной козы выделили M. Paratuberculosis в фекалиях индийского оленя и лани. На территории неблагоприятной в течение 6 лет по паратуберкулезу крупного рогатого скота, и выделили M. Paratuberculosis из брыжеечных лимфоузлов, подвздошной кишки и илеоцекальной заслонки из брыжеечных узлов оленя. Однако характерных поражений и кислотоустойчивых микобактерий не находили [221, 232, 259, 282]. Авторы заключают, что инфицированные олени могут явиться источником инфекции для домашних животных.

J. Rankin [307] вызвал экспериментальный паратуберкулез у двух телят путем заражения культурой возбудителя паратуберкулеза, выделенной от лошади. A. Larsen et al. [278] отмечали, что внутривенно и алиментарно

зараженные поросята отставали в живом весе от других животных помета. При вскрытии и гистологическом исследовании материалов от этих поросят находили диффузные гранулематозные воспалительные процессы в тонком отделе кишечника и регионарных лимфоузлах, однако ни у одного животного не наблюдали диареи.

D. Eveleth, R. Gifford [256] отмечали, что 32% свиней из ферм, неблагополучных по паратуберкулезу крупного рогатого скота, реагировали на Ионин. Культуру микобактерий паратуберкулеза от поросенка также выделили C. Thoen et al. [321].

A. Larsen [278], J. Miller [288] вызвали экспериментальный паратуберкулез у аляскинских копытных леммингов.

В отечественной литературе имеются сведения о заболевании паратуберкулезом других видов животных. О заболевании свиней сообщил В.С. Киселев [68], паратуберкулез верблюдов описал Хон Ф.К. [193].

К.А. Дорофеев и Л.А. Калачев [50] наблюдали паратуберкулез у зебу и его гибридов, а также у антилопы канна.

Таким образом, зарубежными и отечественными исследователями установлено, что к заболеванию паратуберкулёзом восприимчивы все виды крупного и мелкого рогатого скота, а также и дикие животные, обитаемые в дикой природе на различных континентах планеты.

Следовательно, данная инфекционная патология у животных имеет широкое распространение [112, 124, 203, 208, 299, 322] и приносит значительный экономический ущерб [230].

D.E. Thompson [323] отмечает возможность заражения паратуберкулезным энтеритом человека (болезнь Крона).

В связи с этим, в последние годы проблема распространения паратуберкулёза и экономического ущерба, связанного с этой инфекцией стоит достаточно остро.

2.2.2. Диагностика паратуберкулеза.

2.2.2.1. Аллергический метод диагностики.

Аллергический метод диагностики паратуберкулёза с помощью птичьего туберкулина предложен О. Бангом [226] в 1909 году.

T. Twort and G. Ingram [329] из выращенной культуры возбудителя паратуберкулёза изготовили препарат Ионин и сообщили, что он надежнее птичьего туберкулина.

Диагностическую ценность аллергена Ионина подтвердили В.И. Ротов и соавт. [161] и М.П. Новикова [123].

Сравнительную проверку Ионина и птичьего туберкулина в течение ряда лет проводили Hagan and Zeissia [262], которые установили, что птичий туберкулин равнозначен Ионину, но внутривенное применение этих препаратов даёт лучшие результаты, чем подкожное и внутрикожное.

А.Х. Найманов и соавт. [111, 113] проводили сравнительное изучение диагностической ценности различных ионинов, изготовленных в ВИЭВ и ППД и альтуберкулинов для птиц в неблагополучных по паратуберкулезу хозяйствах. Результаты исследований не показали преимущество ионинов перед АТК и ППД туберкулинов для птиц. Поэтому, авторы считают, что при диагностике паратуберкулеза у крупного рогатого скота следует применять внутрикожное введение ППД туберкулина для птиц в дозе 2500 ТЕ. Реагирующими следует считать животных с увеличением кожной складки на 6 мм и выше.

А.И. Бобашинский [23] считал, что паратуберкулин П.П. Вишневого не является достаточно активным и птичий туберкулин является единственным средством диагностики.

М.П. Новикова [123] предложила паратуберкулин, приготовленный из 4-х местных штаммов микобактерий паратуберкулёза, который выявил 85 % больного паратуберкулёзом крупного рогатого скота и 93,2 % больных овец и коз, в то время как птичий туберкулин выявил 59,2 % больного крупного рогатого скота и 45,5 % - мелкого рогатого скота.

Johnson Н. W. [271] доказал, что нет связи между интенсивностью реакции на туберкулин для птиц и степенью поражения животного, так как многие животные с сильно выраженной реакцией были бактерионосителями, а у многих животных с клиническими признаками болезни терялась кожная чувствительность. Выпадению аллергической реакции перед проявлением клинических признаков болезни автор придавал прогностическое значение.

Другие исследователи отдают предпочтение внутривенному введению ионина и птичьего туберкулина для выявления больных животных [266, 269, 274, 279, 282, 295, 296, 297].

Сведения о диагностической ценности аллергического метода диагностики паратуберкулёза коз менее противоречивы. Так, M. Evelveth and D. Evelveth [256] считали, что инфицированные микобактериями паратуберкулёза козы почти всегда реагируют на внутрикожное введение Ионина, другие авторы В.А. Шаров и З.С. Газарх [35, 202] сообщили о высокой эффективности для выявления латентно больных паратуберкулёзом коз двойной внутрикожной пробы с туберкулином для птиц.

Кроме того, G. Lal [277] сообщил об инфицированности 11,3 % исследованных коз с отрицательными показателями аллергии на ионин, и рекомендовал для ликвидации паратуберкулёза коз проведение аллергического исследования через каждые 6 месяцев в течение 3-х лет и убой животных с положительными и сомнительными показателями аллергии.

Таким образом, сведения о специфичности и диагностической ценности аллергического метода при диагностике паратуберкулёза противоречивы [85, 126, 139]. По мнению В.Е. Щуревского [209, 210], такие противоречивые результаты связаны с различными методами изготовления и применения аллергенов, разной интерпретацией полученных данных, различием методов подтверждения диагноза и колебаниями аллергического состояния в зависимости от течения болезни и состояния животных [40, 91, 174, 189, 190, 196, 197].

В настоящее время выпущено несколько методических указаний по диагностике микобактериозов животных в том числе и паратуберкулеза [102, 103, 114].

2.2.2.2. Серологическая диагностика

Из серологических реакций при паратуберкулезе испытаны реакции агглютинации, гемагглютинации, преципитации и связывания комплемента.

РА с антигеном из микобактерий паратуберкулеза для диагностики паратуберкулеза испытали в 1913 году К. Twort and G. Ingram [329] и получили обнадеживающие результаты в лабораторных условиях, однако при проверке в практических условиях эта реакция оказалась непригодной.

Реакцию гемагглютинации для диагностики паратуберкулеза впервые испытали С. Gernez-Rieux et al. В 1950 году на 5 сыворотках от крупного рогатого скота, имеющего отрицательные показания аллергии, у которых паратуберкулез подтвердили посмертным исследованием. Из отечественных авторов реакцию непрямой гемагглютинации для диагностики паратуберкулеза овец и коз изучал А.И. Алиев [8],. Из испытанных им 30 антигенов, приготовленных различным способом, для сенсibilизации эритроцитов наиболее активным был антиген, приготовленный путем растирания микобактерий на шаровой мельнице и суспензированный в фосфорном буфере с рН – 8,0, а также гретье антигены салкилсульфатом натрия. Однако авторы не приводят результаты испытания этого диагностикума с сыворотками от естественно больных паратуберкулезом коз.

А. Prassad et al. [305, 306] сообщили о преимуществах диагностикума, приготовленного из эритроцитов коз, так как эритроциты барана, по мнению авторов, дают неспецифические реакции в титре до 1:40 с сыворотками от здоровых овец и коз. При исследовании сывороток от здоровых животных с положительными и сомнительными показаниями аллергии, диагностикумом, приготовленным путем сенсibilизации козьих эритроцитов ППД-ионином, ППД-туберкулинами для птиц и млекопитающих, 75 сывороток давали

положительные показания в титре 1:40 – 1:280 со всеми тремя использованными антигенами. В таком же титре давали показания и сыворотки вакцинированных живой или убитой адьювантной паратуберкулезной вакциной ягнят и козлят. Однако авторы не приводят результаты подтверждаемости показаний РГА при посмертном исследовании. При паратуберкулезе коз показания реакции диффузной преципитации в агаровом геле и метода культурального исследования фекалий эквивалентны как по чувствительности, так и по специфичности, однако, метод иммунодиффузии в агаровом геле имеет преимущества как по легкости постановки, так и по скорости получения результатов. Поэтому авторы считают, что этой реакции следует уделить серьезное внимание при проведении мероприятий по борьбе с паратуберкулезом коз.

Наиболее изученным методом серологической диагностики паратуберкулеза является реакция связывания комплемента. Впервые РСК для диагностики паратуберкулеза применил К. Twort [329].

Для постановки этой реакции и повышения специфичности показаний предложено и испытано множество антигенов [284, 285, 286].

Большинство же исследователей использовали антигены, приготовленные из культур микобактерий паратуберкулеза [53].

З.С. Газарх и В.А. Шаров [36] предложили карболинизированный антиген ВИЭВ, который выявлял 39,5% инфицированного паратуберкулезом крупного рогатого скота и 67,0% овец и коз. Положительные показания РСК подтверждались данными патологоанатомического вскрытия, бактериоскопии и гистологии у 82% крупного рогатого скота и у 80% овец и коз.

А. Grewal et al. [260] сообщили о специфичности и антигенной активности в РСК липополисахаридной фракции из воднокарболового экстракта микобактерий паратуберкулеза.

Ш.М. Нуралиев и соавт. [125] разработали антиген для РСК из пигментированной культуры микобактерий паратуберкулеза, выделенной от

овец и считают его более активным и специфичным для исследования мелкого рогатого скота.

Некоторые авторы сообщают об эффективности и активности сыворотками от овец и коз паратуберкулезного антигена, приготовленного из паратуберкулезных микобактерий [228, 229, 232, 233, 238] .

По данным Ноле и др. [267], эффективность РСК составляла 90-94%, В.В. Корнеева [76] – 77,7%, Kunz, [276] – 100%. Совпадение положительных показаний РСК с результатами посмертных исследований наблюдалось у Т.Р. Гайнуллина [37], и у А.Т. Кравца [86]– 80% случаев.

В то же время, по мнению многих авторов, РСК обладает небольшой ценностью в выявлении латентно больных паратуберкулезом животных. [95, 113, 125, 163, 212, 255, 257]

2.2.2.3. Бактериологическая диагностика

Для выделения возбудителя паратуберкулеза из патологического материала исследователи используют различные среды: яично-печеночные, казеиново-сывороточные с добавлением синтетических солевых растворов и обязательно «фактора роста» [123, 59, 329]. Однако выделение культур микобактерий паратуберкулеза из заведомо инфицированного материала связано со многими трудностями и удается не всегда [11, 96, 209, 132].

А.П. Аликаева [11] с успехом применяла для выращивания первичных культур микобактерии паратуберкулеза модифицированную среду Дюбо-Смита. О высокой эффективности среды Дюбо-Смита и среды Дюбо-Смита в модификации А.П. Аликаевой сообщили также В.В. Корнеев [76], и др. Тем не менее, эта среда по сообщению А.И. Алиева и Н.Г. Фадеевой [9] уступала по эффективности среде Левенштейна-Йенсена с микобактином и Финна в модификации авторов для выделения микобактерий паратуберкулеза от мелкого рогатого скота.

А.И. Алиев [8] также считает среду Левенштейна-Йенсена по прописи Р. Драбкиной [52] с микобактином более эффективной по сравнению со

средами Дюбо-Смита в модификации А.П. Аликаевой, в модификации В.В. Корнеева, сред Е.Я. Шишкиной, T. Twort and G. Ingram, А.Д. Павловского для выделения микобактерий паратуберкулеза от мелкого рогатого скота [76, 204, 329].

А.И. Алиев и Н.Г. Фадеева [9] предлагают модифицированную среду Финна-И (АФ-И) для выделения *M. paratuberculosis* от овец и коз, которая при сравнительном испытании со средами Левенштейна-Йенсена с микобактерином, Дюбо-Смита по Аликаевой и Герольда имела значительные преимущества.

2.2.2.4. Патологоанатомическая диагностика

У разных видов животных патологоанатомические изменения при паратуберкулезе имеют некоторые особенности. Как правило, у крупного рогатого скота они ограничиваются кишечником и брыжеечными лимфатическими узлами. Чаще всего их можно обнаружить в заднем отрезке тонкого отдела кишечника, на илеоцекальной заслонке, в слепой и начальном отрезке ободочной кишок (В.Е. Щуревский, [209]). Они характеризуются утолщением и складчатостью слизистой оболочки кишечника, увеличением брыжеечных лимфатических узлов. На разрезе брыжеечные и илеоцекальные лимфатические узлы влажные, поверхность разреза бело-желтая или мозговидная, на ней встречаются беловатые очаги, а в отдельных случаях почти вся поверхность имеет беловатый вид. При гистологическом исследовании обнаруживают различной величины скопления эпителиоидных клеток. Среди эпителиоидных клеток нередко встречаются гигантские клетки типа чужеродных тел и типа Лангганса. С Buergelt et al [236] описали у клинически больного крупного рогатого скота, микрогранулематозные поражения портальных лимфоузлов, кальцификацию стенок эндокарда и аорты, поражения тимуса и небольшие скопления кислотоустойчивых бактерий в срезах из печени.

У овец складчатость и утолщение стенок кишечника менее выражены. В лимфатических узлах находят казеозные инкапсулированные очаги, иногда в стадии обызвествления. Среди пролифированных эпителиоидных клеток значительно реже встречаются гигантские клетки, особенно клетки типа клеток Лангганса.

При патологоанатомическом осмотре у больных паратуберкулезом коз обнаружили набухание слизистой оболочки подвздошной, слепой и начальной части ободочной кишок. Брыжеечные лимфатические узлы увеличены и содержат казеозные очаги. В мазках из слизистой оболочки кишечника и казеозных очагов выявлено огромное количество микобактерий паратуберкулеза [115].

Pande [298] при вскрытии больных паратуберкулезом коз обнаружил утолщение и складчатость слизистой оболочки кишечника, отечность и увеличение брыжеечных лимфатических узлов, которые имели казеозные очаги. Lal [277] описывает при паратуберкулезе у коз в кишечнике и брыжеечных лимфатических узлах такие же изменения.

Некоторые авторы считают, что болезнь не может быть установлена только по данным вскрытия, гистологическое исследование помогает установить точный диагноз [212, 213, 214]

M. Alibasaglu et al [223] при паратуберкулёзе коз в пораженных участках не находили гигантских клеток типа Лангганса. Авторы также наблюдали кальцификацию стенок аорты и других больших артерий и почечной лоханки.

J. Rankin [307] при вскрытии 72 коз, больных паратуберкулёзом, изучал изменения в железах внутренней секреции. Результаты показали незначительное увеличение гипофиза. Надпочечники также были увеличены в размере и имели умеренные диффузные утолщения капсул. Щитовидные железы были увеличены незначительно, бледной окраски, а окружающая фасция была отёчна. У 22 из них имелись цистоподобные полости на срезанной поверхности. Гистологические изменения в надпочечниках

свидетельствовали о стресс-реакциях, в то время как гипотирозидизм был доказательством тирозидита. Изменения в гипофизе авторы считают вторичными.

О.Р. Paliwal [294] описал казеозный некроз пейеровых бляшек и наличие язв в кишечнике и туберкулоподобные изменения в печени больных паратуберкулёзом коз.

Микобактерии паратуберкулёза в кишечнике обнаружены в 14 случаях при наличии тяжёлых поражений.

При тяжелой патологии в брыжеечных лимфатических узлах находят казеозные, часто обызвествлённые, инкапсулированные очаги, а их капсула значительно утолщена. Кислотоустойчивые микобактерии в брыжеечных лимфатических узлах выявляются редко и находятся только в эпителиоидных клетках.

В печени также обнаруживают клеточные узелки. В сравнении с клеточными узелками, описанными в печени у крупного рогатого скота и овец, у коз они более крупные.

В легких обнаруживают утолщение альвеолярных перегородок за счет увеличения количества крупноклеточных элементов, среди которых встречаются и эпителиоидные клетки [58].

Таким образом, у овец, и коз патологоанатомические изменения в основном сходны с наблюдаемыми у крупного рогатого скота, за исключением следующих особенностей: складчатость слизистой оболочки тонкого отдела кишечника менее выражена, чем у крупного рогатого скота; утолщение слизистой оболочки кишечника у овец и коз в большинстве случаев может проявляться настолько слабо, что его невозможно заметить, брыжеечные лимфатические узлы увеличены и в них обнаружены казеозные, обызвествлённые очаги, из-за которых поверхность лимфатических узлов бугристая [212, 214, 115].

Патологоанатомические изменения у экспериментально зараженных коз сходны с изменениями, описанными у естественно больных паратуберкулезом животных.

2.2.2.5. ПЦР-диагностика.

С появлением ПЦР стала возможной идентификация возбудителя паратуберкулезного энтерита *M. avium* subsp. *paratuberculosis*, имеющие фрагмент ДНК IS900, на основании трактовки которого Р. А. Vary с соавт. [330] был разработан первый диагностикум.

Однако этот фрагмент имеет высокую гомологичность с фрагментами ДНК *M. avium*, поэтому результаты ПЦР в данном случае не могут интерпретироваться со 100% вероятностью.

В настоящее время для *M. avium* subsp. *paratuberculosis* известны также ген *hspX* и фрагмент ДНК F57 [255]. Их анализ показывает 60 % гомологию к последовательностям (сиквенсам) других микобактерий. В связи с этим ПЦР-анализ, использующий ген *hspX* и фрагменты-вставки IS901 для *M. avium*, IS1245 для *M. avium*-комплекс и IS901 для *M. paratuberculosis*, разработанный J.L. Ellingson et al. [255], позволяет идентифицировать вид *M. avium* и подвид *M. avium* subsp. *paratuberculosis* с точностью до 99 %.

Также, исследования проводились с фекалиями, смывами и другими объектами [224, 225, 330]. Выделение специфических генов или уникальных комбинаций в самих генах различных их участков необходимо для разработки высокоточных диагностических тестов, основанных на ДНК-экспертизе [61, 114, 139, 222]. Повышение чувствительности ПЦР как диагностического теста паратуберкулеза необходимо для дифференциации его от болезни Крона [323, 330], а также для изучения патогенеза заболевания [265, 268, 222].

Рестрикция энзимов в паре с ПЦР также был использован для дифференциации *M. paratuberculosis* и *M. avium*, а также для идентификации

культур *M. paratuberculosis*, выделенных от крупного рогатого скота и овец [330].

Исследование брыжеечных лимфоузлов, участков тонкого кишечника и фекалий больных животных методом ПЦР нашло подтверждение выделением культуры *M. paratuberculosis* [268].

Таким образом, из данных литературы можно сделать вывод, что при всей популярности ПЦР-метода, этот метод диагностики позволяет лишь выявить небольшой участок генома, который является маркером возбудителя. Одного наличие ДНК возбудителя далеко не всегда свидетельствует о заболевании, поэтому для выявления инфицированных животных необходимо проводить весь комплекс диагностических мероприятий [102,114].

2.2.2.6. Биохимическая диагностика паратуберкулеза

Заболевание рогатого скота паратуберкулёзом, как и любой другой болезнью, сопровождается определенными изменениями биохимического и морфологического состава крови.

Т. Г. Нигматуллин [120] указывает, что наиболее выраженные изменения биохимического состава крови животных, инфицированных микобактериями паратуберкулёза были обнаружены при предклиническом или клиническом течении процесса, при котором наблюдалось значительное снижение количества общего белка, альбуминов и активности каталазы крови. При повышенном содержании гамма-глобулинов в сыворотке крови паратуберкулёзных животных почти всегда наблюдался высокий титр комплементсвязывающих антител. Предклиническая и, особенно, клиническая стадия паратуберкулёза сопровождается резким снижением общего количества белка в сыворотке крови и ее альбуминовой фракции при относительном увеличении гамма- и альфа-глобулинов. Снижается активность каталазы и уменьшается содержание минеральных элементов (магния и кальция), а также общее количество эритроцитов и гемоглобина. При латентном течении заболевания уровень общего белка в сыворотке крови

не изменяется или повышается незначительно, активность ферментов практически не меняется. В соотношении белковых фракций происходят определенные сдвиги в сторону относительного и абсолютного увеличения количества гамма-глобулинов и снижения альбуминов, степень изменений которых соответствует характеру патологического процесса. Также, автором установлено, что паратуберкулёзный процесс практически не сопровождается распадом белков в организме животных, о чем свидетельствует отсутствие изменений уровня остаточного азота.

Экспериментальное заражение коз паратуберкулезом сопровождается аналогичными изменениями состава крови при соответствующем течении болезни. Гипериммунизация животных паратуберкулёзной культурой вызывает иммунобиологическую перестройку, характеризуясь резким повышением уровня гамма-глобулинов, при одновременном увеличении общего белка и снижением количества альбуминов. Изменение содержания в сыворотке крови уровня гамма-глобулинов соответствует титру комплементсвязывающих антител в РСК.

Анализы белков крови при заболевании животных паратуберкулезом проводил Н. Behrens в 1955 году. Автор установил, что у больных паратуберкулезом овец происходит снижение в сыворотке крови количества общего белка и альбуминов, в то время как содержание глобулиновой фракции остается сравнительно на одном уровне. Этот опыт автор провёл однократно всего лишь на пяти больных паратуберкулезом овцах. В этих опытах отсутствовали животные с латентным течением паратуберкулеза, а также не было контрольных животных.

Таким образом, вопрос о белковом составе крови при паратуберкулезе остается не выясненным.

А.И. Бобашинский [23] установил, что заболевание крупного рогатого скота паратуберкулезом сопровождается нарушением кислотно-щелочного равновесия организма. Чем активнее протекает патологический процесс, тем ниже щелочной резерв крови больного животного.

Исследуя минеральный состав сыворотки крови крупного рогатого скота при естественном заболевании паратуберкулёзом, установил наличие минерального голодания, что существенно снижает общую резистентность организма. По данным его исследований уровень железа, фосфора и магния при паратуберкулёзе был снижен в 1,5 – 2 раза по сравнению со здоровыми животными, а содержание фосфора было еще меньше.

Так, литературные данные об изменении этого показателя при паратуберкулёзе животных оказались противоречивы, поэтому изучение этого вопроса требует дальнейшего уточнения [79, 80].

Снижение содержания кальция, магния и неорганического фосфора в сыворотке крови больных паратуберкулёзом овец было отмечено Тейлором [320].

Г.Ф. Коромыслов [80, 81, 82] провел экспериментальное изучение влияния дефицита минеральных веществ в кормовом рационе на резистентность организма к паратуберкулёзу телят 7-9-месячного возраста. Автор установил, что содержание животных на недостаточном по кальцию и фосфору рационе ведет к снижению резистентности организма к паратуберкулёзу. При этом содержание кальция и фосфора в крови экспериментальных телят весь период опыта держалось относительно на одном уровне. Автор считает, что животные, содержащиеся на полноценном по минеральным веществам рационе, проявили повышенную, но не абсолютную устойчивость к заболеванию.

В результате своих исследований перечисленные авторы приходят к выводу, что заболевание животных паратуберкулёзом тесно связано с афосфорозом [80, 176].

Таким образом, по данным литературного обзора видно, что по характеру и степени биохимических изменений крови можно прогнозировать течение патологического процесса в различных органах и тканях, а также в организме в целом. Однако биохимический состав крови при паратуберкулёзе

изучен недостаточно и требует дальнейших исследований для облегчения и совершенствования диагностики этого заболевания.

2.2.3. Патогенез паратуберкулеза

При паратуберкулезе животных сроки инкубационного периода различны: от 5-10 месяцев до 5-6 лет и более. Действительно, определить его очень трудно, т.к., с одной стороны, невозможно установить время заражения животных в естественных условиях, а с другой стороны, учитывая преимущественно бессимптомное течение, сложно выявить наличие инфекции в организме, в частности, время появления болезни [81, 82, 156, 164].

Наличие инфекции можно установить также с помощью иммунологических методов исследования. В таких случаях инкубационным периодом считают время от заражения до появления аллергического состояния или антител в крови. Nagan and Zeiss ia [262] наблюдали появление аллергии у телят, зараженных скармливанием инфицированных соскобов кишечника, через 4-13 месяцев.

Зараженные паратуберкулезом животные остаются внешне здоровыми в течение длительного времени, а у некоторых из них, отличающихся хорошей сопротивляемостью, никогда не проявляются клинические симптомы, и болезнь протекает относительно доброкачественно.

При паратуберкулезе различают:

- 1) - латентное, или бессимптомное течение, когда инфекционный процесс развивается и протекает скрыто;
- 2) – клиническое, явное или открытое течение, когда инфекционный процесс активизируется, обостряется, принимает быстрое течение и сопровождается заметными клиническими симптомами. Клиническое течение болезни, как правило, заканчивается гибелью животного, и только в редких случаях, преимущественно у животных старшего возраста, инфекция принимает латентный характер.

При улучшенном кормлении и содержании у отдельных животных не только не проявляется клиническая картина, но и возможно их выздоровление [37, 223, 251].

Заболевание животных паратуберкулезом Т.Р. Гайнуллин [37] наблюдал при резком ухудшении их кормления и содержания. Число клинических больных животных, по его наблюдениям, увеличилось также при неблагоприятных метеорологических условиях (холодные и дождливые лето и осень) [54, 60, 73].

В.Е. Щуревский [209, 215] характеризует клиническое проявление паратуберкулеза крупного рогатого скота следующими основными признаками: снижение молочной продуктивности, отеки в области межчелюстного пространства и подгрудка, выцветание и огрубение шерсти и потеря тургора кожи. Затем появляется диарея, вначале перемежающаяся, а в последующем все более стойкая и изнуряющая. Вследствие постоянных и сильных потуг изгибается позвоночник. Фекалии жидкие, зеленовато-желтые или коричневые, содержат пузырьки газа, слизь, иногда следы крови и имеют неприятный запах, напоминающий запах индола, скатола. В жидких фекалиях можно обнаружить плотные комочки, покрытые слизью, в которых при бактериоскопии почти всегда обнаруживают микобактерии паратуберкулеза.

Обычно диарея проходит без лихорадки и болей, аппетит и жвачка сохраняются. Сфинктер прямой кишки иногда парализуется, и фекалии извергаются непроизвольно. В таких случаях хвост, вымя и задние конечности очень сильно загрязняются, животные слабеют и много лежат, По мере развития болезни исхудание прогрессирует, удой все больше снижается и молокоотделение может прекратиться совсем. При этом наблюдается уменьшение аппетита, а к концу болезни отсутствие аппетита Жажда сохраняется и даже повышается из-за потери жидкости вследствие диареи. Из-за истощения мышцы уменьшаются в объеме. Видимые слизистые оболочки бледны. От начала проявления клинических симптомов до смерти

проходит 3-4 месяца. При значительном обострении болезни может наступить смерть в течение 3-4 недель.

Течение и клиника паратуберкулеза у коз сходны с паратуберкулезом крупного рогатого скота. Клиническое проявление болезни чаще появляется после окота в виде диареи, истощения и потери шерсти (пуха). В сильно пораженных паратуберкулезом стадах у коз понижается оплодотворяемость [218].

Lal [277] указывает, что у коз паратуберкулез протекает более остро, чем у крупного рогатого скота и овец, сопровождается истощением, сильной диареей, анемией. Больные животные становятся очень слабыми и погибают.

Levi [280] наблюдал у 13 из 24 зараженных коз прогрессирующую клинику, очень сходную с паратуберкулезом крупного рогатого скота. Результаты опыта показали, что козы могут заменять телят при экспериментальном изучении паратуберкулеза.

2.2.4. Заключение

Таким образом, из вышеизложенных данных литературы видно, что в связи с особенностями патогенеза паратуберкулеза для выявления инфицированных животных и постановки диагноза, на настоящий момент нет единого диагностического теста. Поэтому для выявления данного заболевания необходимо проводить весь комплекс диагностических исследований.

3. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1. Материалы и методы

Работа проведена в 2006 – 2008-2015 годах в два этапа в соответствии с заданием 02.01.01. Российской научно-технической программы

фундаментальных и приоритетных прикладных исследований на базе лаборатории биохимии имени Г.Ф. Коромылова, лаборатории микобактериозов и сектора патоморфологии, а также на опытной базе ГНУ «Всероссийский институт экспериментальной ветеринарии имени Я.Р.Коваленко», Вышневолоцком районе, Тверской области.

В работе было использовано 20 козлят и 11 ягнят 3-4 месячного возраста.

Биохимические исследования сывороток крови животных проводили в лаборатории биохимии ВИЭВ. Для оценки динамики биохимических процессов в организме у экспериментально зараженных туберкулезом коз (9 гол) и экспериментально зараженных паратуберкулезом коз (11 гол.) и овец (11 гол.) были выбраны следующие показатели крови: глюкоза, мочевины, креатинин, щелочная фосфатаза, общий белок, общий кальций, неорганический фосфор, аспаратаминотрансфераза (АсТ), аланинаминотрансфераза (АлТ), билирубин (общий и прямой), холестерин, триглицериды и двухвалентное железо. Исследования перечисленных биохимических показателей крови проводили с использованием аналитических наборов реактивов и методик чешской фирмы «Лахема Эрба Рус».

Методики проведения биохимических исследований.

Определение глюкозы, Chromy V. [246]. Принцип метода основан на окислении глюкозы кислородом воздуха при каталитическом действии фермента глюкозооксидазы с образованием перекиси водорода и глюконата. Возникшую перекись водорода определяют по реакции окислительного азосочетания с замещенным фенолом и 4-аминоантипирином, которая катализируется ферментом пероксидазой с образованием розового комплекса

Определение мочевины , Chromy V.[245]. Принцип метода: уреазы гидролизует мочевины с образованием аммиака и двуокси углерода. Возникший аммиак определяют по цветной реакции салицилата со щелочным раствором гидрохлорита, раствор насыщенного зеленого.

Определение креатинина, Pilsen J.F [1957]. Принцип метода: в щелочной среде пикриновая кислота взаимодействует с креатинином с образованием оранжево-красной окраски, которую измеряют фотометрически. Определение в сыворотке крови проводят после депротеинизации.

Определение щелочной фосфатазы, Chromy V.et all.[247]. Принцип метода: щелочная фосфатаза расщепляет в N-метил-D-глюкаминовом буфере 4-нитрофенилфосфат с образованием 4-нитрофенола и фосфата. Щелочная фосфатаза активирована хлоридом натрия. Мерой каталитической концентрации фермента является количество освобожденного 4-нитрофенола, который определяют фотометрически либо кинетическим методом, либо методом постоянного времени после остановки ферментативной реакции ингибитором щелочной фосфатазы (трилон Б), который блокирует активный центр фермент.

Определение общего белка проводилось общепринятым рефрактометрическим методом по Преснякову Д.Ф.[158].

Определение кальция, Словак З. [165]. Принцип метода основан на способности кальция образовывать с глиоксаль-бис-(2-оксианилом) в щелочной среде комплекс красного цвета, который определяют фотометрически.

Определение неорганического фосфора, McKinley J.D. [283]. Принцип метода: фосфорная кислота взаимодействует в кислой среде с ванадатом и молибдатом аммония с образованием фосфорнованадиевомолибденовой кислоты желтого цвета. Концентрацию неорганического фосфора в сыворотке крови или моче определяют после осаждения белков.

Определение железа (Fe^{2+}), Ceriotti F. [237]. Принцип метода: реактив, содержащий динатриевую соль 3-(2-пиридил)-5,6-бис-(4-сульфо-фенил)-1,2,4-триазина, образует с ионами Fe^{2+} комплекс фиолетового цвета, пригодный для фотометрического определения.

Определение АсТ, Tovares J. [326]. Принцип метода: аспартат-аминотрансферила катализирует реакцию между L-аспартатом и 2-оксоглутаратом, в результате которой они превращаются в L-глутамат и оксалацетат. Определение основано на измерении оптической плотности гидразонов 2-оксоглутаровой и пировиноградной кислоты в щелочной среде. Гидразон пировиноградной кислоты, возникающей при самопроизвольном декарбоксилировании оксалацетата, обладает более высокой плотностью.

Определение АлТ, Tovares J. [326]. Принцип метода: аланин-аминотрансферила катализирует реакцию между L-аланином и 2-оксоглутаратом, в результате которой они превращаются в L-глутамат и соль пировиноградной кислоты. Определение основано на измерении оптической концентрации гидразонов 2-оксоглутаровой и пировиноградной кислот в щелочной среде. Гидразон пировиноградной кислоты обладает более высокой плотностью.

Определение билирубина , Michaelson M.[286]. Принцип метода: билирубин вступает в реакцию азосочетания с диазотированной сульфаниловой кислотой с образованием раствора азокрасителя, который фотометрируют. Определение общего (неконъюгированного) билирубина проводят в растворе акцелератора, определение прямого (конъюгированного) билирубина – без акцелератора.

Определение общего холестерина, Zima T. [335]. Принцип метода: под действием холестеролэстеразы эфиры холестерина в воде образуют свободные жирные кислоты и собственно холестерин. Под действием холестеролоксидазы холестерин окисляется с образованием 4-холестен-3-он и перекиси водорода. В реакции с фенолом и 4-аминоантипирином под действием пероксидазы образуется цветной розово-красный водный раствор хиноминина. Интенсивность розово-красного окрашивания пропорциональна концентрации холестерина в образце.

Определение триглицеридов, Chromy V. [244]. Принцип метода: триацилглицеролы омыляются гидроксидом калия в глицерин, при окислении

которого возникает формальдегид. Формальдегид определяют по реакции с метилацетоном и аммониевыми ионами как желтый 3,5-диацетил-1,4-дигидролутидин.

Результаты исследований подвергались статистической обработке с помощью программы «БИОСТАТ для Windows. Вероятность различий считали достоверной при $p \leq 0,05$.

3.1.1. ТУБЕРКУЛЕЗ

Изучение возможности воспроизведения экспериментального туберкулеза у коз проводили на опытной базе ВИЭВ (о. Лисий) в блоке № 3 Вышневолоцкого филиала ВИЭВ, где были созданы все условия для проведения этих исследований в соответствии с санитарно-эпизоотическими требованиями.

Воспроизведение туберкулеза на козах проводили совместно с сотрудниками лаборатории микобактериозов Наймановым А.Х, Толстенко Н.Г. в экспериментальных условиях в блок-лаборатории №3 опытной базы ВИЭВ (г. Вышний Волочек Тверской области).

В эксперименте использовали 9 козлят в возрасте 3 - 4 месяцев. Перед началом опыта всех животных исследовали симультанной пробой с ППД туберкулином для млекопитающих и КАМ в соответствии с «Наставлением по диагностике туберкулеза животных» (12.11.2002).

При учете результатов симультанной пробы были получены отрицательные результаты исследований. Для постановки опыта было сформировано две группы животных: опытная – 6 голов и контрольная – 3 головы. Все подопытные животные размещались в одном помещении, но при этом каждая группа находилась в отдельном боксе, где были созданы одинаковые условия содержания и кормления. Схема постановки эксперимента по воспроизведению туберкулеза у коз приведена в таблице 1.

Животные первой группы были заражены перорально через зонд взвесью патологического материала от павших морских свинок с

генерализованной формой туберкулеза, с характерными для туберкулеза изменениями. Козлята второй группы – контрольные, содержались изолированно от зараженных козлят. Повторное заражение провели через 14 суток взвесью культуры *M.bovis* в дозе 1 мг бактериальной массы на кг массы животного. Животных содержали в боксах в течение 180 суток.

Таблица 1

Схема постановки эксперимента по воспроизведению туберкулеза у коз

№ группы	Кол-во голов	Способ и метод заражения	
		Перорально через зонд	
1 опытная	6	1-е заражение взвесью патматериала от павших морских свинок с генерализованной формой туберкулеза	2-е заражение проведено через 14 суток взвесью культуры <i>M.bovis</i> в дозе 1 мг бактериальной массы на кг массы животного
2 контрольная	3	Содержали изолированно от зараженных коз	Вводили по 100 мл физ. раствора аналогично, дважды -через 14 суток

Первое аллергическое исследование экспериментально зараженных и контрольных козлят провели через 21 сутки после последнего заражения. Последующие аллергические исследования проводили через каждые 30-60 суток пальпебральной туберкулиновой пробой с использованием ППД туберкулина для млекопитающих. В эти же сроки брали пробы крови для биохимических исследований.

Через 185 суток всех животных убили, провели патологоанатомический осмотр. Патологический материал от убитых коз исследовали бактериологическими, гистологическими и ПЦР - методами в лаборатории микобактериозов для постановки диагноза.

3.1.2. ПАРАТУБЕРКУЛЕЗ

Воспроизведение паратуберкулезной инфекции на мелком рогатом скоте проводили совместно с сотрудниками лаборатории микобактериозов

(Сидорчук В.А., Толстенко Н.Г.) в экспериментальных условиях в блок-лаборатории №3 опытной базы ВИЭВ (г. Вышний Волочек Тверской области) 2007-2008 год.

По принципу аналогов были подобраны 11 козлят и 11 ягнят 3-4 месячного возраста, из которых сформировали по 2 опытных группы и по 1 контрольной. Эксперимент проводили на протяжении 333 суток.

Перед началом опыта провели клинический осмотр с термометрией всех животных, взяли кровь для проведения серологических и биохимических исследований, провели туберкулинизацию животных ППД туберкулином для млекопитающих пальпебрально (внутрикожно, в толщу) в правое нижнее веко, и ППД туберкулином для птиц в левое нижнее веко в дозе 5000 ЕД в 0,2 мл.

После учета аллергических реакций через 24 и 48 часов (все животные реагировали отрицательно на оба туберкулина) провели заражение.

Козлятам 1-ой опытной группы (5 гол.), заражение проводили *per os* штаммом ATCC 19698 *Mycobacterium avium*, subspecies *paratuberculosis* в дозе 0,15 мг/кг массы животного в виде суспензии бакмассы в 150 мл физраствора с использованием пищеводного зонда. Каждому животному было введено по 9 мг бактериальной массы. Козлят 2-ой опытной группы (3 гол.) заражали внутривенно однократно суспензией микобактериальных клеток в дозе 8 мг в 2 мл физиологического раствора, 3-я группа – контрольная (3 гол.). Ягнят подбирали, формировали в группы (опытные - в 4-ой – 5 гол, в 5-ой – 3 гол; контрольные – в 6-ой – 3 гол.) и заражали аналогично вышеописанной схеме у козлят. Заражение опытных козлят (1-я группа) и ягнят (4-я группа) повторили трехкратно с интервалом 14 суток. Контрольных животных содержали изолировано от опытных. Схема проведения эксперимента отражена в таблице 2.

Такая дозировка заражения была выбрана на основании аналогичных исследований, проводимых ранее на морских свинках и кроликах штаммами

микобактерий, хранящимися в лаборатории микобактериозов ВИЭВ. Ранее было установлено следующее.

Биологическим исследованием культур на морских свинках и кроликах показано, что морские свинки, зараженные подкожно культурами *M. paratuberculosis*, *M. avium* и *M. intracellulareae* в дозе 1 мг/см³, не проявляли клинических симптомов заболевания и после убоя через 92 суток у них не обнаружили патологических изменений. На месте инъекции наблюдали следы абсцессов, содержащих бактерии исходных культур.

Кролики, зараженные *M. paratuberculosis* в дозе 1 мг/см³, животные не проявляли клинических симптомов заболевания и после убоя через 92 суток содержания у них не обнаружили патологических изменений.

При внутривенном заражении кроликов *M. avium* и *M. intracellulareae* в дозе 1 мг/см³, животные погибали от сепсиса через 11-30 суток и при вскрытии обнаружены резкое увеличение селезенки и печени. То же происходило и при заражении *M. avium* в дозе 0,1 мг/см³, в то время как внутривенное заражение *M. intracellulareae* в этой дозе не вызывало гибели животных и патологических изменений.

Перед каждым заражением мы проводили туберкулинизацию животных с последующим учетом реакции через 24 и 48 часов. Эксперимент по воспроизведению паратуберкулеза проводили в течение 333 суток, после чего все животные были убиты.

Таблица 2

Схема проведения эксперимента по воспроизведению паратуберкулеза на мелком рогатом скоте

№ группы	Кол-во ГОЛОВ	Способ заражения и вводимые вещества	Кратность
Козлята- 11 голов			
1 опытная	5	Перорально суспензией <i>Mycobacterium avium</i> , subspecies	3-хратно с интервалом 14

		paratuberculosis в дозе 0,15 мг бактериальной массы в 150 мл физиологического раствора.	суток
2 опытная	3	Внутривенно суспензией микобактериальных клеток в дозе 8 мг в 2 мл физиологического раствора	однократно
3 контрольная	3	Незараженные, содержащиеся изолировано от опытных козлят и ягнят. Вводили физ.раствор аналогично в дозе 150 мл, трехкратно с интервалом 14 суток	
Ягнята-11 голов			
4 опытная	5	Перорально <i>Mycobacterium avium</i> , subspecies <i>paratuberculosis</i> в дозе 0,15 мг/кг массы животного суспензии бакмассы в 150 мл физраствора.	3-хкратно с интервалом 2 недели
5 опытная	3	Внутривенно суспензией микобактериальных клеток в дозе 8 мг в 2 мл физиологического раствора	однократно
6 контрольная	3	Незараженные, содержащиеся изолировано от опытных козлят и ягнят. Вводили физ.раствор аналогично в дозе 150 мл, трехкратно с интервалом 14 суток	

Биохимические исследования сыворотки крови животных проводили аналогично вышеописанным методам при воспроизведении туберкулеза.

3.2. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.2.1. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЙ ТУБЕРКУЛЕЗ КОЗ

Через 21 сутки после последнего заражения *M.bovis* все опытные козлята реагировали на пальпебральную пробу с различной интенсивностью проявления аллергических реакций в месте введения туберкулина в области нижнего века (рис.1).



Рис.1 Припухлость нижнего века в области введения ППД-туберкулина для млекопитающих у козы

Козы контрольной группы не реагировали на аналогичное введение туберкулина.

Результаты биохимических исследований обработаны статистически и представлены в таблице 3.

Таблица 3.

Динамика биохимических показателей сыворотки крови коз при экспериментальном заражении *M.bovis*

(n = 9; M ± m; * p ≤ 0,05).

Контроль – n = 3, опыт – n = 6,

№	Показатель	Ед. изм.	Перед заражением		Через 14 суток		Через 30 суток	
			Контроль	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
1	Глюкоза	Mmol/l	3,2 ± 0,1	3,4 ± 0,12*	3 ± 0	3,2 ± 0,2	3,13 ± 0,12	3,8 ± 0,17*
2	Мочевина	umol/l	8,5 ± 0,3	8,5 ± 0,25	8,63 ± 0,15	8,13 ± 0,12*	7,87 ± 0,42	10,13 ± 0,8*
3	Креатинин	umol/l	71,23 ± 2,95	71,07 ± 0,94	76,1 ± 5,3	90,57 ± 1,17	70,5 ± 1,4	128,7 ± 2,5*
4	Щел. фосфатаза	Mккат/л	7,3 ± 0,2	7,2 ± 0,2	9,4 ± 0,2	9,67 ± 0,12*	8,47 ± 0,2	13,13 ± 0,86*
5	Общий белок	g/l	60,7 ± 2,43	60,9 ± 1,08	63,4 ± 0	63,1 ± 0,26	63,83 ± 0,8	77,23 ± 5,75*
6	АсТ	IU/L	22,87 ± 2,34	24,2 ± 0,4	26,47 ± 1,8	25,53 ± 0,55	24,13 ± 2,4	36,77 ± 0,4*
7	АлТ	IU/L	23,07 ± 0,4	22,97 ± 0,35	24 ± 0	23,67 ± 0,58	24 ± 0	32,47 ± 3,06*
8	Билирубин общий	umol/l	9,07 ± 0,12	9,13 ± 0,23	9,07 ± 0,12	9,07 ± 0,12	9,27 ± 0,12	11,87 ± 0,42*
9	Билирубин прям.	umol/l	0	0	0	0	0	0,5 ± 0,1*
10	Холестерин	Mmol/l	2,83 ± 0,12	2,77 ± 0,12	2,67 ± 0,06	2,73 ± 0,15	2,67 ± 0,15	3,37 ± 0,4*
11	Триглицериды	Mmol/l	0,45	0,45	0,42 ± 0,03	0,55 ± 0,09*	0,43 ± 0,03	0,79 ± 0,12*
12	Кальций	Mmol/l	2,23 ± 0,06	2,23 ± 0,06	2,4 ± 0,1	2,37 ± 0,07	2,43 ± 0,06	2,17 ± 0,15*
13	Фосфор	Mmol/l	1,83 ± 0,06	1,83 ± 0,06	1,87 ± 0,06	1,73 ± 0,12	1,83 ± 0,06	1,83 ± 0,06
14	Железо	Mmol/l	20,67 ± 1,16	20,67 ± 1,16	22 ± 2	22 ± 0	21,67 ± 1,53	20,67 ± 3,06

Продолжение таблицы 3

№	Показатель	Ед. изм.	Через 45 суток		Через 60 суток	
			Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
1	Глюкоза	Mmol/l	3,3 ± 0,12	4,6 ± 0,14*	3,4 ± 0,2	4,1 ± 0,14*

2	Мочевина	umol/l	8,3 ± 0,42	11,1 ± 0,42*	8,4 ± 0,4	12,55 ± 1,06*
3	Креатинин	umol/l	78,33 ± 3,8	151 ± 11,31*	78,5 ± 2,1	166,5 ± 14,9*
4	Щел. фосфатаза	Мккат/л	9,7 ± 0,6	14,35 ± 0,9*	9,23 ± 0,35	25,8 ± 3,1*
5	Общий белок	g/l	63,6 ± 0,35	81,7 ± 0,02*	64 ± 0,5	56 ± 3,7*
6	АсТ	IU/L	24,9 ± 2,3	45,3 ± 3,8*	25 ± 1,7	51,7 ± 2,97*
7	АлТ	IU/L	24,97 ± 1,37	45 ± 0,01*	24,23 ± 2,17	52 ± 0,01*
8	Билирубин общий	umol/l	9,1 ± 0,2	14,4 ± 0,01*	9 ± 0,4	12,9 ± 1,3*
9	Билирубин прям.	umol/l	0	0,7 ± 0,14*	0,07 ± 0,12	0,85 ± 0,21*
10	Холестерин	Mmol/l	2,7 ± 0,15	3,9 ± 0,01*	2,6 ± 0,2	4,2 ± 0,14*
11	Триглицериды	Mmol/l	0,49 ± 0,04	1,5 ± 0,42*	0,5 ± 0,06	1,8 ± 0,3*
12	Кальций	Mmol/l	2,37 ± 0,12	2,2 ± 0,01	2,4 ± 0,2	1,4 ± 0,14*
13	Фосфор	Mmol/l	1,9 ± 0,06	1,8 ± 0,01	1,8 ± 0,01	1,95 ± 0,07*
14	Железо	Mmol/l	22 ± 3,5	16 ± 0,01	21,67 ± 1,53	15 ± 1,41*

Из таблицы 3 видно, что на протяжении всего опыта в контрольной группе животных существенных изменений биохимического состава крови не произошло. В то время как в опытной группе животных изменение биохимических параметров сыворотки крови отмечены уже на 30 сутки после заражения.

Так, содержание общего белка в сыворотке крови зараженных козлят увеличилось на 27%, а еще через 14 суток - на 34% и составило 81,7 г/л. Затем его концентрация снизилась и составила 56 г/л. Концентрация других азотистых соединений мочевины и креатинин в сыворотке крови зараженных животных возрастала на протяжении всего опыта, и к концу опыта их уровень возрос на 48%, и 134% соответственно (рис.2).

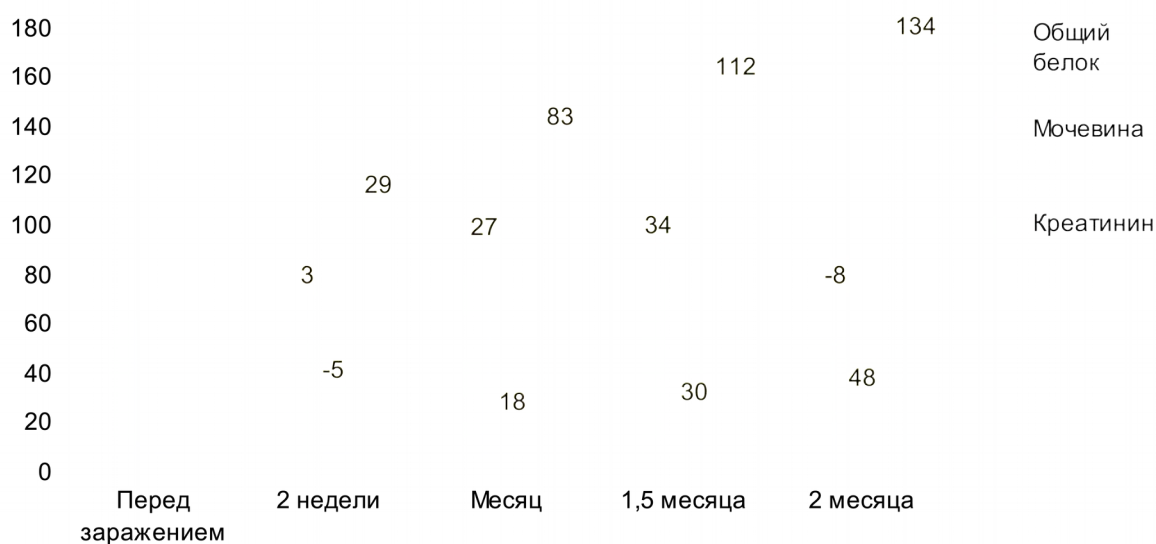
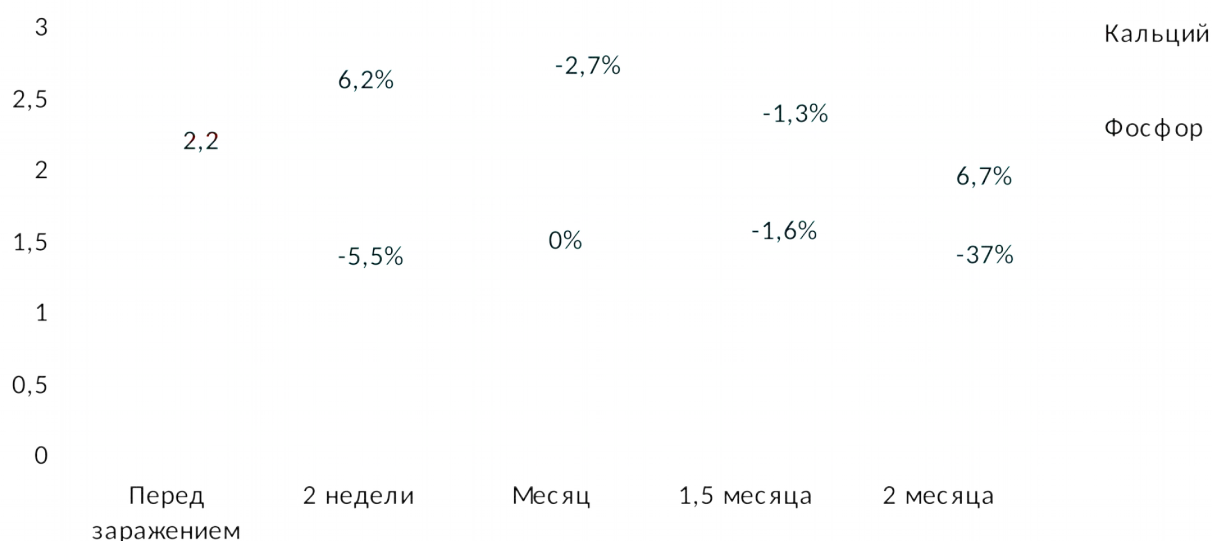


Рис.2. Изменение содержания мочевины, креатинина, щелочной фосфатазы и общего белка в сыворотке крови козлят при экспериментальном заражении туберкулезом (в % относительно стартовых значений – перед заражением)

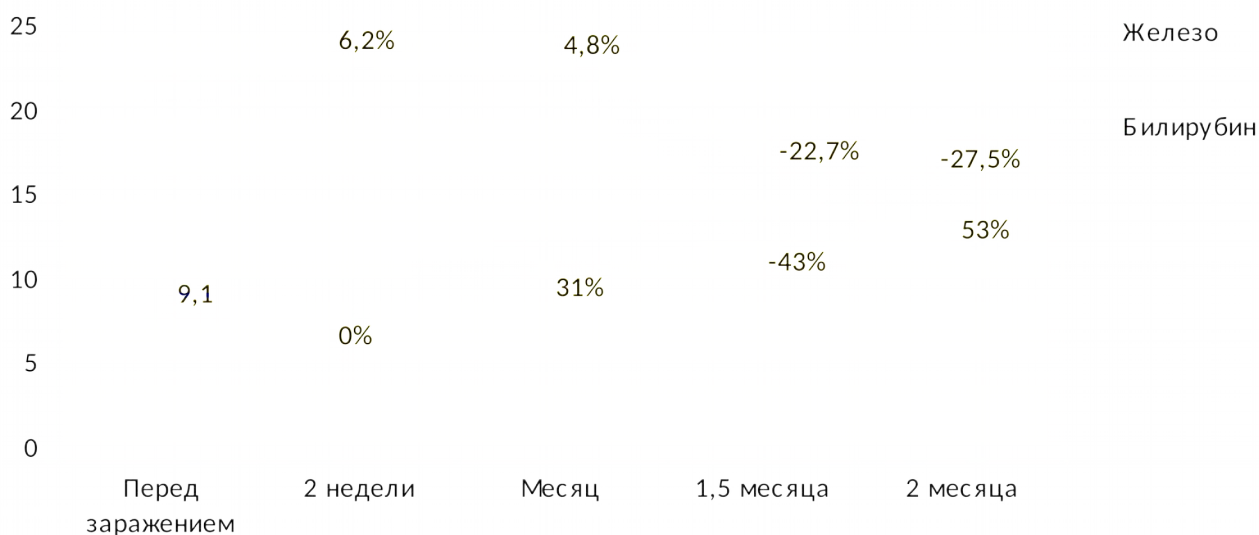
Первоначальное повышение содержания общего белка, мочевины и креатинина связано с нарушением порозности клеточных мембран и выходом в кровеносное русло белка, выделение которого с мочой вызывает нарушение фильтрации в почках и накопление мочевины и креатинина в крови животных, что приводит к интоксикации организма.

Нарушение функции всасывания в кишечнике приводит к изменению в минеральном обмене. На протяжении всего опыта наблюдается стойкая

тенденция к снижению количества кальция и железа, увеличению количества фосфора в сыворотке крови животных относительно контрольных групп (рис.3).



ис.3. Изменение содержания кальция и фосфора в сыворотке крови козлят при экспериментальном заражении туберкулезом (в % относительно стартовых значений)



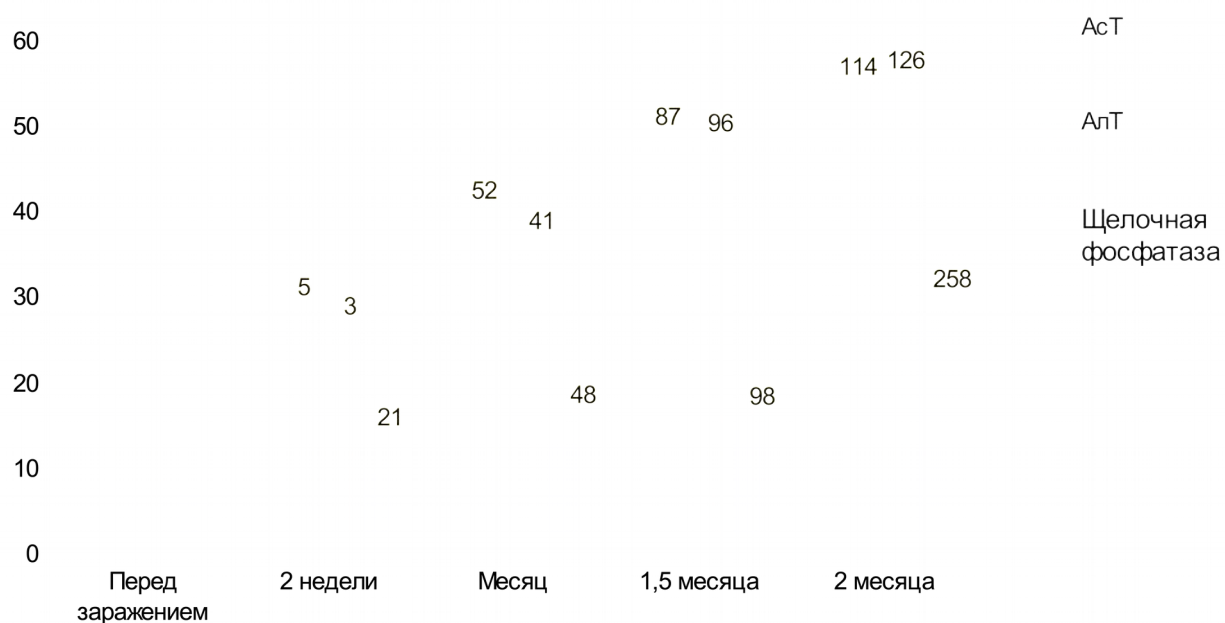
ис. 4. Изменение содержания железа и билирубин в сыворотке крови козлят при экспериментальном заражении туберкулезом (в % относительно стартовых значений)

Так содержание кальция снизилось на 37%, железа на 27,5% по отношению к уровню их перед заражением (рис.4). Концентрация фосфора

возрасла на 8,7%. Концентрация общего билирубина в сыворотке крови зараженных коз к концу опыта увеличилась на 43% (рис.4).

Снижение уровня общего кальция в сыворотке крови объясняется вымыванием кальция из организма, кальцинированию почечных лоханок.

Все это в совокупности приводит к развитию воспалительного процесса, что сопровождается повышением концентрации щелочной фосфатазы, а также к повышению ферментативной активности аминотрансфераз на протяжении всего опыта. К концу эксперимента активность АсТ увеличилась на 114% и составила 51,7 Е/л; АлТ- на 126%, что соответствует 52 Е/л. Активность щелочной фосфатазы также возрастала на протяжении всего опыта с 7,2 Е/л до 25,8 Е/л, что в 2,5 раза выше уровня перед заражением.



ис.5. Изменение содержания ферментов печени (АсТ и АлТ) и общего билирубина в сыворотке крови козлят при экспериментальном заражении туберкулезом (в % относительно стартовых значений)

Также с развитием воспалительного процесса увеличивается вязкость крови, что сопровождается увеличением содержания глюкозы в сыворотке крови больных животных (рис.6). Ее уровень к концу опыта повысился на 35%.

Увеличение концентрации холестерина на 55% и триглицеридов (их уровень к концу опыта в 3 раза превысил стартовое значение) в сыворотке

крови опытной группы животных указывает на нарушения в липидном обмене, развитие атеросклероза (рис.6).

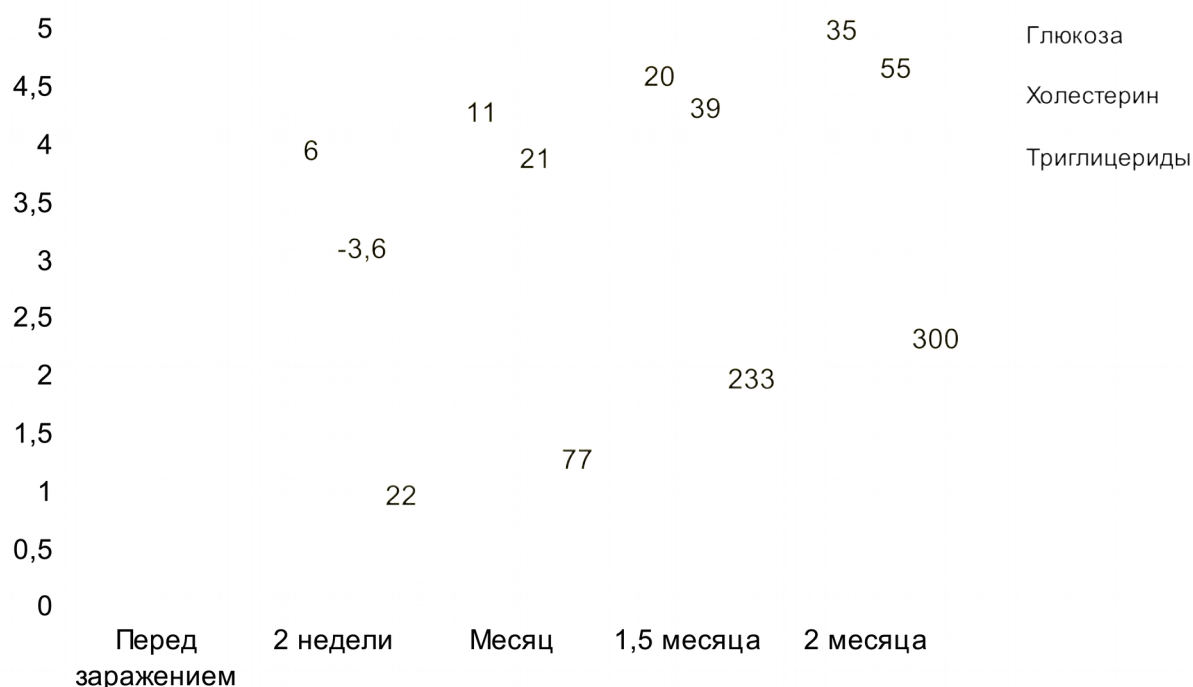
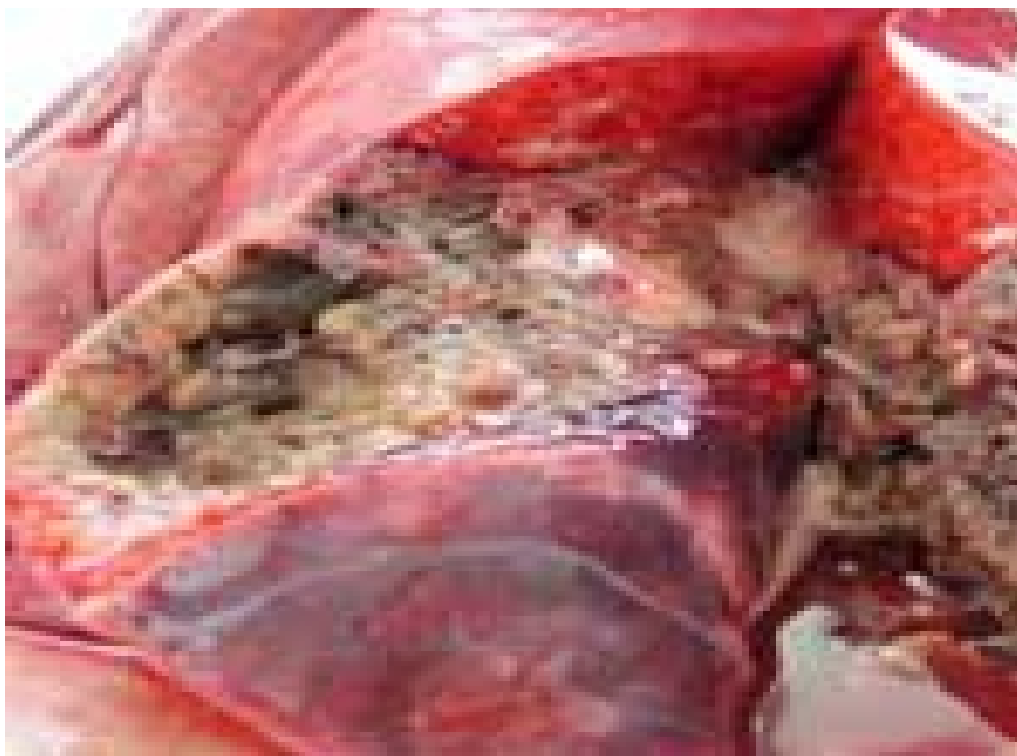


Рис.6. Изменение содержания глюкозы, холестерина и триглицеридов в сыворотке крови козлят при экспериментальном заражении туберкулезом (в % относительно исходных данных)

Совокупность всех этих нарушений гомеостаза крови зараженных животных сопровождается клиническими проявлениями болезни: увеличением лимфоузлов, пневмонией, диспепсией.

При патологоанатомическом осмотре зараженных *M.bovis* коз были обнаружены характерные для туберкулеза изменения: казеозная пневмония легких, множественные гранулемы в печени, селезенке, тотальное поражение лимфатических узлов с образованием лучистого казеоза и туберкулов. При гистологическом исследовании патматериала, у всех зараженных животных выявлены характерные для туберкулеза патоморфологические изменения (рис.7) .



А. Казеозные поражения легких



Б. Поражения селезенки

Рис. 7 Казеозные поражения легких (А). Поражения селезенки (Б)

Все эти исследования полностью подтверждены установленными нами изменениями в биохимическом составе крови коз опытной группы.

Таким образом, изменения биохимических показателей сыворотки крови отмечены у всех зараженных *M. bovis* коз. Степень проявления этих изменений находится в прямой зависимости от тяжести туберкулезного процесса. В связи с этим, биохимические исследования сыворотки крови можно использовать в качестве дополнительного теста при диагностических исследованиях на туберкулез у коз.

Кроме того, выяснение особенностей нарушения обменных процессов в крови больных туберкулезом коз, имеет теоретическое и практическое значение. Наблюдение и анализ развивающегося патологического процесса в динамике его развития способствует более углубленному представлению о механизме развития и особенностях инфекционного процесса туберкулеза.

3.2.2. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЙ ПАРАТУБЕРКУЛЕЗ КОЗ И ОВЕЦ

При пероральном заражении у опытных козлят и ягнят положительная реакция на туберкулины выявлена на 20 сутки после последнего заражения, у внутривенно зараженных животных положительная реакция (++++) наблюдалась на 62 сутки после заражения. Реакция на пальпебральную пробу проявлялась в виде припухлости (отека) нижнего века в месте введения туберкулинов.

Козлята и ягнята, зараженные алиментарным путем, реагировали слабее на оба туберкулина и в дальнейшем эта реакция не проявилась. До конца опыта у всех животных контрольных групп реакция на туберкулины была отрицательной (рис 8 и 9).



Рис.8 Припухлость нижнего века в области введения ППД-туберкулина для млекопитающих у козленка

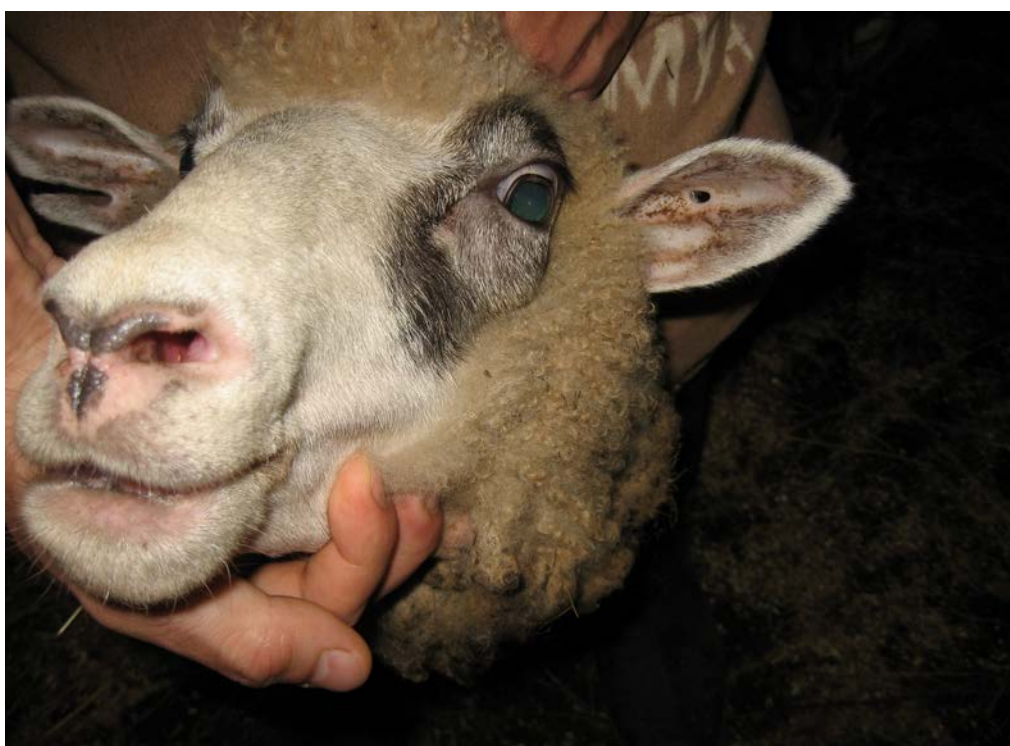


Рис.9 Припухлость нижнего века в области введения ППД-туберкулина для птиц у ягненка

Результаты биохимических исследований статистически обработаны и представлены в таблицах 4, 5, 6 и 7.

Таблица 4

Динамика биохимических показателей сыворотки крови козлят при пероральном заражении паратуберкулезом
(n = 11; M ± m; * p ≤ 0,05)

Контроль – n = 3, опыт 1 гр. – n = 5; 2-я гр. – n = 3

№	Показатель	Ед. изм.	Перед заражением		30 суток		60 суток	
			Контроль	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
1	Глюкоза	Mmol/l	3,5 ± 0,46	3,07 ± 0,15	3,7 ± 0,3	4,3 ± 0,39	3,3 ± 0,4	3,5 ± 0,3
2	Мочевина	Mmol/l	7,6 ± 0,4	7,6 ± 0,6	7,6 ± 0,7	8,6 ± 0,5	7,5 ± 1,5	10,2 ± 0,7*
3	Креатинин	umol/l	66,2 ± 3,7	75,88 ± 4,04*	69,67 ± 2,5	66,5 ± 5,2	76,87 ± 12,5	141,4 ± 5,2*
4	Щел. фосфатаза	Mккат/л	7,2 ± 0,2	7,65 ± 0,44	7,1 ± 0,2	8,2 ± 0,43*	8,1 ± 1,1	27,2 ± 1,8*
5	Общий белок	g/l	62,63 ± 2,5	63,9 ± 1,5	60,2 ± 1,9	60,8 ± 2,0	63,5 ± 4,45	81,7 ± 1,2*
6	АсТ	IU/L	34,67 ± 1,8	35,77 ± 2,7	19,37 ± 3,0	40,82 ± 8,2*	25 ± 4,4	65,5 ± 2,2*
7	АлТ	IU/L	32 ± 2,77	31,2 ± 4,5	23,9 ± 2,08	49,2 ± 6,9*	24,5 ± 3,06	74,8 ± 3,5*
8	Билирубин общий	umol/l	9,5 ± 0,5	9,15 ± 0,3	9,2 ± 1,1	8,25 ± 0,5	9,53 ± 0,23	12,05 ± 0,38*
9	Билирубин прям.	umol/l	0	0	0	0,5 ± 0,2*	0	1,2 ± 0,8*
10	Холестерин	Mmol/l	2,6 ± 0,3	3,05 ± 0,17	2,0 ± 0,02	3,4 ± 0,5	2,6 ± 0,35	4,9 ± 0,6*
11	Триглицериды	Mmol/l	0,87 ± 0,12	0,65 ± 0,19	0,8 ± 0,2	1,2 ± 0,16*	0,53 ± 0,06	1,9 ± 0,15*
12	Кальций	Mmol/l	2,37 ± 0,12	2,6 ± 0,12	2,5 ± 0,17	2,6 ± 0,35	2,4 ± 0,1	2,5 ± 0,19
13	Фосфор	Mmol/l	2 ± 0	1,9 ± 0,1	2 ± 0	2,3 ± 0,4	1,8 ± 0,2	1,8 ± 0,2
14	Железо	Mmol/l	27,33 ± 1,16	25 ± 2	22 ± 0,16	23,5 ± 3	24,67 ± 2,5	20,5 ± 1,7*

Продолжение таблицы 4

№	Показатель	Ед. изм.	85 суток		180 суток		333 сутки (перед убоем)	
			Контроль	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт

1	Глюкоза	Mmol/l	3,2 ± 0,01	2,35 ± 0,19*	3,5 ± 0,3	2,2 ± 0,09	3,4 ± 0,2	2,2 ± 0,2
2	Мочевина	Mmol/l	7,0 ± 0,87	14,1 ± 1,15*	7,5 ± 0,36	14,8 ± 0,13*	8,4 ± 0,47	15,2 ± 0,2*
3	Креатинин	umol/l	76,87 ± 12,5	265,5 ± 3,2*	70,07 ± 0,46	181 ± 0,42*	76,87 ± 5,9	225,2 ± 0,3*
4	Щел. фосфатаза	Mккат/л	7,3 ± 0,4	27 ± 2,3*	8,3 ± 0,9	31 ± 0,3*	8,4 ± 0,66	32 ± 0,2*
5	Общий белок	g/l	70,5 ± 2,02	98,4 ± 0,6*	69,2 ± 1,8	94 ± 0,12*	69,5 ± 3,2	101 ± 0,3*
6	АсТ	IU/L	19,2 ± 3,06	65 ± 3,9*	21,8 ± 2,4	12 ± 0,09	26,03 ± 1,7	9,6 ± 0,1*
7	АлТ	IU/L	25,87 ± 2,36	63 ± 2,8*	18,7 ± 0,85	13,2 ± 0,2	25,5 ± 3,7	8,7 ± 0,3
8	Билирубин общий	umol/l	9,3 ± 0,36	13,6 ± 1,9*	9,8 ± 0,7	16,3 ± 0,06*	10,07 ± 0,3	16,7 ± 0,2*
9	Билирубин прям.	umol/l	0	1,9 ± 0,2*	0,06 ± 0,1	0,5 ± 0,08	0,1 ± 0,1	0,9 ± 0,1*
10	Холестерин	Mmol/l	2,3 ± 0,29	3,8 ± 1,2*	2,7 ± 0,17	4,1 ± 0,2	2,6 ± 0,25	4,1 ± 0,2
11	Триглицериды	Mmol/l	0,5 ± 0,08	1,1 ± 0,1*	0,52 ± 0,12	1,5 ± 0,06*	0,47 ± 0,03	2,0 ± 0,09*
12	Кальций	Mmol/l	2,5 ± 0,2	2,07 ± 0,1	2,5 ± 0,2	1,9 ± 0,05*	2,4 ± 0,1	1,7 ± 0,1*
13	Фосфор	Mmol/l	1,8 ± 0,1	2,28 ± 0,22*	1,6 ± 0,25	3,2 ± 0,24*	1,7 ± 0,25	3,2 ± 0,2*
14	Железо	Mmol/l	21,9 ± 1,65	20,92 ± 1,3*	20,4 ± 1,44	18,2 ± 0,05	22,6 ± 1,15	16,8 ± 0,2*

Таблица 5

Динамика биохимических показателей сыворотки крови ягнят при пероральном заражении паратуберкулезом

(n = 11; M ± m; * p ≤ 0,05)

Контроль – n = 3, опыт 1 гр. – n = 5; 2-я гр. – n = 3

№	Показатель	Ед. изм.	Перед заражением		30 суток		60 суток	
			Контроль	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
1	Глюкоза	Mmol/l	3,3 ± 0,02	3,3 ± 0,3	3,4 ± 0,14	3,8 ± 0,37	3,3 ± 0,3	4,6 ± 0,5
2	Мочевина	Mmol/l	7,5 ± 0,4	7,1 ± 0,12*	8,0 ± 0,28	7,7 ± 0,8	8,4 ± 0,17	9,4 ± 0,3*
3	Креатинин	umol/l	63,5 ± 0,7	69,1 ± 7,6	58,67 ± 0,58	65,75 ± 6,8	71,23 ± 3,07	142,3 ± 7,75*

4	Щел. фосфатаза	Мккат/л	7,1 ± 0,14	7,65 ± 0,57	8,4 ± 0,3	8,08 ± 0,47	8,8 ± 1,05	16,7 ± 2,03*
5	Общий белок	g/l	60 ± 0,3	64,08 ± 1,7*	57,6 ± 1,13	64,55 ± 4,58	68 ± 3,5	81,7 ± 3,1*
6	АсТ	IU/L	34,95 ± 1,9	37,72 ± 2,75	26,33 ± 0,58	42,55 ± 6,0*	25,9 ± 0,52	56,7 ± 1,5*
7	АлТ	IU/L	27,25 ± 0,07	30,55 ± 3,5	23,65 ± 0,35	40,05 ± 3,2*	27,13 ± 0,12	52,5 ± 2,2*
8	Билирубин общий	umol/l	9,4 ± 0,14	9,5 ± 0,42	8,05 ± 0,07	10 ± 0,57	9,6 ± 0,2	13,33 ± 0,47*
9	Билирубин прям.	umol/l	0	0	0	0	0	0,47 ± 0,25*
10	Холестерин	Mmol/l	2,6 ± 0,14	2,7 ± 0,36	1,7 ± 0,14	2,7 ± 0,34*	2,9 ± 0,2	3,05 ± 0,19
11	Триглицериды	Mmol/l	0,55 ± 0,12	0,88 ± 0,15	0,63 ± 0,04	1,1 ± 0,11*	0,53 ± 0,03	2,1 ± 0,13*
12	Кальций	Mmol/l	2,4 ± 0,14	2,6 ± 0,3	2,95 ± 0,07	2,4 ± 0,4	2,3 ± 0,1	2,3 ± 0,25
13	Фосфор	Mmol/l	1,95 ± 0,07	2,08 ± 0,15	2,3 ± 0,14	1,95 ± 0,33	1,73 ± 0,06	1,42 ± 0,22
14	Железо	Mmol/l	26,5 ± 0,71	25 ± 2	27,67 ± 1,53	26 ± 2,8	20,33 ± 1,53	18,75 ± 1,9

Продолжение таблицы 5

№	Показатель	Ед. изм.	85 суток		180 суток		333 сутки (перед убоем)	
			Контроль	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
1	Глюкоза	Mmol/l	3,05 ± 0,2	2,93 ± 0,15	3,2 ± 0,14	2,35 ± 0,4	3,8 ± 0,14	2,5 ± 0,07*
2	Мочевина	Mmol/l	7,6 ± 0,14	14,77 ± 0,75*	8,25 ± 0,07	16,1 ± 0,09*	8,75 ± 0,21	15 ± 0,2*
3	Креатинин	umol/l	71,6 ± 0,1	181 ± 5,5*	81 ± 2	207 ± 0,2*	84,4 ± 4,8	255 ± 0,3*
4	Щел. фосфатаза	Мккат/л	7,5 ± 0,07	25,9 ± 1,8*	8,3 ± 0,21	31,8 ± 2,3	8,7 ± 0,21	41,5 ± 2,7*
5	Общий белок	g/l	70 ± 1,7	83,7 ± 2,2*	72 ± 1,7	98,7 ± 1,12*	63,9 ± 0,7	98,4 ± 1,3*
6	АсТ	IU/L	20,8 ± 1,6	35,2 ± 5,5*	22,6 ± 0,2	66,4 ± 2,8*	24,4 ± 0,02	10,7 ± 1,2*
7	АлТ	IU/L	27,35 ± 0,5	42 ± 4,8*	19,6 ± 0,5	59,5 ± 2,5*	25,3 ± 1,2	9,5 ± 1,16*
8	Билирубин общий	umol/l	9,9 ± 0,1	13,9 ± 0,9*	10,3 ± 0,21	17 ± 1,12*	9,4 ± 0,14	16,8 ± 1,1*
9	Билирубин прям.	umol/l	0	1,2 ± 0,38*	0	0,6 ± 0,08*	0	1,9 ± 0,05*
10	Холестерин	Mmol/l	2,1 ± 0,14	3,88 ± 0,2*	2,85 ± 0,07	3,9 ± 0,6	2,9 ± 0,14	4,1 ± 0,8*
11	Триглицериды	Mmol/l	0,63 ± 0,03	2,2 ± 0,3*	0,52 ± 0,03	1,6 ± 0,2	0,47 ± 0,03	2,5 ± 0,21*
12	Кальций	Mmol/l	2,25 ± 0,07	2,15 ± 0,25	2,3 ± 0,07	2 ± 0,04	2,35 ± 0,07	1,6 ± 0,06*

13	Фосфор	Mmol/l	1,9 ± 0,06	2,5 ± 0,15*	1,8 ± 0,14	3 ± 0,02*	1,6 ± 0,04	3,1 ± 0,04*
14	Железо	Mmol/l	21 ± 1,41	20 ± 2,3	23 ± 1,41	18,7 ± 1,7	20,1 ± 1,27	16,2 ± 1,14*

Таблица 6

Динамика биохимических показателей сыворотки крови козлят при внутривенном заражении паратуберкулезом

(n = 11; M ± m; * p ≤ 0,05)

Контроль – n = 3, опыт – n = 5

№	Показатель	Ед. изм.	Перед заражением		30 суток		60 суток	
			Контроль	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
1	Глюкоза	Mmol/l	3,5 ± 0,46	3,07 ± 0,15	3,7 ± 0,3	4,3 ± 0,39	3,3 ± 0,4	3,5 ± 0,3
2	Мочевина	umol/l	7,6 ± 0,4	7,6 ± 0,6	7,6 ± 0,7	8,6 ± 0,5	7,5 ± 1,5	10,2 ± 0,7*
3	Креатинин	umol/l	66,2 ± 3,7	75,88 ± 4,04*	69,67 ± 2,5	66,5 ± 5,2	76,87 ± 12,5	141,4 ± 5,2*
4	Щел. фосфатаза	Mккат/л	7,2 ± 0,2	7,65 ± 0,44	7,1 ± 0,2	8,2 ± 0,43*	8,1 ± 1,1	27,2 ± 1,8*
5	Общий белок	g/l	62,63 ± 2,5	63,9 ± 1,5	60,2 ± 1,9	60,8 ± 2,0	63,5 ± 4,45	81,7 ± 1,2*
6	АсТ	IU/L	34,67 ± 1,8	35,77 ± 2,7	19,37 ± 3,0	40,82 ± 8,2*	25 ± 4,4	65,5 ± 2,2*
7	АлТ	IU/L	32 ± 2,77	31,2 ± 4,5	23,9 ± 2,08	49,2 ± 6,9*	24,5 ± 3,06	74,8 ± 3,5*
8	Билирубин общий	umol/l	9,5 ± 0,5	9,15 ± 0,3	9,2 ± 1,1	8,25 ± 0,5	9,53 ± 0,23	12,05 ± 0,38*
9	Билирубин прям.	umol/l	0	0	0	0,5 ± 0,2*	0	1,2 ± 0,8*
10	Холестерин	Mmol/l	2,6 ± 0,3	3,05 ± 0,17	2,0 ± 0,02	3,4 ± 0,5	2,6 ± 0,35	4,9 ± 0,6*
11	Триглицериды	Mmol/l	0,87 ± 0,12	0,65 ± 0,19	0,8 ± 0,2	1,2 ± 0,16*	0,53 ± 0,06	1,9 ± 0,15*
12	Кальций	Mmol/l	2,37 ± 0,12	2,6 ± 0,12	2,5 ± 0,17	2,6 ± 0,35	2,4 ± 0,1	2,5 ± 0,19
13	Фосфор	Mmol/l	2 ± 0	1,9 ± 0,1	2 ± 0	2,3 ± 0,4	1,8 ± 0,2	1,8 ± 0,2
14	Железо	Mmol/l	27,33 ± 1,16	25 ± 2	22 ± 0,16	23,5 ± 3	24,67 ± 2,5	20,5 ± 1,7*

Продолжение таблицы 6

№	Показатель	Ед. изм.	85 суток		180 суток		333 сутки (перед убоем)	
			Контроль	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
1	Глюкоза	Mmol/l	3,2 ± 0,01	2,35 ± 0,19*	3,5 ± 0,3	2,2	3,4 ± 0,2	1,2
2	Мочевина	umol/l	7,0 ± 0,87	14,1 ± 1,15*	7,5 ± 0,36	22	8,4 ± 0,47	34,7
3	Креатинин	umol/l	76,87 ± 12,5	265,5 ± 3,2*	70,07 ± 0,46	335	76,87 ± 5,9	654,2
4	Щел. фосфатаза	Mккат/л	7,3 ± 0,4	48 ± 2,3*	8,3 ± 0,9	10,2	8,4 ± 0,66	4,7
5	Общий белок	g/l	70,5 ± 2,02	98,4 ± 0,6*	69,2 ± 1,8	109,2	69,5 ± 3,2	53,6
6	АсТ	IU/L	19,2 ± 3,06	110 ± 3,9*	21,8 ± 2,4	12	26,03 ± 1,7	7,8
7	АлТ	IU/L	25,87 ± 2,36	135 ± 2,8*	18,7 ± 0,85	13,2	25,5 ± 3,7	4,3
8	Билирубин общий	umol/l	9,3 ± 0,36	17,4 ± 1,9*	9,8 ± 0,7	26,8	10,07 ± 0,3	50,3
9	Билирубин прям.	umol/l	0	1,9 ± 0,2*	0,06 ± 0,1	3,1	0,1 ± 0,1	4,3
10	Холестерин	Mmol/l	2,3 ± 0,29	5,2 ± 1,2*	2,7 ± 0,17	6,7	2,6 ± 0,25	11,5
11	Триглицериды	Mmol/l	0,5 ± 0,08	2,6 ± 0,1*	0,52 ± 0,12	3,2	0,47 ± 0,03	3,9
12	Кальций	Mmol/l	2,5 ± 0,2	2,07 ± 0,1	2,5 ± 0,2	1,9	2,4 ± 0,1	1,7
13	Фосфор	Mmol/l	1,8 ± 0,1	2,28 ± 0,22*	1,6 ± 0,25	3,15	1,7 ± 0,25	3,2
14	Железо	Mmol/l	21,9 ± 1,65	18,92 ± 1,3*	20,4 ± 1,44	14,2	22,6 ± 1,15	10,8

Таблица 7

Динамика биохимических показателей сыворотки крови ягнят при внутривенном заражении паратуберкулезом

(n = 11; M ± m; * p ≤ 0,05)

Контроль – n = 3, опыт 1 гр. – n = 5; 2-я гр. – n = 3

№	Показатель	Ед. изм.	Перед заражением	30 суток	60 суток
---	------------	----------	------------------	----------	----------

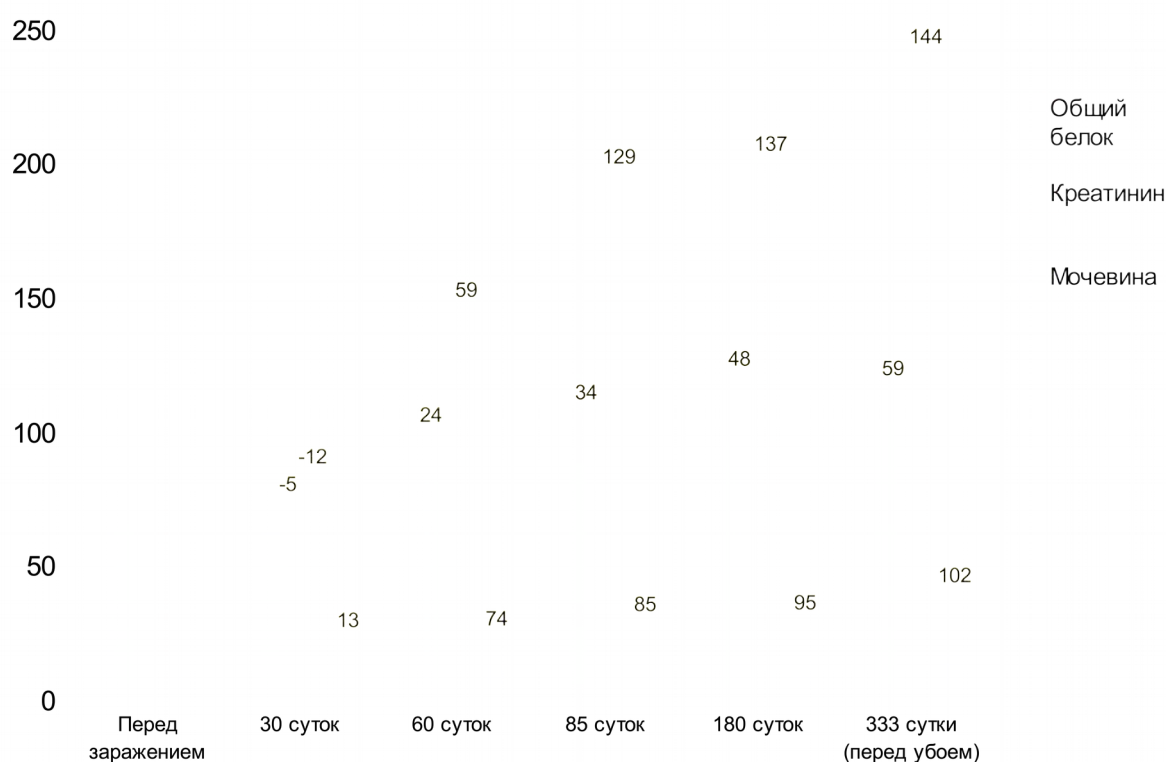
			Контроль	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
1	Глюкоза	Mmol/l	3,3 ± 0,02	3,3 ± 0,3	3,4 ± 0,14	3,8 ± 0,37	3,3 ± 0,3	4,6 ± 0,5
2	Мочевина	umol/l	7,5 ± 0,4	7,1 ± 0,12*	8,0 ± 0,28	7,7 ± 0,8	8,4 ± 0,17	9,4 ± 0,3*
3	Креатинин	umol/l	63,5 ± 0,7	69,1 ± 7,6	58,67 ± 0,58	65,75 ± 6,8	71,23 ± 3,07	142,3 ± 7,75*
4	Щел. фосфатаза	Mккат/л	7,1 ± 0,14	7,65 ± 0,57	8,4 ± 0,3	8,08 ± 0,47	8,8 ± 1,05	16,7 ± 2,03*
5	Общий белок	g/l	60 ± 0,3	64,08 ± 1,7*	57,6 ± 1,13	64,55 ± 4,58	68 ± 3,5	81,7 ± 3,1*
6	АсТ	IU/L	34,95 ± 1,9	37,72 ± 2,75	26,33 ± 0,58	42,55 ± 6,0*	25,9 ± 0,52	56,7 ± 1,5*
7	АлТ	IU/L	27,25 ± 0,07	30,55 ± 3,5	23,65 ± 0,35	40,05 ± 3,2*	27,13 ± 0,12	52,5 ± 2,2*
8	Билирубин общий	umol/l	9,4 ± 0,14	9,5 ± 0,42	8,05 ± 0,07	10 ± 0,57	9,6 ± 0,2	13,33 ± 0,47*
9	Билирубин прям.	umol/l	0	0	0	0	0	0,47 ± 0,25*
10	Холестерин	Mmol/l	2,6 ± 0,14	2,7 ± 0,36	1,7 ± 0,14	2,7 ± 0,34*	2,9 ± 0,2	3,05 ± 0,19
11	Триглицериды	Mmol/l	0,55 ± 0,12	0,88 ± 0,15	0,63 ± 0,04	1,1 ± 0,11*	0,53 ± 0,03	2,1 ± 0,13*
12	Кальций	Mmol/l	2,4 ± 0,14	2,6 ± 0,3	2,95 ± 0,07	2,4 ± 0,4	2,3 ± 0,1	2,3 ± 0,25
13	Фосфор	Mmol/l	1,95 ± 0,07	2,08 ± 0,15	2,3 ± 0,14	1,95 ± 0,33	1,73 ± 0,06	1,42 ± 0,22
14	Железо	Mmol/l	26,5 ± 0,71	25 ± 2	27,67 ± 1,53	26 ± 2,8	20,33 ± 1,53	18,75 ± 1,9

Продолжение таблицы 7

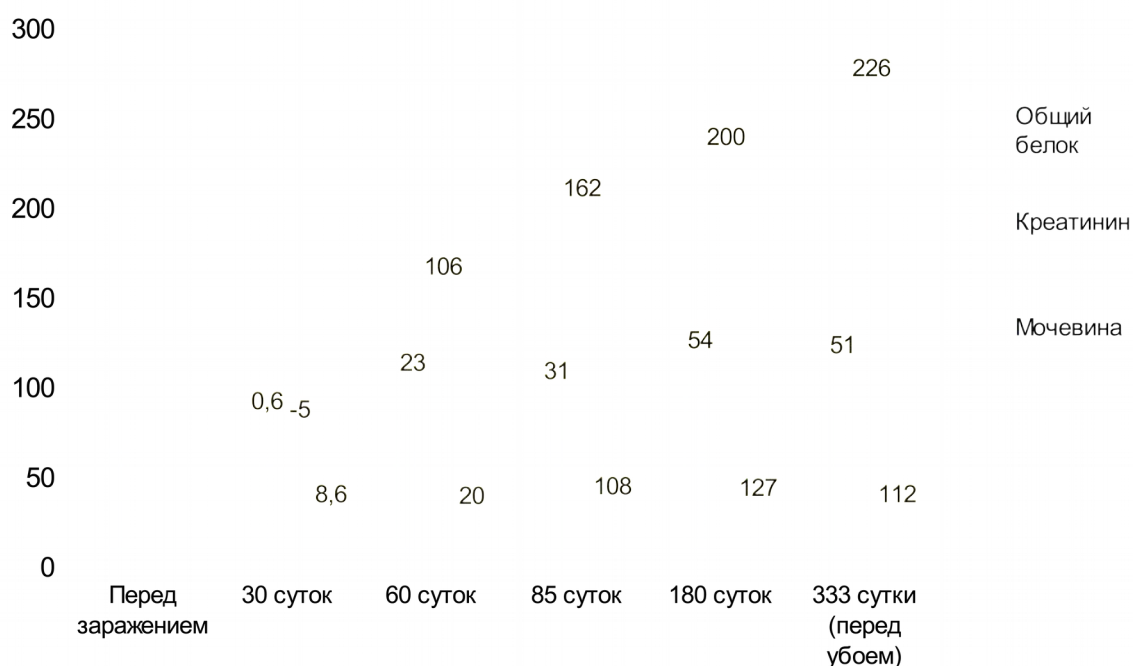
№	Показатель	Ед. изм.	85 суток		180 суток		333 сутки (перед убоем)	
			Контроль	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
1	Глюкоза	Mmol/l	3,05 ± 0,2	2,93 ± 0,15	3,2 ± 0,14	2,35	3,8 ± 0,14	1,9
2	Мочевина	umol/l	7,6 ± 0,14	14,77 ± 0,75*	8,25 ± 0,07	16,15	8,75 ± 0,21	22,4
3	Креатинин	umol/l	71,6 ± 0,1	225 ± 5,5*	81 ± 2	407	84,4 ± 4,8	741
4	Щел. фосфатаза	Mккат/л	7,5 ± 0,07	42 ± 1,8*	8,3 ± 0,21	56	8,7 ± 0,21	94
5	Общий белок	g/l	70 ± 1,7	86,4 ± 2,2*	72 ± 1,7	98,7	63,9 ± 0,7	103,4
6	АсТ	IU/L	20,8 ± 1,6	66,03 ± 5,5*	22,6 ± 0,2	10,4	24,4 ± 0,02	6,8
7	АлТ	IU/L	27,35 ± 0,5	69,7 ± 4,8*	19,6 ± 0,5	9,5	25,3 ± 1,2	5,2

8	Билирубин общий	umol/l	9,9 ± 0,1	17,9 ± 0,9*	10,3 ± 0,21	18,2	9,4 ± 0,14	26,8
9	Билирубин прям.	umol/l	0	1,2 ± 0,38*	0	2,6	0	3,9
10	Холестерин	Mmol/l	2,1 ± 0,14	3,88 ± 0,2*	2,85 ± 0,07	4,7	2,9 ± 0,14	8,9
11	Триглицериды	Mmol/l	0,63 ± 0,03	2,2 ± 0,3*	0,52 ± 0,03	2,6	0,47 ± 0,03	3,1
12	Кальций	Mmol/l	2,25 ± 0,07	2,15 ± 0,25	2,3 ± 0,07	2	2,35 ± 0,07	1,6
13	Фосфор	Mmol/l	1,9 ± 0,06	2,5 ± 0,15*	1,8 ± 0,14	3	1,6 ± 0,04	3,1
14	Железо	Mmol/l	21 ± 1,41	20 ± 2,3	23 ± 1,41	14,7	20,1 ± 1,27	10,2

Из таблиц 4 и 5 видно, что в группах животных, зараженных перорально, на протяжении всего периода эксперимента наблюдалось стойкое увеличение содержания азотистых соединений в сыворотке крови. Так, у коз содержание общего белка перед заражением составляло 63,9 г/л, к 60 суткам его уровень вырос на 24 % и составил 81,7 г/л, а к концу опыта его уровень достиг 101 г/л у коз и 98 г/л у овец, что на 60% выше стартового значения. Концентрация мочевины и креатинина также возрастала в течение всего опыта. Перед заражением уровень креатинина у коз 75,8 мкмоль/л, у овец 69 мкмоль/л, на 60 сутки его уровень вырос 59%, а к концу опыта его содержание в сыворотке крови увеличилось почти в 1,5 раза. Концентрация мочевины также возрастала на протяжении всего эксперимента, и к его завершению ее уровень в сыворотке крови алиментарно зараженных козлят и ягнят составил 15 ммоль/л, что в 2 раза выше ее концентрации перед заражением (рис.10,11).

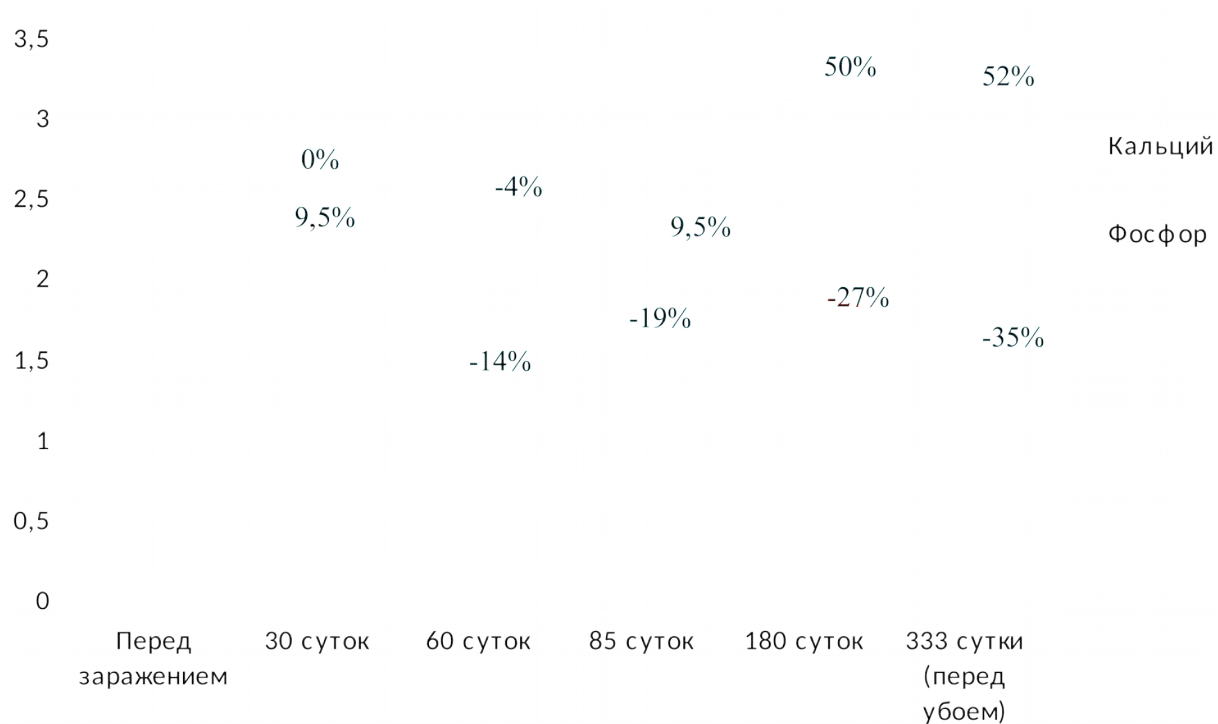


ис.10. Изменение содержания мочевины, креатинина, и общего белка в сыворотке крови козлят при пероральном заражении паратуберкулезом (в % относительно стартовых значений)



ис.11. Изменение содержания мочевины, креатинина и общего белка в сыворотке крови ягнят при пероральном заражении паратуберкулезом (в % относительно стартовых значений).

Также наблюдались нарушения и в минеральном обмене. Содержание кальция в сыворотке крови в группах животных, зараженных алиментарным путем, постепенно снижалось в течение всего эксперимента, и к концу его уровень упал на 35 %, в то время как концентрация неорганического фосфора, наоборот, возрастала, и к концу эксперимента его значение на 52 % превышало стартовое значение (рис.12,13). Аналогичные изменения наблюдались с железом и билирубином. Уровень железа в конце опыта снизился на 68 % у коз и овец и составил 16,2 ммоль/л, в свою очередь концентрация общего билирубина в сыворотке крови козлят увеличилась на 83 %, у ягнят – на 70 % по сравнению с величинами перед заражением и составил 17,7 и 16,8 мкмоль/л соответственно (рис. 14,15).



ис.12. Изменение содержания кальция и фосфора в сыворотке крови козлят при пероральном заражении паратуберкулезом (в % относительно стартовых значений)

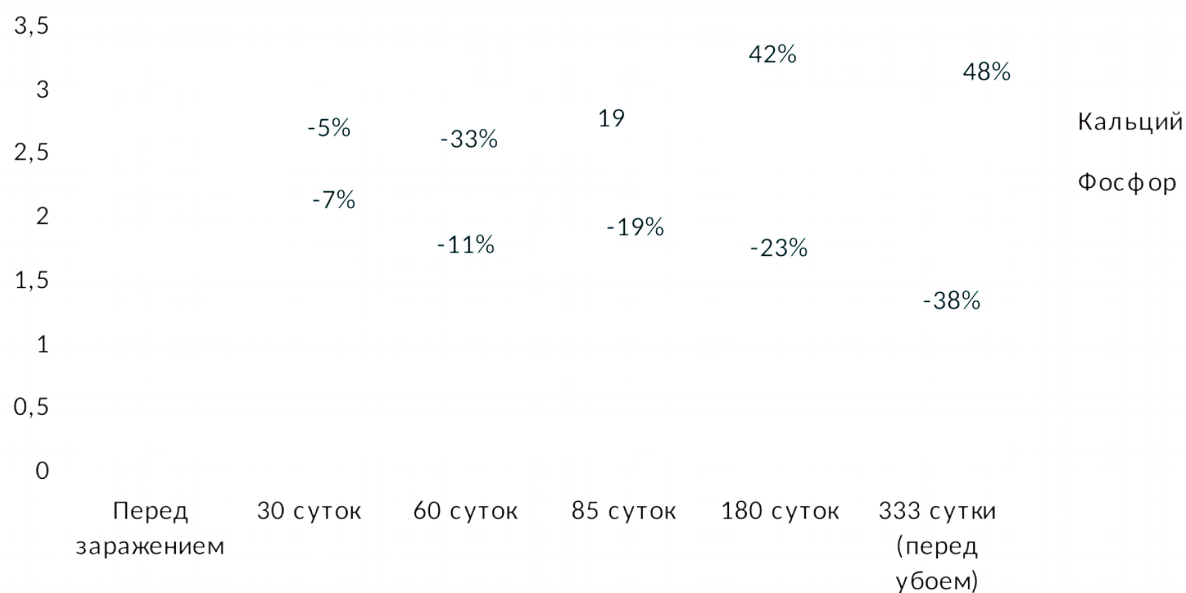


Рис.13. Изменение содержания кальция и фосфора в сыворотке крови ягнят при пероральном заражении паратуберкулезом (в % относительно стартовых значений)

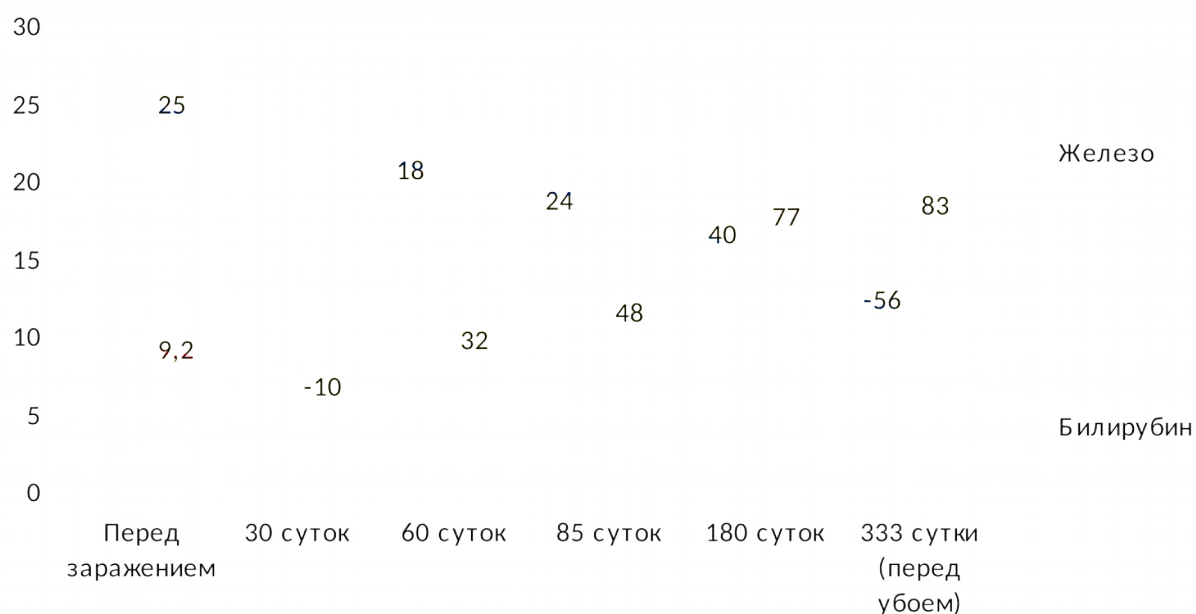


Рис.14. Изменение содержания железа и общего билирубина в сыворотке крови козлят при пероральном заражении паратуберкулезом (в % относительно стартовых значений)

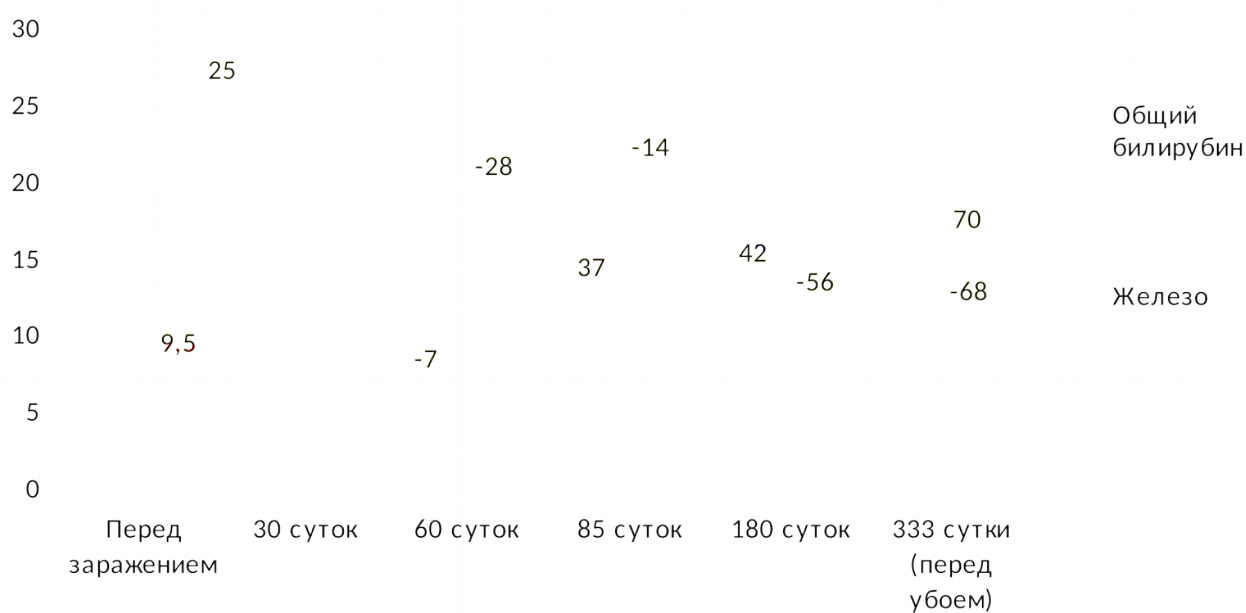


Рис.15. Изменение содержания железа и общего билирубина в сыворотке крови ягнят при пероральном заражении паратуберкулезом (в % относительно стартовых значений)

Полученные данные свидетельствуют об изменениях ферментативной активности крови опытных групп животных при пероральном заражении паратуберкулезом.

На 60 суток после последнего заражения содержание щелочной фосфатазы сыворотки крови повысилась на 84 % у козлят и на 120 % у ягнят,

что составляет 27,2 и 16,7 мккат/л соответственно. К концу опыта эти величины увеличились в 3 раза у козлят и почти в 4,5 раза у ягнят (рис.16,17).

Активность АсТ и АлТ вначале возрастала и к 85 суткам увеличилась более чем на 80 % у козлят и на 103 % у ягнят, что составляло 65 и 63 Е/л соответственно, в то время как активность перед заражением составляла 35 и 31 Е/л у козлят соответственно и 37 и 31 Е/л у ягнят. Затем их активность начала стремительно снижаться и к концу опыта упала на 73 и 74 % у коз и на 77 и 72% у овец, что соответствует уровню примерно 9,5 Е/л – АсТ и 8,7 Е/л – АлТ (рис. 16,17).

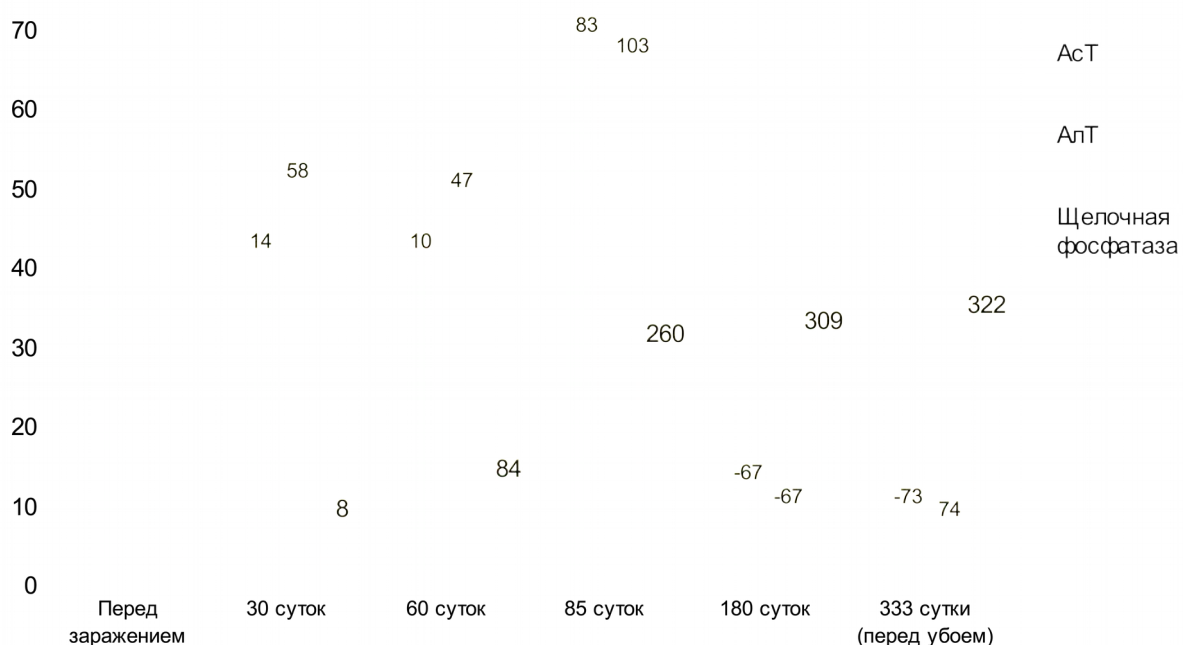


Рис.16. Изменение содержания ферментов печени (АсТ и АлТ) и щелочной фосфатазы в сыворотке крови козлят при пероральном заражении паратуберкулезом (в % относительно стартовых значений)

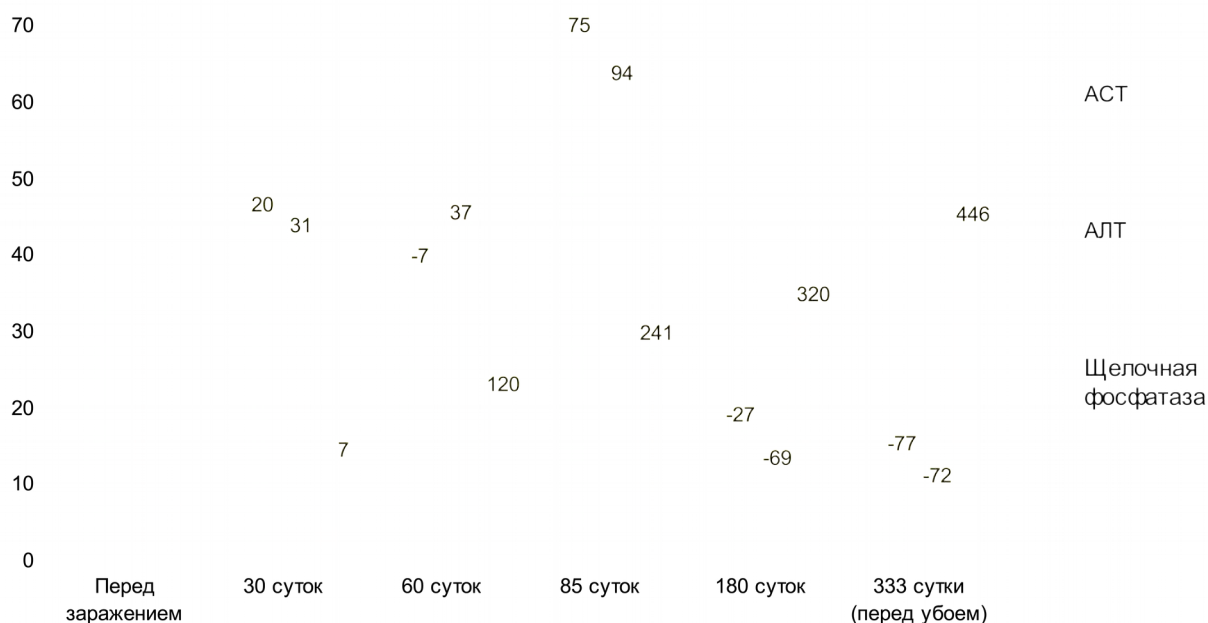
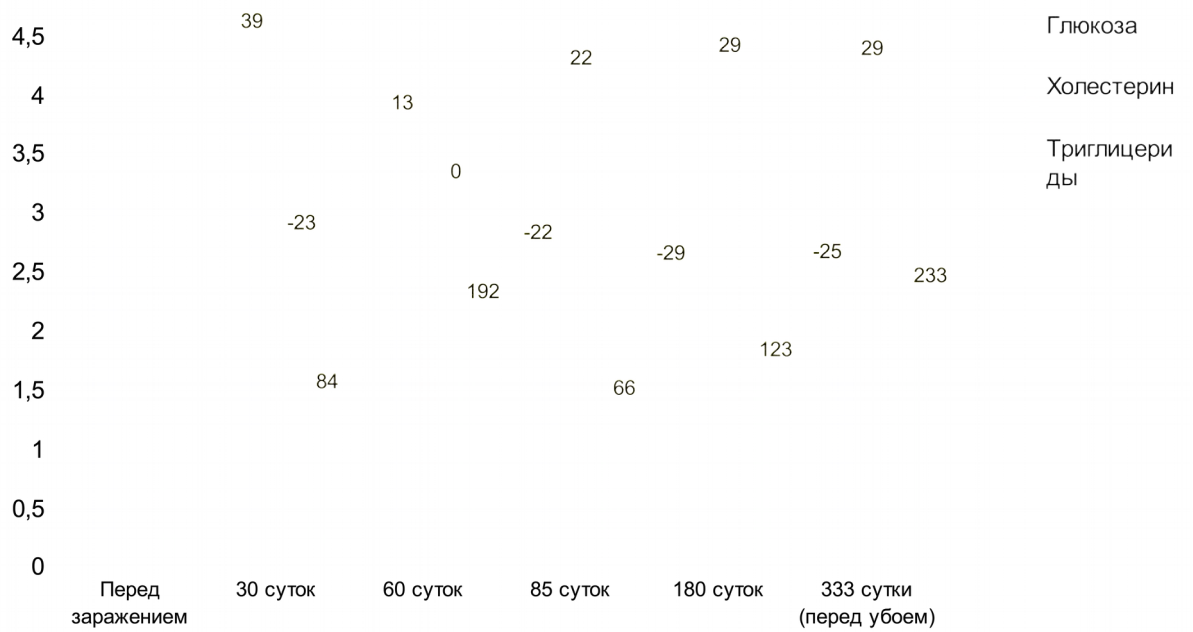


Рис.17. Изменение содержания ферментов печени (АсТ и АлТ) и щелочной фосфатазы в сыворотке крови ягнят при пероральном заражении паратуберкулезом (в % относительно стартовых значений)

Величины таких показателей как глюкоза, общий холестерин и триглицериды в сыворотке крови алиментарно зараженных паратуберкулезом коз и овец также менялись по ходу эксперимента.

Содержание глюкозы в начале эксперимента возрастало и на 30 суток превышало стартовые значения на 39 % у козлят и 15 % у ягнят, затем ее концентрация в крови опытных животных снижалась, и к концу опыта ее значения были на 25 % ниже стартовых величин у козлят и на 24 % у ягнят (рис.18,19).

При этом содержание общего холестерина и триглицеридов на протяжении всего опыта имело стойкую тенденцию к увеличению. Так, у козлят перед заражением концентрация холестерина в сыворотке крови составляла 3 ммоль/л, триглицеридов - 0,65 ммоль/л, а перед убоем животных их величины возросли на 29 и 233 % соответственно, что составило 4,1 и 2 ммоль/л соответственно (рис.17). У овец к концу опыта содержание холестерина увеличилось на 48 %, триглицеридов – на 186% (рис.18).



ис.18. Изменение содержания глюкозы, холестерина и триглицеридов в сыворотке крови козлят при пероральном заражении паратуберкулезом (в % относительно стартовых значений)

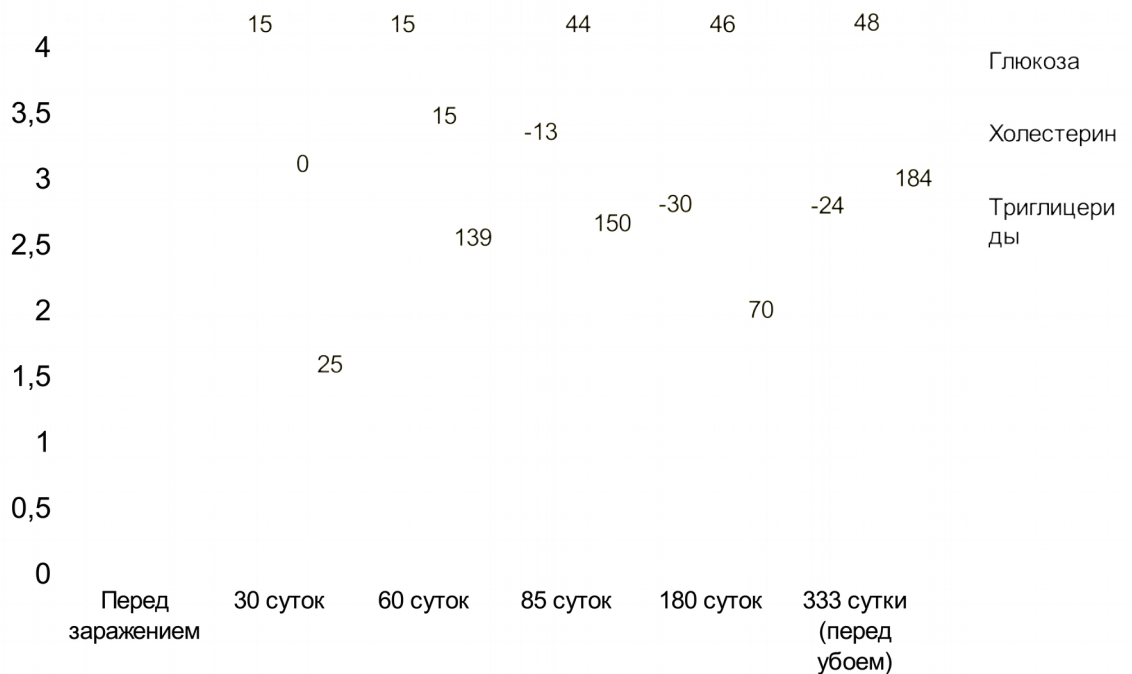
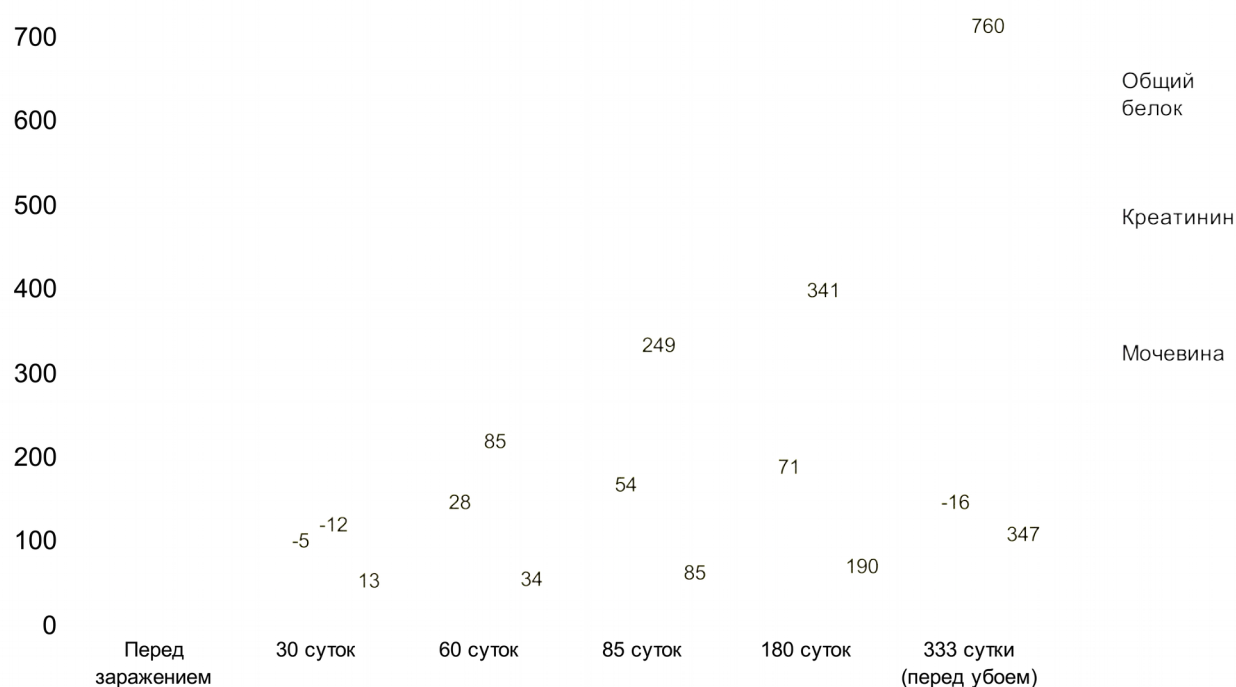


Рис.19. Изменение содержания глюкозы, холестерина и триглицеридов в сыворотке крови ягнят при пероральном заражении паратуберкулезом (в % относительно стартовых значений)

Теперь рассмотрим результаты биохимических исследований у животных 2-й и 5-й опытных групп, зараженных внутривенно.

Уже на 60 сутки после заражения отмечено повышение концентрации общего белка в сыворотке крови на 28%, а к 180 суткам его значение составило 71 % и составило 109 г/л, относительно такового перед заражением (63,9 г/л). Так на 60 сутки содержание мочевины в сыворотке крови коз и овец увеличилось на 34% и составило 10,3 ммоль/л, креатинина – на 85 %, что соответствует 141 мкмоль/л, а к концу опыта их значение выросло в 4,5 раза и в 7 раз соответственно. Концентрация общего белка к моменту завершения опыта падает на 16 %, уровень глюкозы снижается на 61 % у козлят и на 42 % у ягнят (рис.20,21).



ис.20. Изменение содержания мочевины, креатинина и общего белка в сыворотке крови козлят при внутривенном заражении паратуберкулезом (в % относительно стартовых значений)

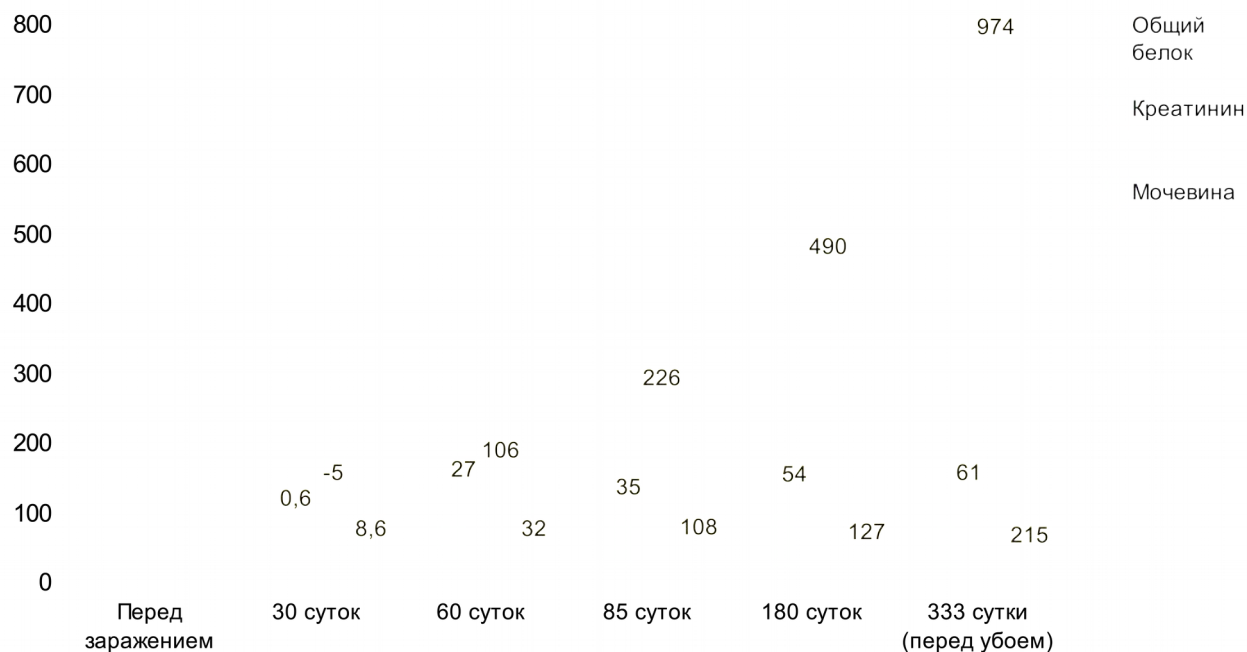


Рис.21. Изменение содержания мочевины, креатинина, щелочной фосфатазы и общего белка в сыворотке крови ягнят при внутривенном заражении паратуберкулезом (в % относительно стартовых значений)

На протяжении всего опыта наблюдается стойкая тенденция к снижению содержания кальция и железа, увеличение количества фосфора в сыворотке крови животных относительно контрольных групп. Так, содержание кальция снизилось у козлят на 35%, у ягнят на 38%, уровень железа снизился на 68% у козлят и на 60% у ягнят. Содержание фосфора возросло на 48%. Содержание билирубина на 85 сутки увеличилось на 89 %, к концу опыта почти в 2 раза превысило значение перед заражением (рис.22,23,24,25).

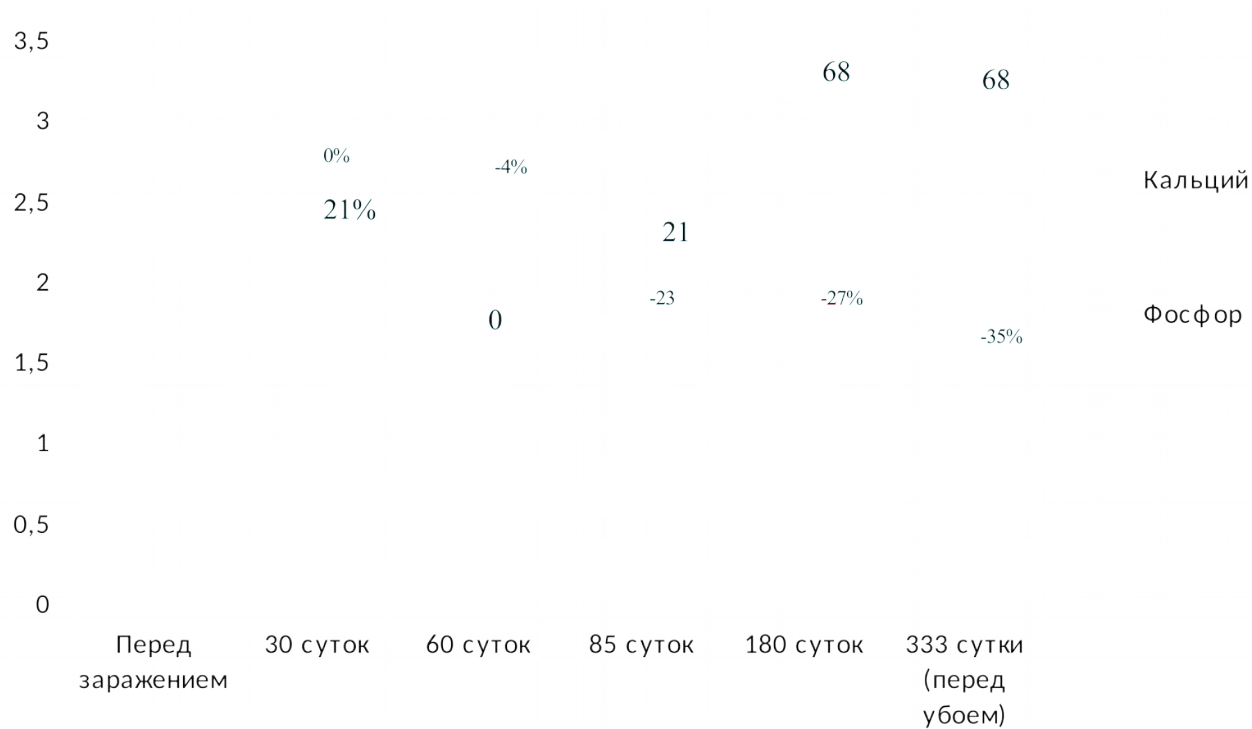


Рис.22. Изменение содержания кальция и фосфора в сыворотке крови козлят при внутривенном заражении паратуберкулезом (в % относительно стартовых значений)

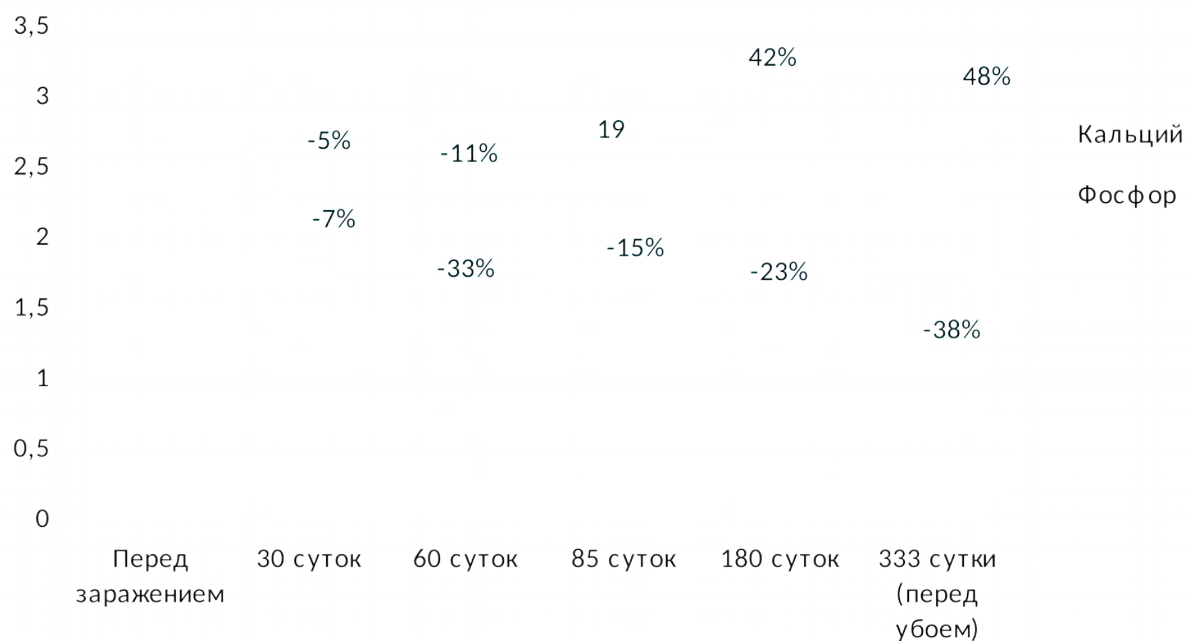


Рис.23. Изменение содержания кальция и фосфора в сыворотке крови ягнят при внутривенном заражении паратуберкулезом (в % относительно стартовых значений)

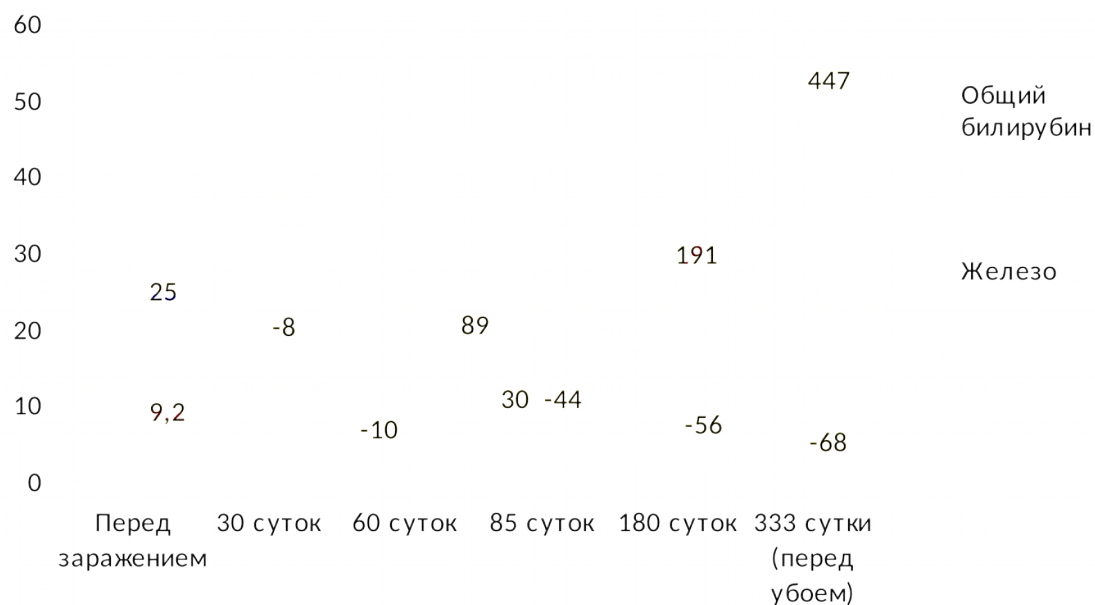


Рис.24. Изменение содержания железа и общего билирубина в сыворотке крови козлят при внутривенном заражении паратуберкулезом (в % относительно стартовых значений)

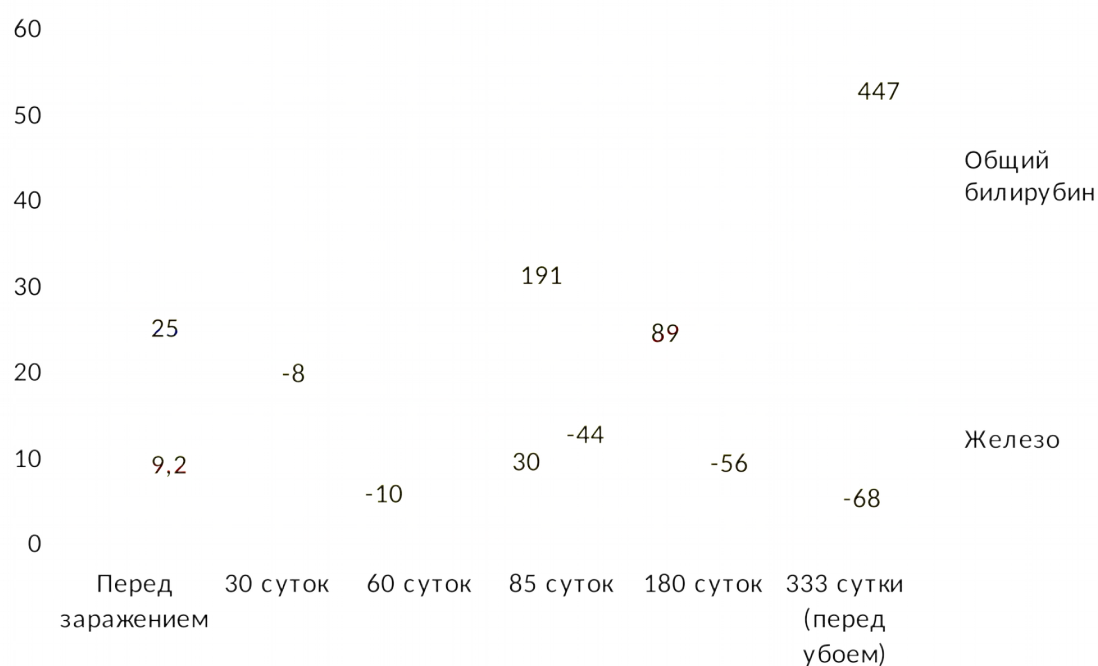


Рис. 25. Изменение содержания железа и общего билирубина в сыворотке крови ягнят при внутривенном заражении паратуберкулезом (в % относительно стартовых значений)

При исследовании ферментативной активности также наблюдаются значительные изменения в зависимости от стадии и тяжести патологического

процесса, в частности, активности щелочной фосфатазы (к 85 суткам ее значение превышало в 5 раз стартовую величину и составляло 48 Е/л).

Также отмечено первоначальное повышение активности ферментов у козлят и ягнят этих опытных групп (АсТ в 2 раза и АлТ в 3 раза).

На 87 сутки в обеих опытных группах, зараженных внутривенно, происходит падеж 2 козлят и 2 ягнят. У оставшихся выживших животных со 180 суток наблюдается резкое снижение активности щелочной фосфатазы, АсТ и АлТ. К концу опыта их величины по сравнению со стартовыми значениями снизились на 38, 78 и 86 % соответственно (рис.26,27).

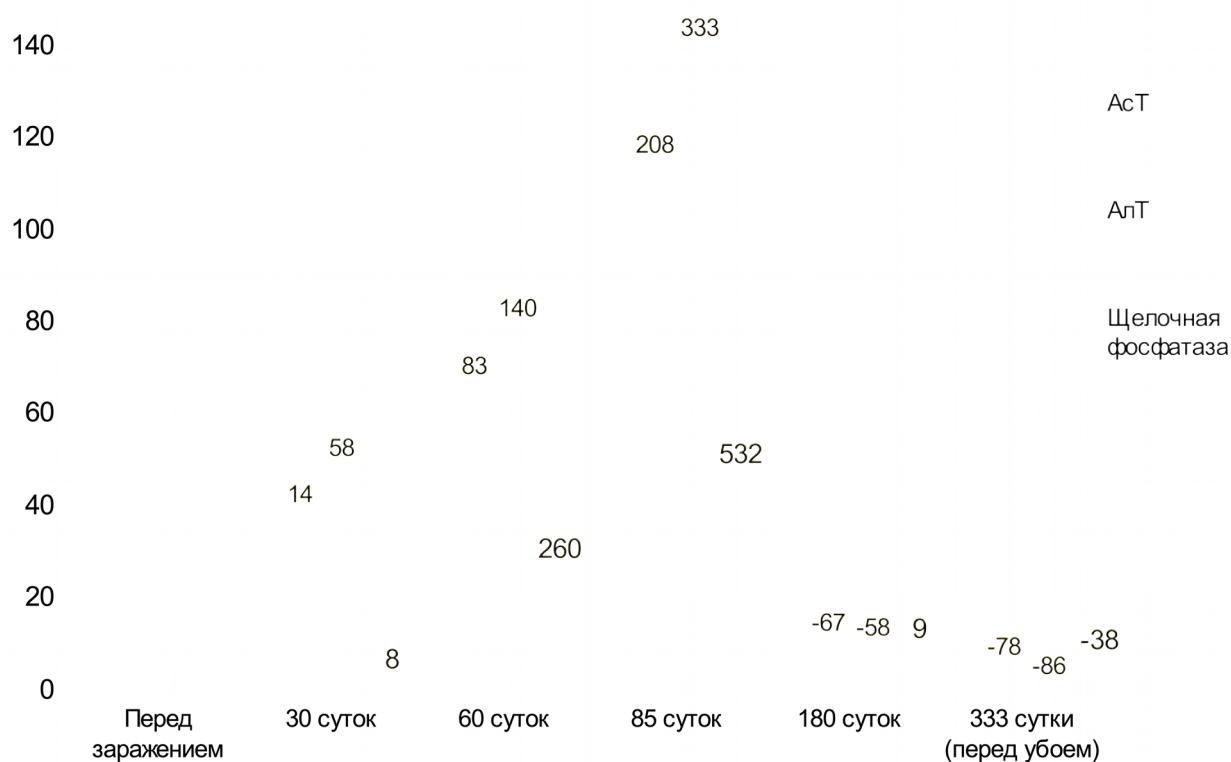


Рис.26. Изменение содержания ферментов печени (АсТ и АлТ) и щелочной фосфатазы в сыворотке крови козлят при внутривенном заражении паратуберкулезом (в % относительно стартовых значений)

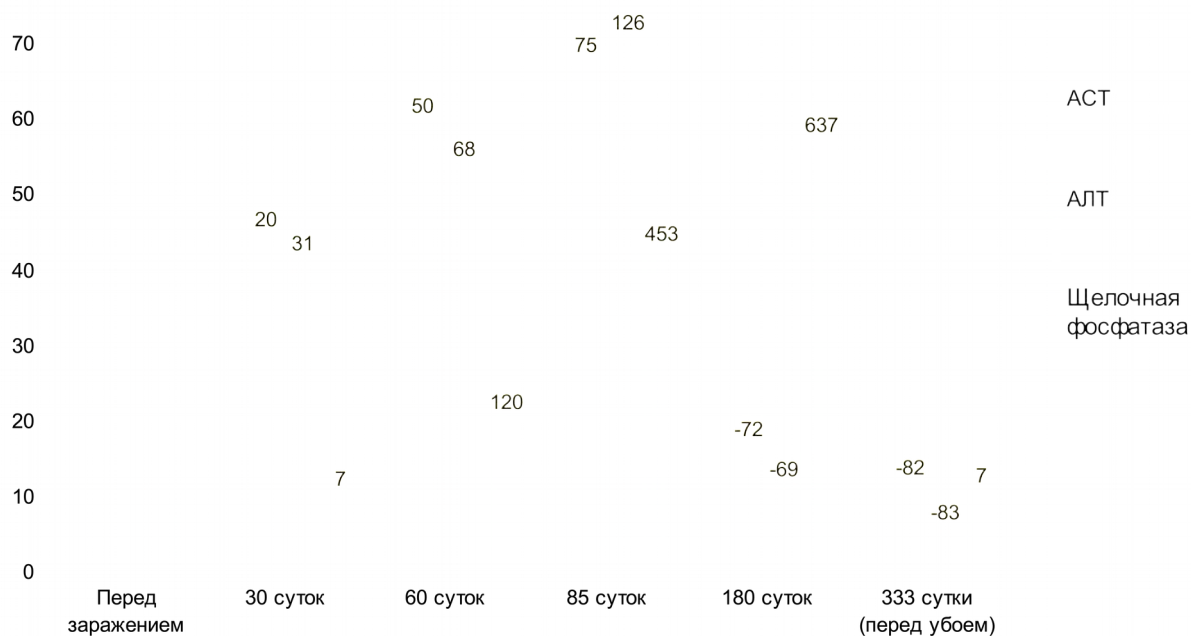
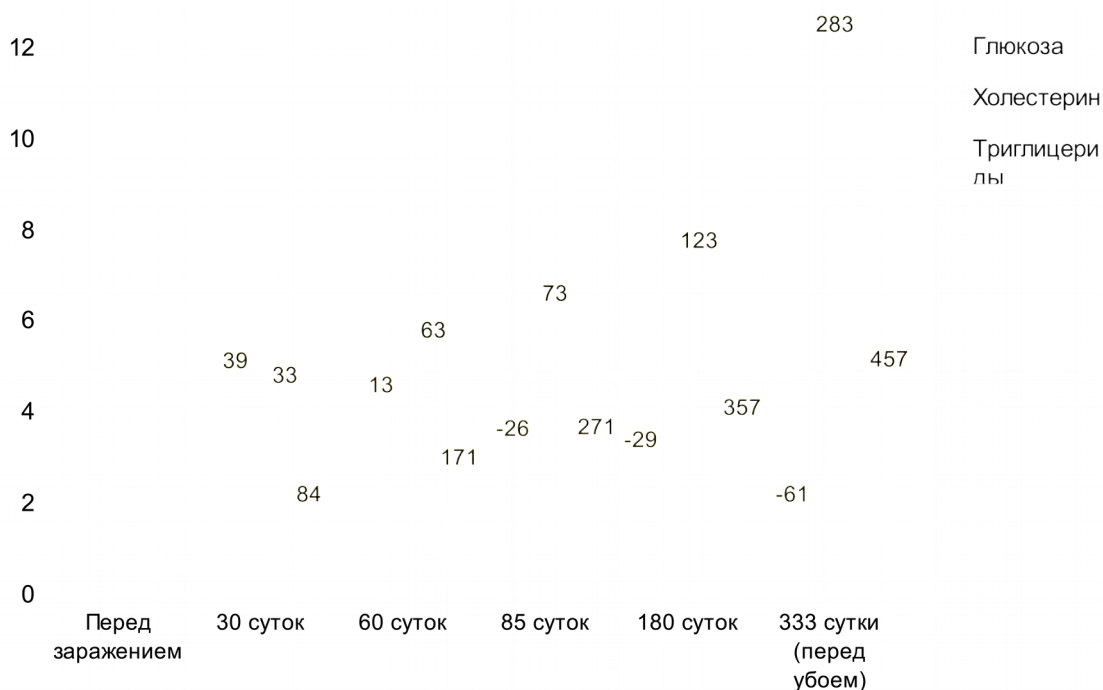


Рис.27 Изменение содержания ферментов печени (АсТ и АлТ) и щелочной фосфатазы в сыворотке крови ягнят при внутривенном заражении паратуберкулезом (в % относительно стартовых значений)

В липидном обмене также отмечены серьезные нарушения. Увеличение концентрации общего холестерина (у козлят – 283%, у ягнят – 230%) и триглицеридов (у козлят – 457%, у ягнят – 252%) в сыворотке крови отмечено к концу опыта по сравнению с таковыми перед заражением (рис.27,28).



ис.28. Изменение содержания глюкозы, холестерина и триглицеридов в сыворотке крови козлят при внутривенном заражении паратуберкулезом (в % относительно стартовых значений)

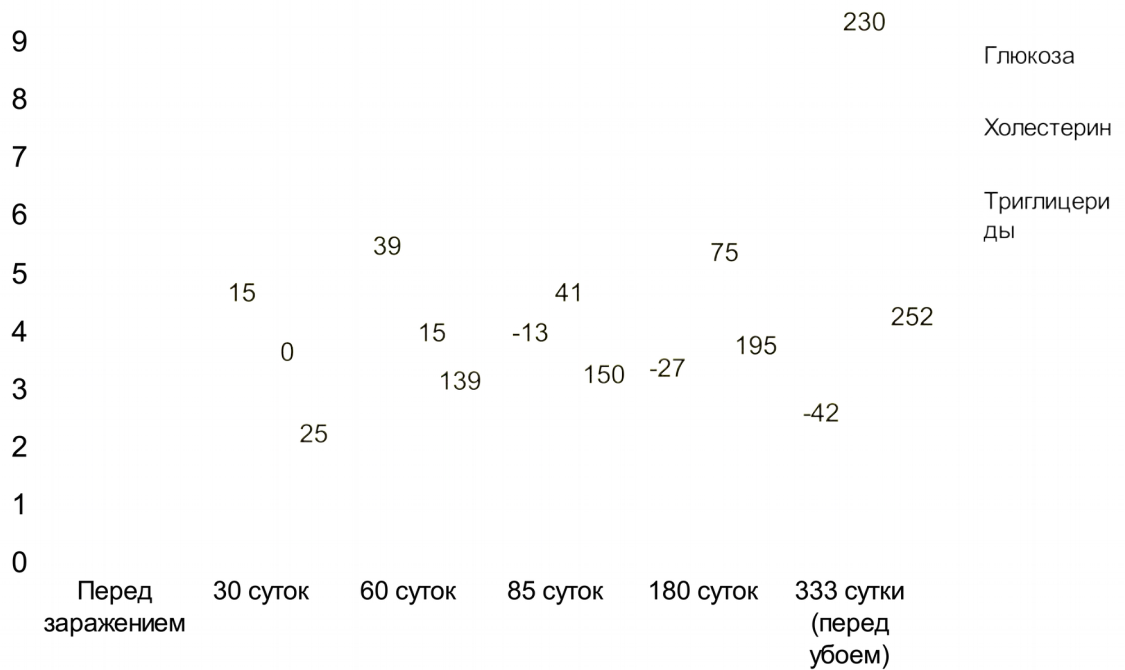


Рис.29. Изменение содержания глюкозы, холестерина и триглицеридов в сыворотке крови ягнят при внутривенном заражении паратуберкулезом (в % относительно стартовых значений)

Аналогично опытным группам животных, зараженных перорально, содержание глюкозы в сыворотке крови поначалу возрастает и на 60 сутки превышает стартовое значение на 39 %, а затем постепенно снижается и к концу опыта ее величина на 61 % ниже значения перед заражением (рис.27,28).

Исходя из полученных результатов видно, что наиболее яркие изменения биохимического состава в сыворотке крови произошли в группах животных, зараженных внутривенно. Возможно, это связано с тем, что возбудитель попадает непосредственно в кровь, минуя мембранно-протективный иммунный барьер кишечника. Поэтому целесообразнее в первую очередь рассмотреть этот способ заражения.

Итак, при внутривенном заражении паратуберкулезом нами отмечено первоначальное повышение содержания общего белка, мочевины и креатинина, что связано с нарушением процессов пищеварения и всасывания под влиянием возбудителя болезни. Нарушается порозность клеточных

мембран и в кровеносное русло выходит белок, выделение которого с мочой вызывает нарушение фильтрации в почках и накопление мочевины и креатинина в крови животных, что приводит к интоксикации организма. Нарушение функции всасывания в кишечнике приводит к изменению в минеральном обмене: снижение уровня общего кальция в сыворотке крови объясняется вымыванием кальция из организма, кальцинированием почечных лоханок. Накопление фосфора в крови больных животных приводит к развитию нефросклероза почек и прогрессии воспалительного процесса, что сопровождается повышением концентрации щелочной фосфатазы (на 85 сутки ее уровень превышал в 5 раз таковой перед заражением). Также с развитием воспалительного процесса увеличивается вязкость крови, что сопровождается увеличением содержания глюкозы в сыворотке крови больных животных. Отмечено снижение уровня железа в сыворотке крови и увеличением количества билирубина. При этом развивается гепаторенальный синдром, приводящий к билиарному циррозу печени и холестезу желчного пузыря и желчевыводящих путей, о котором говорит резкое увеличение АсТ и АлТ в сыворотке внутривенно зараженных животных (к 85 суткам их уровень повышается в 2 и 3 раза соответственно). Об этом же свидетельствует повышение содержания триглицеридов и общего холестерина в сыворотке крови, приводящих к развитию атеросклероза и замещению клеток печени липоидной тканью. Атеросклероз также сопровождается повышением уровня АсТ и снижением концентрации общего кальция в сыворотке крови вследствие отложения его на стенках сосудов, что в конечном счете ведет к развитию сердечной недостаточности.

Клинически течение болезни характеризовалась анемией, прогрессирующей диареей, истощением и как следствие обезвоживанием организма, снижением температуры тела, что привело к падежу 2-х козлят и 2-х ягнят из опытных групп. У выживших животных дальнейшее течение болезни приобрело острую форму, при которой в организме больных животных произошли необратимые деструктивные процессы в печени и

ЖКТ, что подтверждается резким снижением концентрации общего белка, а также падением ферментативной активности щелочной фосфатазы, АсТ и АлТ, при дальнейшем повышении уровня билирубина и азотистых соединений (мочевины в 4 раза и креатинина в 7 раз по сравнению с их уровнем перед заражением).

Изменения биохимического состава сыворотки крови козлят и ягнят при пероральном заражении (1-я и 4-я группы) мы отметили только у 6 из 10 животных, и они были менее выражены по сравнению с показателями сыворотки крови животных, зараженных внутривенно. У алиментарно зараженных животных клинически болезнь протекала в хронической форме и характеризовалось незначительным исхуданием и сохранением нормальной температуры тела до конца опыта. Падежа в этой группе животных не наблюдали.

Таким образом, в процессе прогрессирования развития болезни происходит нарушение гомеостаза крови в основном у животных при внутривенном заражении, и это можно объяснить следствием нарушения процессов пищеварения и всасывания. Необратимые дегенеративные процессы в печени и почках у внутривенно зараженных паратуберкулезом коз и овец могут привести к летальному исходу.

Исследование патологического материала проведено совместно с сотрудниками сектора патоморфологии Суворовым В.С. и Якушевой О.В.

При вскрытии в патологическом материале павших и убитых в конце опыта зараженных внутривенно животных были обнаружены: катар тонкого отдела кишечника, слизистая оболочка тощей и подвздошной кишки утолщена, собрана в поперечные и продольные складки, покрыта вязкой слизью серо-желтого цвета (рис.30, 31).



Рис.30 а Слизистая оболочка тонкой кишки



Рис. 31.. Слизистая оболочка тонкого кишечника

Брыжеечные узлы увеличены, упруги на ощупь, на поверхности среза имеются светло-серые очаги (рис.32)

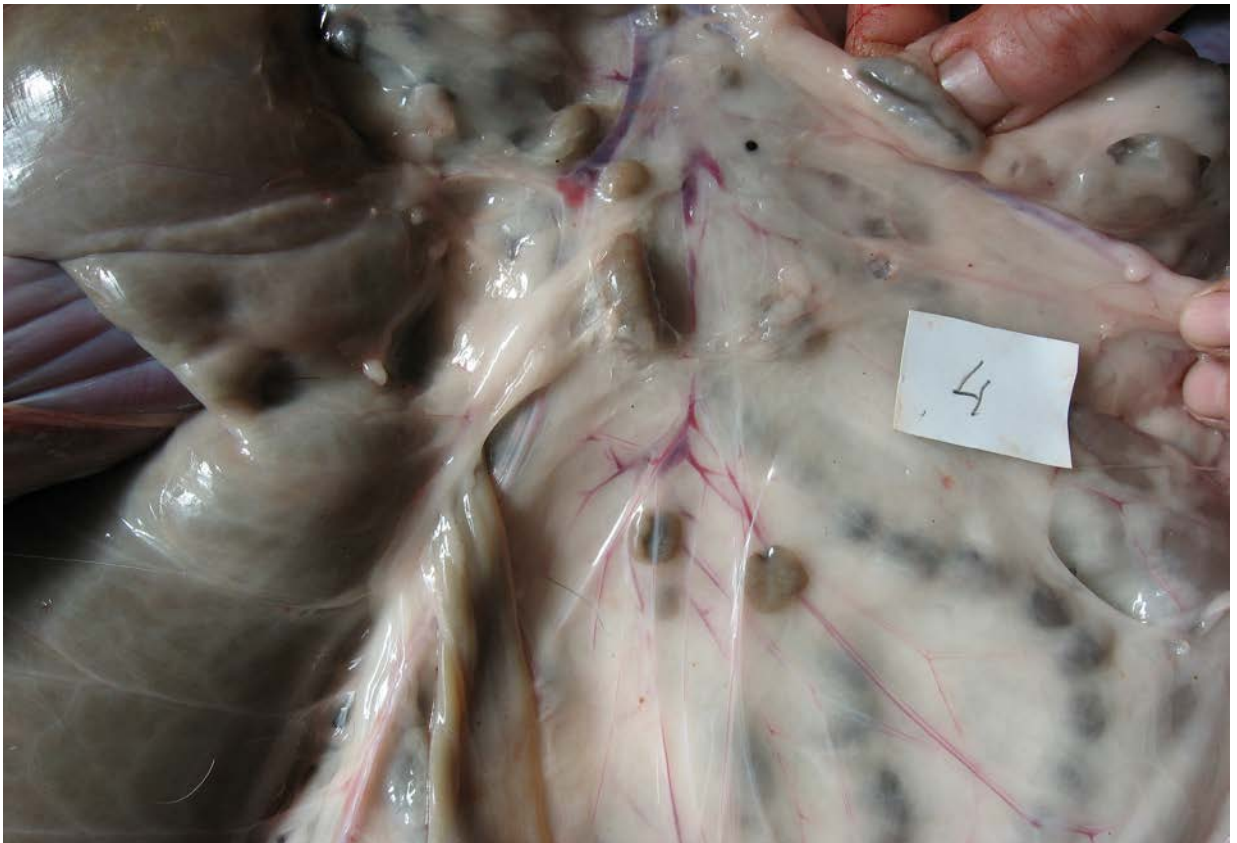


Рис. 31 а. Брыжеечные лимфоузлы



Рис. 31 б. Светло-серые очаги поражения на поверхности среза лимфоузла

У животных, зараженных алиментарным путем, патологоанатомические изменения не столь выражены и ограничены набуханием лишь некоторых участков тонкого отдела кишечника, увеличены региональные лимфоузлы. Кроме того, у половины животных этих опытных групп патологоанатомических изменений вообще не наблюдалось.

Таким образом, патологоанатомические изменения, выявленные при вскрытии павших на 85-е сутки после внутривенного заражения 2 козлят и 2 ягнят и всех вынужденно убитых опытных и контрольных животных через 333 суток после начала опыта, полностью подтверждаются результатами проведенных нами биохимических исследований.

Бактериологические и серологические исследования проведены сотрудниками лаборатории микобактериозов Толстенко Н.Г. и Сидорчуком В.А. У козлят и ягнят, зараженных внутривенно, ими был обнаружен возбудитель болезни *Mycobacterium paratuberculosis*. У животных, зараженных перорально, микобактерии не обнаружено.

3.3. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Туберкулез – сложное инфекционное заболевание человека и практически всех видов животных, при котором до настоящего времени не разработаны эффективные средства защиты, лечения и профилактики. Поэтому основой оздоровительных мероприятий при туберкулезе всех видов домашних животных является выявление инфицированных животных посредством комплексной диагностики болезни с использованием внутрикожной туберкулиновой пробы [105, 110, 136, 137].

В связи с тем, что до настоящего времени при диагностике туберкулеза нет ни одного отдельно взятого идеального диагностического теста, диагностика туберкулеза должна быть комплексной с применением внутрикожной туберкулиновой пробы и других различных дополнительных методов диагностики [5, 21, 24, 110].

Из данных литературы известно, что козы чувствительны к заражению возбудителем туберкулеза бычьего, человеческого и птичьего видов. При естественном заражении козы наиболее восприимчивы к возбудителю туберкулеза бычьего вида [10, 171, 178, 186, 201, 205, 219, 315, 319]. Установлено, что от больных туберкулезом коз в 97,9% случаях выделяли *M. bovis*, и только в 2,1% – *M. avium* [273, 319].

При экспериментальном заражении, козы заболевают туберкулезом при однократном скармливании 20 мг, или интратрахеальном введении 10 мг культуры возбудителя туберкулеза [159, 187].

При экспериментальном заражении коз алиментарно, интраназально или внутривенно большой разницы в клинической и патологоанатомической картине не обнаружено [187].

При заражении козлят в молодом возрасте – свойственна острая миллиарная форма туберкулеза, а при заражении в более позднем возрасте чаще обнаруживают поражения отдельных внутренних органов и прежде всего лимфатических узлов. Характерные для туберкулеза признаки чаще всего обнаруживают в бронхиальных и средостенных лимфатических узлах легких, затем в легких [49, 142, 144].

В.И.Ротов с соавт. [161] установили, что больные туберкулезом козы выделяют возбудителя болезни через молоко и поэтому являются опасным источником заражения для человека.

В.Н. Донченко [48] установила нормальные показатели остаточного азота крови, в то время как Г.Ф.Коромыслов [79] отметил некоторое его повышение у крупного рогатого скота, больного туберкулезом.

Г. Ф. Коромыслов [79, 80] отмечал, что изменения биохимических показателей наиболее выражены при инфицировании животных микобактериями туберкулеза бычьего типа. При этом степень биохимических изменений находится в зависимости от степени тяжести туберкулезного процесса. В сыворотке крови животных, больных туберкулезом, установлено

накопление глобулинов, которое чаще всего сопровождается уменьшением количества альбуминов.

При генерализованном течении туберкулёзного процесса выявлено наиболее значительное увеличение гамма-глобулинов (до 50 % всех сывороточных белков). Содержание общего белка при этом было увеличено. Наряду с этим при длительном течении туберкулёзного процесса у животных чаще всего отмечалась положительная РСК [89, 92, 93].

Появление слабо выраженных туберкулиновых реакций, вызывающих подозрение в их специфичности, может наблюдаться в зимне-весенний период у животных, больных туберкулёзом бычьего типа, вследствие белковой недостаточности. Об этом свидетельствует низкий уровень содержания белка в сыворотке крови [89,90].

Рудой Н.М. [160] на основании своих наблюдений, связывает увеличение альфа-глобулиново фракции с инфильтративной фазой туберкулёзного процесса. В то же время он не установил полного параллелизма между пролиферативным типом тканевой реакции при туберкулёзе и увеличением уровня гамма-глобулинов при неблагоприятном течение болезни, которое он объясняет поступлением в кровь «патологических белков, подвижность которых совпадает с подвижностью гамма-глобулинов.

На увеличение количества гамма-глобулинов и снижение уровня альбуминов при туберкулёзе крупного рогатого скота указывает [331].

Н.М. Климов [69] установил, что у больного туберкулёзом крупного рогатого скота количество остаточного азота в сыворотке крови было выше, чем у здоровых животных. Этот факт он объясняет повышенным распадом белка и деструкцией тканей под влиянием туберкулёзного процесса.

Одним из важнейших окислительно-восстановительных ферментов крови является каталаза, функцией которого является его антиоксидантная активность в защите организма от различных заболеваний. А. Staffe (1950) отмечал снижение активности каталазы при туберкулёзе животных.

Донченко А.С. [49], исследуя крупный рогатый скот, реагирующий на бычий туберкулин, часть из которого имела клинические признаки туберкулёза, установили, что в белковом составе крови происходят изменения, характеризующиеся уменьшением содержания альбумина и бета-глобулина и увеличением уровня гамма-глобулинов. Авторы считают, что степень указанных изменений, прежде всего, зависит от интенсивности течения процесса: чем активнее протекает заболевание, тем сильнее выражены изменения в соотношении белковых фракций крови.

Также содержание минеральных элементов крови (кальция, магния и неорганического фосфора) имеет важное значение при патологических процессах в организме животных. Большая часть фосфора находится в соединении с кальцием и магнием, поэтому обмен этих элементов тесно связан между собой. Уменьшение содержания кальция при туберкулёзе мелкого рогатого скота было отмечено Кривцовой А.Е. [87,117].

Как видно из данных литературы, основное внимание уделяется белковому обмену в процессе развития туберкулеза, в то время как в доступной литературе данных о динамике изменений основных биохимических показателей крови при экспериментальном заражении *M. bovis* коз, мы не обнаружили.

В связи с этим целью наших исследований было изучить динамику биохимических изменений компонентов сыворотки крови при экспериментальном заражении *M. bovis* коз в зависимости от стадии и тяжести инфекционного процесса туберкулеза, с учетом аллергической реактивности.

Данные результатов биохимических исследований сыворотки крови, экспериментально зараженных *M. bovis* коз, нами установлено значительное повышение показателей сыворотки крови по сравнению с контрольной группой животных: таких как общий белок – на 49,7%, мочевины – на 48 %, креатинин – на 134 %, щелочная фосфатаза – на 263,5%. Затем концентрация общего белка снижается на 40 %. Снижение концентрации

кальция и железа в сыворотке, хотя и не значительное, также указывает на нарушение процесса фильтрации почек. Таким образом, нарушается фильтрация почек, приводящая к повышению концентрации азотистых соединений в сыворотке крови. Повышенное количество азотистых соединений, повышенное содержания щелочной фосфатазы способствует развитию общей интоксикации организма, что, в свою очередь усиливает воспалительную реакцию и нарушение гемостаза.

Концентрация печеночных ферментов в сыворотке крови зараженных животных резко возрастает (АсТ- на 114% и АлТ- на 126%) к концу эксперимента с развитием заболевания, здесь можно отметить негативное влияние на ферментативную активность желудочно-кишечного тракта, печени самого патогенного возбудителя.

Увеличение содержания билирубина в сыворотке крови (53%) после заражения животных туберкулезом свидетельствует о нарушении функции желчного пузыря и желчевыводящих путей, развитии холецистита, а незначительное его снижение к концу эксперимента может свидетельствовать о механической закупорке таковых.

Резкое увеличение концентрации холестерина на 55 % и триглицеридов в 4 раза в сыворотке крови зараженных животных указывает на нарушение липидного обмена и гипофункции клеток печени.

Таким образом, выяснение особенностей нарушения обменных процессов в крови больных туберкулезом коз, имеет теоретическое и практическое значение. Наблюдение и анализ развивающегося патологического процесса в динамике его развития способствует более углубленному представлению о механизме развития и особенностях инфекционного процесса туберкулеза.

Паратуберкулез в естественных условиях характеризуется преимущественно латентным течением болезни без проявления клинических признаков, его своевременная диагностика и по сей день является актуальной

проблемой. Инкубационный период заболевания также очень длителен (вплоть до года), что также затрудняет распознавание болезни. До настоящего времени патогенез паратуберкулезного энтерита изучен недостаточно, в связи с чем, нет и идеального диагностического теста данной инфекции.

На международном симпозиуме в США 16-18 июня 1983 г. паратуберкулез признан одной из актуальнейших проблем современной ветеринарной медицины. Ежегодный экономический ущерб, причиняемый паратуберкулезной инфекцией в США, Новой Зеландии, Австралии, Японии и Индии приближается к 1,5 миллиардам долларов.

По данным МЭБ, опубликованным на официальном сайте за 2001-2006 год, паратуберкулез жвачных регистрируется в 61 стране мира. С 1959 гг. паратуберкулез зарегистрирован на территории Украины, Беларуси, Казахстана, Азербайджана, Киргизии, а также в Прибалтике. На территории РФ паратуберкулез обнаружен в нескольких регионах: в Оренбургской, Архангельской, Вологодской, Омской, Ростовской областях и др.

Но, так как часто паратуберкулез не регистрируется в связи с его трудной диагностикой, из-за отсутствия клинических признаков болезни и несовершенства диагностических тестов, эти данные могут быть не полными.

Кроме того, *M. avium* ssp. *paratuberculosis*, вызывающие паратуберкулез, обнаружили в кишечнике у людей с хроническим энтеритом (болезнь Крона) в Италии, США, Великобритании и Чехии [258].

Согласно данным русского издания определителя бактерий Берджи (1997), возбудитель туберкулеза, подвида *M. a vium*, включен в *M. a vium* complex, который включает *M. avium*, *M. intracellulare* и *M. silveticum*. После выделения на питательных средах нескольких поколений чистой культуры, его признали возбудителем паратуберкулезного энтерита *M. avium* ssp. *Paratuberculosis* [325].

Литературные данные позволяют представить общую схему биохимических расстройств при развитии паратуберкулезного энтерита.

Возбудитель паратуберкулеза, попав в ЖКТ, при благоприятных для него условиях размножается в макрофагальных клетках кишечника, вызывая набухание слизистой тонкого кишечника, нарушая тем самым секреторную и всасывающую функцию измененного участка. Нарушение ферментативной деятельности слизистой, ускоренное прохождение кишечного содержимого приводит к уменьшению всасываемости питательных веществ, необходимых для жизнедеятельности организма. Усугубление биохимических расстройств происходит также вследствие нарушения такой функции кишечника, как участие в обмене веществ макроорганизма [80, 81].

Известно, что между кровью, тканям и пищеварительной системой происходит постоянный взаимообмен различных веществ, значительная часть которых после определенных изменений в полости желудочно-кишечного тракта при нормальном физиологическом состоянии организма всасывается обратно и принимает участие в общем метаболизме [69]. При ускорении прохождения через кишечник его содержимого и нарушения его всасывающей способности происходит постепенное вымывание белков, кальция и магния из организма и соответственно снижение их содержания в крови [26, 69, 259].

В крови больных паратуберкулезом животных уменьшается содержание белка (до 4,63 г%), в том числе альбуминов (до 1,1 г%), гемоглобина (до 7,3 г%), кальция (до 9,6 мг%), магния (до 1,86 мг%), неорганического фосфора (до 3,95 мг%), а также снижение активности каталазы крови [80, 119].

Вследствие нарушения биохимических процессов в организме больных животных и потери питательных веществ, несмотря на сохранение аппетита в течение болезни происходит истощение организма, приводящее в итоге к гибели животного.

В связи с хронической белковой недостаточностью развивается атрофия мышц, анемия, нарушение водного баланса, осмотического давления, что сопровождается увеличением количества межклеточной

жидкости, уменьшением сопротивляемости к инфекции, ослаблением фагоцитоза и образования антител [269].

При вскрытии павших животных обнаруживаются студенистые инфильтраты, отеки подкожной клетчатки и межмышечной соединительной ткани, дистрофия мышц, выпоты в грудную и брюшную полости межклеточной жидкости.

А.И. Бобашинский [23] установил, что заболевание крупного рогатого скота паратуберкулёзом сопровождается нарушением кислотно-щелочного равновесия организма. Чем активнее протекает патологический процесс, тем ниже щелочной резерв крови больного животного.

Однако, В. Е. Посохин (1948) при экспериментальном паратуберкулёзе крупного рогатого скота не отметил изменения резервной щелочности в крови животных.

Так, литературные данные об изменении этого показателя при паратуберкулёзе животных оказались противоречивы, поэтому изучение этого вопроса требует дальнейшего уточнения.

А.И. Бобашинский [23] установил, что заболевание крупного рогатого скота паратуберкулёзом сопровождается нарушением кислотно-щелочного равновесия организма. Чем активнее протекает патологический процесс, тем ниже щелочной резерв крови больного животного.

Исследуя минеральный состав сыворотки крови крупного рогатого скота при естественном заболевании паратуберкулёзом, установил наличие минерального голодания, что существенно снижает общую резистентность организма. По данным его исследований уровень железа, фосфора и магния при паратуберкулёзе был снижен в 1,5 – 2 раза по сравнению со здоровыми животными, а содержание фосфора было еще меньше.

Автор установил, что содержание животных на недостаточном по кальцию и фосфору рационе ведет к снижению резистентности организма к паратуберкулёзу. При этом содержание кальция и фосфора в крови экспериментальных телят весь период опыта держалось относительно на

одном уровне. Автор считает, что животные, содержащиеся на полноценном по минеральным веществам рационе, проявили повышенную, но не абсолютную устойчивость к заболеванию.

Таким образом, по данным литературы видно, что по характеру и степени биохимических изменений крови можно прогнозировать течение патологического процесса в различных органах и тканях, а также в организме в целом. Большинство авторов рассматривают преимущественно белковый обмен биохимического состава крови, мотивируя это тем, что белковая недостаточность, развивающаяся при паратуберкулезе, является основной причиной развития органной и системной патологии при латентном течении болезни.

Однако биохимический состав крови до сих пор изучен недостаточно и требует дальнейших исследований для облегчения объективной диагностики этого заболевания.

В связи с этим в данной работе нами был выбран биохимический спектр показателей сыворотки крови, который на наш взгляд наиболее полно может отражать степень поражения возбудителем организма в целом и внутренних органов в частности.

Результаты наших исследований подтверждают вышеизложенные литературные данные различных авторов о снижении количества общего белка и минеральных веществ в организме больных животных. Т.Г. Нигматуллин [120] также указывает на снижение эритроцитов и гемоглобина в сыворотке крови, что подтверждается снижением железа, его разрушения и увеличение общего и прямого билирубина в сыворотке крови экспериментально зараженных паратуберкулезом коз и овец.

Кроме того, в нашей работе большое внимание уделено ферментативной системе организма, в которой также произошли значительные изменения по мере прогрессирования болезни.

В начальной стадии болезни динамика биохимических параметров сыворотки крови указывает на наличие воспалительного процесса и развития

общей интоксикации организма, что сопровождается резким повышением общего белка почти в 1,5 раза, креатинина в 3-3,5 раза, мочевины в 2 раза, триглицеридов и холестерина, а также повышением ферментативной активности щелочной фосфатазы в 5 раз и аминотрансфераз в 2,5-3 раза относительно контрольных животных. Известно, что развитие энтерита провоцируется действием эндотоксинов возбудителя в кишечнике, вызывая нарушение функций пищеварения и всасывания, что отражается на биохимическом составе крови, даже если болезнь не проявляется клинически. По мере прогрессирования патологии нарушение биохимических процессов в крови больных животных приводят к необратимой деструкции и дисфункции, прежде всего, желудочно-кишечного тракта, а также печени и почек. Это характеризуется резким снижением активности ферментов АсТ, АлТ, щелочной фосфатазы (их уровень превышал на 60-70% контрольное значение), а также концентрации общего белка в сыворотке крови больных паратуберкулезом животных к концу опыта упал на 16%. При этом концентрация азотистых метаболитов в сыворотке крови зараженных внутривенно животных до конца эксперимента продолжала расти, и в итоге содержание креатинина превышало контрольное значение почти в 10 раз.

Установлено, что степень изменений биохимического состава крови у перорально зараженных паратуберкулезом животных в динамике развития патологического процесса значительно ниже по сравнению с таковыми при внутривенном заражении. Кроме того, результаты биохимических исследований при различных способах заражения мелкого рогатого скота паратуберкулезом полностью подтверждают клиническое состояние животных при жизни, а также изменения в патологическом материале, полученные при вскрытии сотрудниками сектора патоморфологии ВИЭВ Суворовым В.С., Якушевой О.В. и Сидорчуком В.А.

Известно, что при пероральном заражении коз и овец паратуберкулезным энтеритом болезнь клинически протекала в латентной

форме практически без видимых клинических симптомов (в литературе даже описаны случаи выздоровления животных при наличии благоприятствующих факторов: улучшение условий кормления, содержания и др.).

Кроме того, гибели животных в этих группах не наблюдалось, в патматериале лишь у некоторых животных обнаружены незначительные изменения в виде локального набухания некоторых участков тонкого отдела кишечника.

У животных, зараженных внутривенно, в связи с развитием продуктивного энтерита клинически болезнь проявляет себя в острой форме и характеризуется прогрессирующим истощением, признаками диареи и дальнейшим обезвоживанием организма, приведшим к гибели 2/3 поголовья.

В патматериале обнаружены выраженные изменения: набухание слизистой тонкого кишечника, образование поперечных и продольных складок, выделение слизи, увеличение и некроз региональных брыжеечных лимфоузлов и даже очаговые поражения легких. Данные изменения также подтверждаются изменениями биохимического состава крови, установленные в нашей работе.

Степень изменений биохимических показателей сыворотки крови при разных способах заражения указывает на степень воздействия возбудителя инфекции на организм животных и, следовательно, и на степень органного и системного поражения.

По данным наших исследований можно сказать, что у перорально зараженных животных воздействие возбудителя на организм животных было опосредованным, и смягченным иммунологическим действием мембранно-протективного барьера кишечника. Протективная функция слизистого барьера кишечника определяется балансом клеточного и гуморального иммунитета, оптимальным соотношением облигатной и факультативной микрофлоры, количеством и свойствами кишечной слизи. Слизь – муцины - секретируется эпителиальными клетками кишечника. Эпителиальные муцины – это большая группа секретируемых, а также трансмембранных

гликопротеинов, формирующих высокомолекулярный вязко-эластический слой, являющийся протективным барьером между поверхностью слизистой оболочки и полостным содержимым ЖКТ. Изменение вязко-эластических свойств слизи происходят при взаимодействии муцинов с микроорганизмами, электролитами, белками и пищевыми компонентами. В условиях развития воспалительного процесса муцины претерпевают характерные преобразования: сульфатирование снижается, а сиалирование увеличивается, что отражает снижение резистентности муцина к бактериальному разрушению, нарушается баланс полезной микрофлоры, что и способствует повышению проницаемости слизистого барьера кишечника, развитию дисбактериоза.

В свою очередь при внутривенном заражении воздействие возбудителя носило прямой характер. Возбудитель, напрямую попадая в кровь, воздействовал непосредственно на органы и ткани, нанося тем самым организму непоправимый ущерб, который в конечном итоге и привел к летальному исходу заболевания мелкого рогатого скота.

Таким образом, необходимо отметить, что в связи с длительным инкубационным периодом и латентным течением паратуберкулеза, с отсутствием клинических признаков заболевания, такое мероприятие, как плановое регулярное биохимическое обследование животных в неблагополучных по паратуберкулезу хозяйствах, поможет своевременно выявить наличие болезни на начальной стадии ее развития и, если не полностью, то хотя бы частично, решит проблему распознавания инфекции в естественных условиях. А это в свою очередь это даст возможность правильно и своевременно подобрать комплекс лечебно-профилактических мероприятий, направленных на повышение сопротивляемости и организма к инфекции в частности и оздоровлению поголовья животных в целом.

Кроме того, при диагностике паратуберкулеза необходимо его дифференцировать от туберкулеза, так как эти заболевания вызываются представителями одной группы возбудителей – микобактериями, и при обоих

этих заболеваний характерна реакция на туберкулиновую пробу, связанную с родством возбудителей этих инфекций. Однако каждая из этих инфекций имеет свои биохимические особенности. Это связано с особенностями характеристики и локализации возбудителей, а также течением патологического процесса. При туберкулезе возбудитель, попадая в организм преимущественно респираторным путем, образует с макрофагами туберкулезные комплексы, вызывая иммунный ответ в виде воспалительного процесса в лимфоузлах, в первую очередь поражаются легкие и лимфоузлы с развитием казеозной пневмонии, затем, попадая в кровь поражает другие органы и ткани. При паратуберкулезе возбудитель размножается в кишечнике и патологический процесс развивается под действием эндотоксина, вызывая признаки энтерита.

Так, Г.Ф.Коромыслов (1979) отметил, что при паратуберкулезе наблюдаются резко выраженные гипопротеинемия, гипоальбуминемия, гипокальциемия, что не характерно для туберкулеза.

В связи с этим для каждого заболевания должна формулироваться его патохимическая концепция, план биохимического обследования при различных вариантах и стадиях болезни, а также необходимо продумывать спектр биохимических параметров крови, который бы наиболее полно характеризовал типичные изменения при каждом конкретном заболевании.

Для диагностирования туберкулеза и паратуберкулеза еще до проявления клинических признаков необходим систематический биохимический контроль за состоянием обменных процессов у животных в неблагополучных по данным инфекциям хозяйствах.

И вот в этом случае нами установлен ряд различий в динамике биохимических процессов обоих заболеваний.

Во-первых, за одинаковый период течения инфекций (2 месяца), и при туберкулезе, и при паратуберкулезе происходит повышение активности ферментов АсТ, АлТ и щелочной фосфатазы, а также увеличение концентрации общего белка и азотистых метаболитов в сыворотке крови.

Однако скорость развития патологии и степень поражения при туберкулезе развивается быстрее, нежели при паратуберкулезе. За этот период туберкулезная инфекция проявлялась клинически в легочной форме (пневмонией, увеличением лимфоузлов), приведшей в итоге к летальному исходу зараженных животных. Паратуберкулезный же энтерит проходил в латентной форме и за этот период клинически не проявлялся.

Во-вторых, при туберкулезе и паратуберкулезе наблюдалось снижение концентрации минеральных веществ (таких как кальций и железо) в сыворотке больных животных. В финальной стадии обеих инфекций снижается и количество общего белка с той лишь разницей, что при туберкулезе это происходило к концу второго месяца, а при паратуберкулезе данные изменения в белковом обмене наблюдались к 11 месяцам, когда уже заболевание перешло в острую клиническую форму.

В-третьих, основным отличием в биохимическом составе крови при этих заболеваниях заключалось в реагировании ферментативной системы, изменении ферментативной активности таких ферментов, как щелочная фосфатаза, АсТ и АлТ в динамике развития патологического процесса. Так, при туберкулезе активность ферментов АсТ, АлТ и щелочной фосфатазы на протяжении всего течения болезни увеличивалась, но увеличивалась постепенно, и к исходу болезни их уровень в 2 – 2,5 раза превышал уровень в контрольной группе животных. В то время как при паратуберкулезе до 85 суток наблюдалось их резкое повышение (в 3-4 раза), а затем к концу эксперимента ферментативная активность резко снижалась (в 2 раза ниже значений в группах контрольных животных), что говорит о необратимых деструктивных процессах в организме больного животного, приведших в результате к летальному исходу. На этой стадии паратуберкулезный энтерит приобретал острую клиническую форму, характеризующуюся диареей, понижением температуры тела, в то время как до этого ее значения не выходили за пределы нормы.

На наш взгляд эти особенности в изменении биохимических параметров сыворотки крови позволяют дифференцировать эти два заболевания.

Резюмируя все вышеизложенное, можно отметить, что исследование биохимического состава крови в динамике патологического процесса имеет важное значение для своевременного выявления паратуберкулеза, а также может служить дополнительным тестом в комплексной диагностике заболевания. Кроме того, изучение особенностей изменения биохимических параметров сыворотки крови в зависимости от стадии, скорости и тяжести патологического процесса позволяет дифференцировать паратуберкулез от туберкулеза.

4. ВЫВОДЫ

1. Выявлены особенности количественных сдвигов в биохимических показателях сыворотки крови у всех экспериментально зараженных возбудителем *M. bovis* коз. Степень проявления этих изменений находится в прямой зависимости от стадии инфекционного процесса туберкулеза.

Наиболее значительные изменения в динамике патологического процесса характеризовались снижением на 8% общего белка и повышением в 1,5 раза уровня креатинина, активности АсТ и АлТ в 2,5 раза, щелочной фосфатазы в 3,5 раза, содержания триглицеридов в 4 раза.

2. Установлены количественные колебания биохимических показателей сыворотки крови мелкого рогатого скота при экспериментальном заражении возбудителем *Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis*.

3. В группах животных, зараженных внутривенно, установлены более значительные колебания биохимических изменений сыворотки крови, чем при пероральном заражении. У животных, зараженных внутривенно, содержание общего белка к концу опыта снизилось на 16% при увеличении уровня мочевины и креатинина в 4,5 раза и 7 раз соответственно. К 85 суткам после заражения повышалась активность АсТ, АлТ и щелочная фосфатаза в 3, 4 и 5 раз, а в конце опыта уменьшилась на 76, 78 и 38% соответственно.

4. Основные корреляции количественных изменений биохимических показателей сыворотки крови при туберкулезе и паратуберкулезе заключаются в снижении уровня общего белка, кальция, железа и увеличении концентрации креатинина, мочевины, билирубина, холестерина и триглицеридов.

5. Изменение биохимических показателей сыворотки крови при туберкулезе и паратуберкулезе в динамике развития инфекционного патологического процесса могут служить одним из дополнительных биохимических методов при установлении диагноза и дифференциации микобактериальных инфекций.

5. ПРАКТИЧЕСКОЕ ПРЕДЛОЖЕНИЕ

1. Биохимические исследования сывороток крови в благополучных и неблагополучных хозяйствах могут служить одним из способов диагностирования инфекций на ранних стадиях развития инфекционного процесса микобактериальных инфекций.

2. Исследования биохимического состава сыворотки крови следует использовать как дополнительный диагностический тест при установлении диагноза и дифференциальной диагностики туберкулеза и паратуберкулеза у мелкого рогатого скота.

3. Материалы биохимических исследований при микобактериозах животных могут быть использованы ветеринарными специалистами при диагностике паратуберкулеза жвачных животных.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абрикосов А.И. Аллергия и вопросы патологии / А.И. Абрикосов. // Издательства АН СССР. – Москва, 1963. – 518с.
2. Авербах М.М. Иммунология и иммунопатология туберкулеза. – Москва: Медицина, 1976. – 312с.
3. Авербах М.М. Иммунные розеткообразующие лимфоциты в оценке активности туберкулезного процесса / М.М. Авербах, В.И. Литвинов, А.М. Мороз и др. // Лаб. дело. – 1978. – №10. – С.599-601.
4. Авилов В.М. Эпизоотическое состояние по туберкулезу в РФ и меры борьбы с болезнью / В.М. Авилов, В.Ф. Пылинин. // Ветеринария. – 1992. – №1. – С.3-9.
5. Авилов В.М. Разрешающая способность методов прижизненной и посмертной диагностики туберкулеза крупного рогатого скота / В.М. Авилов, В.П. Урбан, В.В. Сочнев и др. // Междунар. научн.- практ. конф. – Санкт-Петербург. – 2004. – С.28-32.
6. Адо А.Д. Общая аллергология. – Москва: Медицина, 1978. – 464 с.
7. Александров В.А. Противотуберкулезные мероприятия в животноводческих хозяйствах / В.А. Александров. // Пробл. туберкулеза. – 1975. – №6. – С.15-17.
8. Алиев А.И. К бактериологической диагностике паратуберкулеза / А.И. Алиев. // Тез.докл. научн. конф. АЗ НИИНТИ. – Баку. – 1974. – С.64-66.
9. Алиев А.И. Выделение микобактерий паратуберкулеза из патологического материала / А.И. Алиев, Н.Г. Фадеева. // Бюллетень ВИЭВ, 1990. – вып.73-74. – С.71-75.
10. Аликаева А.П. Типовая специфичность возбудителя туберкулеза животных и рационализация борьбы с ним / А.П. Аликаева. // Ветеринария. – 1950. – №9. – С.22-28.
11. Аликаева А.П. Метод выделения чистых культур возбудителя паратуберкулеза / А.П. Аликаева. // Ветеринария. – 1967. – №5. – С.79-81.

12. Аликаева А.П. Лабораторные методы диагностики паратуберкулеза / А.П. Аликаева, В.Е. Щуревский. // Достижения ветеринарной науки. – Москва: Колос, 1966. – С.73-90.
13. Алипер Т.И. ПЦР в реальном времени для диагностики туберкулеза / Т.И. Алипер, Н.И. Потапова, Е.А. Непоклонов, А.Д. Забережный и др. // Ветеринарная жизнь. – 2006. -№7. – С.13.
14. Альков Г.В. Козоводство Горного Алтая. / Г.В. Альков. – Горно-Алтайск, 1962.- 64 с.
15. Анфалова Т.В. Макрофаг в системе взаимодействующих Т- и В-клеток / Т. В. Анфалова, В.Г. Галактионов. // Общие вопросы патологии. Итоги науки и техники. ВИНТИ АН СССР. – Москва, 1977. – С.61-80.
16. Антонов Б.И. Использование метода ПЦР при диагностике острых инфекционных болезней животных / Б.И. Антонов. // Медицинский центр «Наследственность». – Н. Новгород. – 2002. С.-31-35
17. Атанадзе С.Н. Способ определения состояния клеточного иммунитета: А. св. № 789104 от 23.12.80 г / С.Н. Атанадзе. // Бюллетень. –№47- С.53-57.
19. Бакулов И.А. Эпизоотический процесс. В кн.: Достижения ветеринарной науки. / И.А. Бакулов, В.А. Ведерников. – Москва: Колос, 1979. – С.89-110.
20. Басыбеков С.А. Животные – источники микобактериозов у человека / С.А. Басыбеков, Я.А.Благодарный, Н.Ж. Жанузаков./ Алма-Ата, 1985. – С.12-16.
21. Благодарный Я.А. Источники туберкулеза и меры профилактики / Я.А. Благодарный. – Алма-Ата: Казахстан, 1980. – 244 с.
22. Блинов Н.И. Методы выделения и идентификации Т- и В-лимфоцитов // Клиническая лабораторная диагностика в ветеринарии: справочное издание. – Москва: Агропромиздат, 1985. – С.215-222.

23. Бобашицкий А.И. Исследование патогенеза при паратуберкулезном эндометрите крупного рогатого скота/А.И.Ббашицкий// дисс. ... канд.вет.наук. –Москва, 1945.-22 с.
24. Боганец Н.С. Бактериологическая диагностика туберкулеза животных и ее усовершенствование: автореф. дисс. ... докт. вет. наук / Н.С. Боганец. – Омск, 2006. – 38 с.
25. Борисова Т.А. Полимеразная цепная реакция для индикации микобактерий с использованием различных тест-систем в животноводческих хозяйствах республики Татарстан / Т.А. Борисова, Н.З. Хазипов, А.В. Иванов и др. // Всерос. гос. Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов. – Москва, 2004. – С.205-208.
26. Бородёнок А.И. Некоторые вопросы патогенеза паратуберкулеза при экспериментальном заражении овец / А.И. Бороденок. // Ветеринария. – 1959. –№12. – С.17-21.
27. Бояхчян А.Б. К вопросу о туберкулезе овец / А.Б. Бояхчян, О.Г. Тер-Ованесова. // Тр. Ерев. Зовет. Ин-та. –вып.17. –Ереван. -1954. –С.273-285.
28. Брондз Б.Д. Клеточные основы иммунологического распознавания. Соотношения между субпопуляциями эффекторных Т-лимфоцитов/ Б.Д. Брондз. // Усп. Современ. Биол. – 1977. – т.84. – вып.3. – С.390-409.
29. Букова Н.К. Питательная среда ВКГ для ускоренного выращивания микобактерий / Н.К. Букова, К.В. Шумилов, Н.П. Овдиенко. // Ветеринарная патология. – 2004. – №1-2 (9). – С.107-109.
30. Валиев Р.Ш. Полимеразно-цепная реакция в диагностике туберкулеза./ Р.Ш.Валиев, Т.Х.Фаизов, Л.И. Зайнуллин // Проблемы туберкулеза и болезней легких. – 2005. -№3. – С. 27-27.
31. Вахидова Г.А. Оценка активности туберкулезного процесса с помощью методов розеткообразования: автореф. дисс. ... канд.мед.наук. / Г.А. Вахидова. – Москва, 1977. – 21с.
32. Верховский О.А. Использование метода «Сэндвич» - ИФА для диагностики туберкулеза крупного рогатого скота / О.В. Верховский, А.Х.

Найманов, О.А. Савицкая и др. // Сб. научн. тр. ВНИИБТЖ. – Омск. – 2001. – С.173-175.

33. Вишневский Б.И. ПЦР-диагностика туберкулеза / Б.И. Вишневский, Е.Д. Мирлина, Э.Н. Беллендир. // Проблемы туберкулеза. – 1998. - №4. – С.41-43.

34. Власенко В.В. Экологический мониторинг при туберкулиновой диагностике крупного рогатого скота. / В.В. Власенко, А.П. Лысенко [и др.] // Агрэкологический журнал. – 2003. -№1. – С. 76-79.

35. Газарх З.С. Диагностическое значение аллергии при паратуберкулезе коз / З.С. Газарх, В.Е. Щуревский. // Ветеринария. – 1962. – №6. – С.39-41.

36. Газарх З.С. Реакция связывания комплемента при диагностике паратуберкулеза / З.С. Газарх, В.А. Шаров.// Ветеринария. – 1961. №.2. – С.25-28.

37. Гайнуллин Т.Р. РСК в диагностике паратуберкулеза / Т.Р. Гайнуллин. // Ветеринария. – 1962. –№1. – 30 с.

38. Гребенникова Т.В. Дифференциальная диагностика микобактерий методом полимеразной цепной реакции / Т.В. Гребенникова, В.В. Грабовецкий, С.Л. Кальнов и др. // Ветеринария. – 1999. –№3. – С.17-20.

39. Говоров А.М. Разработка мероприятий по специфической профилактике туберкулеза крупного рогатого скота / А.М.Говоров // Науч. тр. УНИЭВ. – Москва. – 1953. –Т.20. – С.115-125.

40. Головченко М.В. Сравнительная оценка эффективности аллергенов при диагностике паратуберкулеза крупного рогатого скота: автореф. дисс. ... канд. вет. наук / М.В. Головченко. – Москва, 2006. – 19.с.

41. Голубева В.Л. Некоторые особенности показателей крови коз доноров иммунной плазмы – сырья для производства антитимоцитарного иммуноглобулина / В.Л.Голубева, Т.Ш.Адеишвили, В.В.Белова, О.Б.Брускова // Ветеринарная медицина. –2012. – № 3-4. – С.30-32.

42. Голубева В.Л. Лечебное действие антилимфолина (козьего иммуноглобулина) / В.Л.Голубева, Л.Д.Серова, Е.В.Титова и др. // Альманах «Геронтология и гериатрия». – Москва. – 2006. – Вып. 5. – С. 177-182.
43. Горегляд Х.С. Болезни диких животных / Х.С. Горегляд. // Наука и техника. – Минск. –1971. – 302 с.
44. Гутира Ф. Туберкулез. В кн.: Частная патология и терапия домашних животных. Т.1. Инфекционные болезни. / Ф. Гутира, И. Марек. – Москва-Ленинград, 1933. – С.609-759.
45. Гюрджи Л.Н. Реакция бласттрансформации лимфоцитов и реакция нейтрализации антител при туберкулезе крупного рогатого скота: автореф. – Москва,1988. –19 с.
46. Данко Ю.Ю. Туберкулез птичьего вида у овец / Ю.Ю. Данко // Сб.науч.тр. Ленинградского ветин-та. – Ленинград,1983. – вып.73. – С.29-32.
47. Донченко А.С. Взаимосвязь туберкулеза человека и животных / А.С. Донченко, В.Н. Донченко. // Науч.-техн. бюллетень ВАСХНИЛ. Сиб. от. ИЭВСиДВ. – 1985. – вып.32. – С.33-41.
48. Донченко В.Н. Белковые сдвиги в сыворотке крови крупного рогатого скота, сенсibilизированного различными микобактериями / В.Н. Донченко, Н.А. Донченко. // Сиб. отд. ВАСХНИЛ, сб. тр. Новосиб. – 1986. – С.67-75.
49. Донченко А.С. Туберкулез мелкого рогатого скота / А.С. Донченко. // Сб. науч. тр. ИЭВСиДВ. Общая и частная эпизоотология инфекционных болезней сельскохозяйственных животных. – Новосибирск. – 1990. – С.26-39
50. Дорофеев К.А. Паратуберкулезный энтерит у овец и диких животных / К.А. Дорофеев, П.А. Калачев. // Ветеринария. – 1942. –№11. – С.21-24.
51. Дрaбкина Р.О. Иммунитет и аллергия при туберкулезе. В кн.: Многотомное руководство по туберкулезу / Р.О. Дрaбкина, В.А. Равич-Щербо. – Москва. – 1959. – С.125-182.

52. Драбкина Р.О. Микробиология туберкулеза / Р.О. Драбкина. – Москва, 1963. – 66 с.
53. Ерошенко Л.А. Разработка антигенов для серологической диагностики паратуберкулеза / Л.А. Ерошенко, Н.К. Букова и др. // Сб. тр. ВГНКИ. – 2001. – т.62. – С.189-194.
54. Завгородний А.И. Паратуберкулез сельскохозяйственных животных / А.И. Завгородний, С.Д. Подмогова, В.А. Головки. // Ветеринарная медицина. – 2010. – вып. 94. – С.171-173.
55. Здродовский П.Ф. Проблемы инфекции, иммунитета и аллергии / П.Ф. Здродовский. – Москва: Медицина, 1969. – 344с.
56. Зеленский Г.Г. Козоводство / Г.Г. Зеленский. – Москва, 1981. – 174 с.
57. Зубехина Л.И. Липиды и липолитические ферменты в организме крупного рогатого скота при туберкулезе: автореф. дисс. на соиск. уч. степени канд. биол. наук / Л.И. Зубехина. – Москва, 1980. – 20 с.
58. Иваницкий М.Е. Патоморфология паратуберкулеза овец / М.Е. Иваницкий. // Ветеринария. – 1977. -№9. – С.59-62.
59. Иванова Н.А. Культивирование микобактерий паратуберкулеза на жидких питательных средах / Н.А.Иванова. // Тр. ВИЭВ. – 1984. – т.61. – С.67-72.
60. Кадымов Р.Л. Инфекционные болезни овец / Р.Л. Кадымов, А.А. Купаков, В.А. Седов. // Москва: Агропромиздат, 1987. – С.75-81.
61. Калмыков В.М. Использование полимеразной цепной реакции в целях мониторинга благополучия по микобактериальным инфекциям зоопарковых, цирковых и сельскохозяйственных животных: автореф. дисс. ... канд. вет. наук./ В.М. Калмыков. – Москва, 2013. – 19с.
62. Калмыкова М.С. Сравнительное испытание тест-систем для ПЦР-диагностики туберкулеза животных / М.С. Калмыкова. // Ветеринарная патология. – 2006. –№3. – С.149-151.

63. Калмыкова М.С. Применение метода ПЦР для диагностики туберкулеза коз / М.С. Калмыкова, Е.П. Осипова, Н.Г. Толстенко и др. // Ветеринарная патология. – 2006. – №3 – С.149-151.
64. Кассич Ю.Я. Новый метод постановки РСК для выявления активных форм туберкулеза / Ю.Я. Кассич // Докл. Сов.ученых к 18 Всемирн.вет.конгр. – Москва. – 1967. – С.78-80.
65. Кассич Ю.Я. Рецидивы туберкулеза / Ю.Я. Кассич, И.С. Целлариус, А.Е. Тесля и др.// Ветеринария. – 1981. -№4. –С.38-39.
66. Кассич Ю.Я. Значение РСК при диагностике туберкулеза / Ю.Я. Кассич. // Ветеринария. -1982. -№5. –С.24-27.
67. Кельдыбаев С. Распространение туберкулеза среди овец и коз / С. Кельдыбаев, К.А. Туркебаева. // Ветеринария. – 1969. –№9. – С.38.
68. Киселев В.С. Усовершенствование аллергического метода диагностики туберкулеза коз и свиней / В.С. Киселев, А.П. Аликаева, О.В. Якушева. // Сб. реф. ВИЭВ. – Москва. – 1960. – вып.1. – С.38-40.
69. Климов Н.М. Биохимические основы патогенеза и иммуногенеза при инфекционной патологии / Н.М. Климов, А.Г. Малахов. // Тр. ВИЭВ. – 1968. –Т.36. – С.229-240.
70. Климов Н.М. Биохимические изменения в сенсibilизированном организме при развитии туберкулиновых реакций / Н.М. Климов, Г.Ф. Коромыслов. // Тр. ВИЭВ. – 1971. –Т.39. – С.284-290.
71. Козлов В.Е. Оценка эффективности и специфичности коммерческих серий туберкулина (ППД) для млекопитающих отечественного производства / В.Е. Козлов, Н.К. Букова, А.Х. Найманов // Ветеринарная патология. – 2004. - №1-2. – С. 82-85.
72. Кондрахин И.П. Клиническая лабораторная диагностика в ветеринарии: справочник /И.П.Кондрахин, В.Н.Куриллов, А.Г. Малахов и др. – Москва: Агропромиздат,1985. – 287 с.
73. Кокуричев П.И.Паратуберкулезный энтерит овец / П.И. Кокуричев, В.И. Леганцева. // Сб. раб. Вологодской НИВС. – 1961. –вып.5.- 43 с.

74. Кокуричев П.И. Туберкулез овец / П.И. Кокуричев // Туберкулез сельскохозяйственных животных. – Киев: Урожай, 1978. – С.79-87.
75. Колычев Н.М. Экологические особенности микобактерий туберкулеза / Н.М. Колычев. // Сиб. отд. ВАСХНИЛ. Сб. науч. тр. Новосибирск. – 1987. – С.113-121.
76. Корнеев В.В. Аллергическая и серологическая диагностика паратуберкулеза / В.В. Корнеев. // Ветеринария. – 1962. – №1. – С.26-30.
77. Корнеев В.В. Паратуберкулез в Якутской АССР. Распространение и экономический ущерб / В.В. Корнеев. // Тр. Якутского НИИСХ. – 1964. – вып.6. – 103 с.
78. Корнева И.Н. Диагностика туберкулеза крупного рогатого скота с применением полимеразной цепной реакции / И.Н. Корнева, Е.П. Осипова, А.Х. Найманов // Генодиагностика инфекционных заболеваний: Сб. тез., 4-я Всерос. научн.- практ. конф. – Москва. -2002. –С.343-344.
79. Коромыслов Г.Ф. Моноштамные туберкулины для диагностики туберкулеза КРС/Г.Ф.Коромыслов, Г.И.Устинова, Н.П.Овдиенко//Бюл. ВИЭВ. – 1982. – вып . 43. – С.6-8.
80. Коромыслов Г.Ф. Развитие расстройств в патогенезе паратуберкулезного процесса / Г.Ф. Коромыслов // Тр. ВИЭВ. – 1967. – т.ХХХIII. – С.347-349.
81. Коромыслов Г.Ф. Достижения молекулярной биологии и биохимии в диагностике инфекционных болезней животных / Г.Ф. Коромыслов, Г.И. Устинова. // Тр. ВИЭВ. – 1998. – т.71. – С.134-145.
82. Коромыслов Г.Ф. Сравнительная иммунологическая характеристика диагностических компонентов из микобактерий /Г.Ф.Коромыслов, Г.И.Устинова, Н.П.Овдиенко и др.// Тр. ВИЭВ.-1985.-т.61.-С.3-9.
83. Коршунова Л.Н. Иммунологические методы исследований при диагностике туберкулеза / Л.Н. Коршунова, Л.А. Ищенко. // Ветеринария. –1981. –№8. – С.31-33.

84. Костромин. А.П. Динамика метилирования ДНК селезенки морских свинок при экспериментальном туберкулезе / А.П. Костромин. // Пробл. туберкулеза. –Москва: Медицина, 1980. -№3. –С.67-70.
85. Кравец А.Т. Специфичность препаратов, применяемых для диагностики паратуберкулеза / А.Т. Кравец. // Земля Сибирская - Дальневосточная. – Омск, 1972. –№3. –28 с.
86. Кравец А.Т. Возникновение туберкулеза в ранее оздоровленных хозяйствах/ А.Т. Кравец, В.А. Зубакин, В.Н. Зебров и др.// Земля Сибирская-Дальневосточная. –Омск, 1980. -№3. –С.42-43.
87. Кривцова А.Е. Экспериментальный туберкулез у крупного и мелкого рогатого скота / А.Е. Кривцова, К.А. Туркебаева.// Ветеринария. – 1980. - №1. – С.29-30.
88. Кривцова А.Е. Микробиологическая и морфологическая характеристика туберкулеза овец / А.Е. Кривцова, К.А. Туркебаева. // Вопр. взаимосвязи туберкулеза человека и животных. – Алма-Ата: Наука КазССР, 1981. -199 с.
89. Кузин А.И. О латентном течении туберкулеза /А.И.Кузин// Ветеринария. – 1977. -№7. – С. 47-50.
90. Кузин А.И. Опыт ликвидации туберкулеза крупного рогатого скота / А.И. Кузин.// Ветеринария. -1981. №5. – С.32-24.
91. Курганов Ю.Ф.Двукратная аллергическая проба при исследовании коз и овец на паратуберкулез /Ю.Ф.Курганов // Бюллетень научн.-техн. инф-ции Казанского НИВИ.-1953.-№3.-С.34-36.
92. Лакман Э.Д. Динамика комплементсвязывающих антител при экспериментальном туберкулезе / Э.Д.Лакман, И.В.Шлыгин//Сб.науч.тр. Сиб. НИВИ-Омск, 1974.-вып.21.-С.89-92.
93. Лакман Э.Д. Туберкулезные антигены в РСК / Э.Д. Лакман.// Сб. науч.тр. Сиб. НИВИ. –Омск, 1974. –вып.21. –С.86-88.

94. Лысенко А.П. Антигенные комплексы *M. bovis* и их значение в диагностике туберкулеза: автореф. дисс. ... канд. вет. наук / А.П. Лысенко. – Минск, 1984. –22 с.
95. Львов Н.М. Специфичность РСК при паратуберкулезе овец / Н.М. Львов, С. Курманфаев. // Тр. КазНИВИ. –1971. – Т.14. – С.89-91.
96. Львов Н.М. Выделение и изучение штаммов возбудителя паратуберкулеза сельскохозяйственных животных / Н.М. Львов. // Ветеринария. -1958. –№1. –С.87-91.
97. Мальков И.Г. Разработка метода идентификации микобактерий бычьего и человеческого видов с использованием реакции цепной полимеризации / И.Г. Мальков, С.К. Артюшин, Б.А. Фомин и др. // Молекулярная генетика микробиология и вирусология. – Москва: Медицина. -1993. - №2. – С.27-30.
98. Масленко Р.П. Иммунологическая толерантность у животных / Р.П. Масленко. // С/х биол. –1979. – т.14. –№1. – С.11-14.
99. Матвеев В.Н. Взаимоотношения между туберкулезом животных и человека / В.Н. Матвеев. // Практ. ветеринария и коневодство. – 1929. –№8. – С.31-32.
100. Машарипов Ю. Клиническое значение определения Т- и В-лимфоцитов в периферической крови и аутоиммунных реакций при туберкулезе легких: автореф. дисс. ... канд. мед. наук /Ю.Машарипов.- Саратов,1979.-18 с.
101. Медуницин Н.В. Механизм развития клеточного антибактериального иммунитета /Н.В.Медуницин // Иммунология.-1980.- №2.-С.20-26.
102. Методические наставления по проведению исследований при микобактериозах животных / М.И. Гулюкин, А.Х. Найманов ... Е.М. Сошникова [и др.] // РАСХН. Отделение ветеринарной медицины. – Москва, 2012. – Москва, 2012. – 85 с.

103. Методы лабораторной диагностики паратуберкулеза ГОСТ 26073-89. –Москва, 1989. -11 с.
104. Мороз В.Л. Новые метода иммунологической диагностики туберкулеза / В.Л. Мороз, А.А. Асашбаев, Э.С. Цыпкин и др. // Проблемы туберкулеза. – 1981. –№5. – С.66-69.
105. Найманов А.Х. Совершенствование аллергической диагностики туберкулеза у крупного рогатого скота: автореф. дисс. ... канд.вет.наук / А.Х. Найманов. –Москва, 1981. -17с.
106. Найманов А.Х. Применение BOOSTER EFFECT при диагностике туберкулеза для довыявления больных туберкулезом животных / А.Х. Найманов, В.И. Косенко, И.С. Дубовой. // Тр. ВИЭВ. – 1991. –Т.69. –С.136-139.
107. Найманов А.Х. Реакция клеточного иммунитета при экспериментальном и естественном заражении туберкулезом овец / А.Х. Найманов, Н.П. Овдиенко, Л.Н. Черноусова и др.// Актуальные проблемы бруцеллеза и туберкулеза животных: Сб. науч. тр. ВНИБТЖ. – Омск. – 2000. – С.112-119.
108. Найманов А.Х. Определение γ -интерферона для диагностики туберкулеза / А.Х. Найманов, О.А. Верховский, О.А. Савицкая и др.//Ветеринарная патология. – 2004. –№6. – С.19-22.
109. Найманов А.Х. ПЦР при диагностике туберкулеза крупного рогатого скота / А.Х. Найманов, Н.П. Овдиенко, Е.П. Осипова и др. // Ветеринарная патология. – 2004. –С.19-23.
110. Найманов А.Х. Проблемы диагностики и профилактики туберкулеза крупного рогатого скота в современных условиях/ А.Х. Найманов. // Ветеринарная патология. – 2004. -№1-2(9). –С.18-23.
111. Найманов А.Х. Проблемы диагностики паратуберкулеза крупного рогатого скота / А.Х.Найманов, Н.Г.Толстенко, Е.П.Вангели, Г.И.Устинова, Е.М.Сошникова, О.Д.Кучерук // Ветеринария и кормление. –2014. –№ 3. – С.10-12.

112. Насынов Б.Б. Распространенность паратуберкулеза коз / Б.Б. Насынов. // Тр. ВИЭВ. – 1991. –Т.69. – С.127-129.
113. Насынов Б.Б. Диагностика и меры борьбы с паратуберкулезом коз: автореф. дисс. на соиск. уч. степени канд. вет. наук/ Б.Б. Насынов. – Москва, 1995. – 19 с.
114. Наставление по диагностике паратуберкулеза (паратуберкулезного энтерита) животного // Утв. Департаментом Ветеринарии МСХ РФ от 05. 04. 2001. № 13-5-02/0050.20с.
115. Нестреляев С.С. Особенности патоморфологического метода диагностики при паратуберкулезе животных / С.С. Нестреляев. // Тр. ВИЭВ. – 2013. –т.77. – С.125-133.
116. Никаноров Б.А. Белки и морфология крупного рогатого скота, зараженного туберкулезом птичьего типа / Б.А. Никаноров // Тр. ВИЭВ. – 1960. – Т.24. – С. 78-81.
117. Нигматуллин Т.Г. Минеральный состав сыворотки крови крупного рогатого скота в динамике паратуберкулезного процесса / Т.К. Нигматуллин // Тр. ВИЭВ. – 1962. -т.26. – С.107-114.
118. Нигматуллин Т.Г. Изучение белков и белковые фракции сыворотки крови крупного рогатого скота при паратуберкулезном энтерите / Т.Г. Нигматуллин // Тр. ВИЭВ. – 1961. – т.21. – С.215-222.
119. Нигматуллин Т.Г. Ферменты и резервная щелочность крови при паратуберкулезе крупного рогатого скота / Т.Г. Нигматуллин. // Тр. ВИЭВ. – 1961. – т.27. – С.126-128.
120. Нигматуллин Т.Г. Динамика белков и некоторых биохимических показателей крови при паратуберкулезе рогатого скота: автореф. дисс. ... канд. биол. наук, /Т.К.Нигматулин.- Казань,1963. – 21с.
121. Новак Д.Д. Типы туберкулезных микобактерий и их значение в патологии домашних животных и человека / Д.Д. Новак. // Вопросы эпидемиологии, эпизоотологии и дезинфекции при туберкулезе: материалы 2-й Всерос. конф. фтизиаторов. – Москва: Медицина, 1968. – С.192-200.

122. Новак Д.Д. Туберкулез сельскохозяйственных животных / Д.Д. Новак. – Алма-Ата: Кайнар, 1977. –142 с.
123. Новикова М.П. Паратуберкулез с.-х. животных и меры борьбы с ним / М.П. Новикова. – Омск, 1971. – 320с.
124. Нуралиев М.М. Паратуберкулез овец в Уральской области и совершенствование методов его диагностики: автореф. дисс. ...канд. вет. наук. / М.М. Нуралиев. – Казань, 1968. – 19 с.
125. Нуралиев М.М. Сравнительные данные по диагностике паратуберкулеза овец методом РСК с антигеном СибНИВИ ЗКСХИ / М.М. Нуралиев. // Научн. тр. Саратовского СХИ. –1976. –Т.17. – С.92-94.
126. Нуралиев М.М. Диагностические и профилактические препараты при паратуберкулезе овец / М.М. Нуралиев, А.К. Копеечкина, М.М. Нуралиева. // Вест. с/х. науки Казахстана. – Алма-Ата, 1980. –№4. – С.70-71.
127. Нуратинов Р.А. Совершенствование бактериологической диагностики туберкулеза / Р.А. Нуратинов, З.А. Казиахмедов, А.Х. Найманов, Н.П. Овдиенко // Сб. науч. тр., посвященный 70-летию ДальЗНИВИ. – Благовещенск, 2005. – С. 13-21.
128. Обухов И.Л. Лабораторная диагностика инфекционных болезней методом ДНК-амплификации при помощи полимеразной цепной реакции (ПЦР) / И.Л. Обухов, К.Н. Груздев. // Сб. тр. ВГНКИ. – 1995. –т.57. – С.36-45.
129. Обухов И.Л. Усовершенствование коммерческих ПЦР-тест-систем для диагностики туберкулеза животных / И.Л. Обухов, Н.К. Букова, О.В. Клименкова. // Ветеринарная патология. – 2004. –№1-2. – С.94.
130. Обьедков Г.А. Механизм иммунного ответа при экспериментальном туберкулезе животных / Г.А. Обьедков, В.А. Сюсюкин, Г.А. Карпова и др. // Ветеринария. – 1983. –№10. – С.24-25.
131. Овдиенко Н.П. Актуальные вопросы изучения механизмов иммуногенеза при туберкулезе крупного рогатого скота /Н.П.Овдиенко, В.А.Горбатов, В.С Гуткин и др. //Сиб.отд ВАСХНИЛ. Сб.науч. тр. Новосибирск.-1986.-С.-61-67.

132. Овдиенко Н.П. Состояние и перспективы научных исследований по диагностике паратуберкулеза животных / Н.П. Овдиенко. // Бюллетень ВИЭВ. –1987. – вып.64. – С.54-59.
133. Овдиенко Н.П. Туберкулез сельско-хозяйственных животных. / Н.П. Овдиенко. // Эпизоотология туберкулеза. – Москва: Агропроимздат, 1991. – С. 42-63.
134. Овдиенко Н.П. Основные направления и достижения науки в изучении туберкулеза животных. / Н.П. Овдиенко, В.Г. Ощепков, А.Л. Лазовская, А.Н. Шаров. // Состояние, проблемы и перспективы развития ветеринарной науки России: Материалы научной сессии РАСХН. – Москва. – 1999. – Т.1. –С. 111-114.
135. Овдиенко Н.П. Идентификация различных видов микобактерий методом иммуноферментного анализа. / Н.П. Овдиенко, А.Х. Найманов, М.В. Головченко. // Науч. тр. ВНИИБТЖ. – Омск, 2001. – С.171-172.
136. Овдиенко Н.П. Наставления по диагностике туберкулеза животных / Н.П. Овдиенко, А.Х. Найманов, Г.И. Устинова и др. // Наставление. – Утверждено департаментом МСХ 16.11.2002. –18 с.
137. Овдиенко Н.П. Совершенствование диагностики туберкулеза / Н.П. Овдиенко, А.Х. Найманов, Г.И. Устинова. // Материалы междунар. конф., посвящ. 40-летию СИБНИИРЖИВ. – Бишкуль, 2002. –С.94-97.
138. Овдиенко Н.П. Экспериментальный туберкулез овец / Н.П. Овдиенко, А.Х. Найманов, В.И. Косенко и др.// Тр. ВИЭВ. – 2003. т.73. –С.31-36.
139. Овдиенко Н.П. Методика определения специфичности и активности аллергенов, приготовленных из возбудителя паратуберкулеза / Н.П. Овдиенко, А.Х. Найманов, М.В. Головченко, Г.И. Устинова и др. / Методика определения специфичности и активности аллергенов, приготовленных из возбудителя паратуберкулеза. – Методические рекомендации, утверждены методсоветом и директором ВИЭВ 30.05.06 г. – С.6.

140. Овдиенко Н.П. Бактериологическая диагностика туберкулеза животных. / Н.П. Овдиенко, А.Х. Найманов, Ю.Н. Смолянинов и др. // Ветеринария. – 2006. -№12. –С.3-6.
142. Овдиенко Н.П. Экспериментальный туберкулез коз / Н.П. Овдиенко, А.Х. Найманов, О.В. Якушева и др.// Эпизоотология и профилактика инфекционных болезней крупного рогатого скота: тез.14-17 березня Междун. науч.-практ. конф. –Киев: Украина, 2006. –С.64.
143. Овдиенко Н.П. Туберкулез коз / Н.П. Овдиенко, А.Х. Найманов, Е.П. Осипова и др. // Актуальные проблемы патологии и иммунологии животных: материалы междунар. научно-практ. конф. – Москва, 2006. – С.312-316.
144. Овдиенко Н.П. Восприимчивость коз к возбудителю туберкулеза / Н.П. Овдиенко, В.И. Строганов, Е.М. Сошникова и др. // Веткорм. – 2009. – №6. – С.26-27.
145. Околелов В.И. Спектрофотометрия для прижизненной диагностики туберкулеза крупного рогатого скота / В.И. Околелов. // Вет. патология. – 2004. –№1-2. – С.123-125.
146. Окулич-Козорина Л.В. Опыт разведения пуховых и шерстных коз в колхозах Горно-Алтайской Автономной области / Л.В. Окулич-Козорина. – Горно-Алтайск, 1951. –57 с.
147. Осипова Е.П. Применение полимеразной цепной реакции для идентификации микобактерий и ее диагностическая значимость при туберкулезе крупного рогатого скота: автореф.дисс. ... канд.биол.наук/ Е.П.Осипова.-Москва, 2004.-21 с.
148. Орехов А.А. Продуктивное козоводство / А.А. Орехов. – Москва: Колос. –1974. –231 с.
149. Охрименко В.И. Влияние щелочной и кислотной нагрузок на биохимические показатели крови и мочи овец / В.И. Охрименко, Г. Флаховски и др. // Ветеринария. – 1989. – №6. – С.63-65.

150. Ощепков В.Г. Современные проблемы диагностики и профилактики туберкулеза животных / В.Г. Ощепков, Н.П. Овдиенко, А.Х. Найманов и др. // Ветеринарный консультант. – 2003. -№20. –С.9.
151. Петров Р.В. Иммунологические механизмы клеточного гомеостаза / Р.В. Петров, В.М. Хаитов // В кн.: Гомеостаз. –Москва. -1976. – С.131-133.
152. Петров Р.В. Лимфоциты, несущие типичных маркеров Т- и В-клеток: характеристика и эффекторные функции / Р.В. Петров, Н.А. Халявин, В.М. Манько и др. // Успехи совр. биологии. – 1980. – т.90. – вып.2. – С.193-210.
153. Петров В.М. Контроль и регуляция иммунного ответа /Р.В.Петров, Н.А.Хаитов, В.М.Манько и др. – Москва: Медицина.-181.- 312 с.
154. Писаренко Е.Н. Патогенная роль возбудителя туберкулеза человеческого вида для овец / Е.Н. Писаренко, Л.С. Соколова. // Сб. науч.тр. ИЭВСиДВ. – Новосибирск. – 1988. – С.32-37.
155. Поддубский И.В. Материалы по изучению паратуберкулеза сельскохозяйственных животных / И.В. Поддубский, В.Е. Щуревский, А.П. Аликаева. // Тр. ВИЭВ. – 1962. – т.26. – С.115-134.
156. Поддубский И.В. Методы постановки научно-производственных опытов при изучении туберкулеза и паратуберкулеза сельскохозяйственных животных / И.В. Поддубский. // Бюллетень ВИЭВ. –1970. – вып.8. – С.29-35.
157. Покровский В.И. Приобретенный иммунитет и инфекционный процесс / В.И. Покровский, М.М. Авербах, В.И. Литвинов и др. – Москва: Медицина,1979. –280 с.
158. Пресняков Д.Ф. Определение общего белка рефрактометрическим методом. / Д.Ф. Пресняков. // Ветеринарная лабораторная практика. – Москва: издательство с/х литературы, журналов и плакатов, 1963. – Т.2. – С. 32-34.

159. Прокофьева М.Т. Восприимчивость коз к искусственному заражению разными типами туберкулезных бацилл / М.Т. Прокофьева. // Микробиологический журнал. – 1949. – т.2. – вып.2. – С.17-20.
160. Пузик В.И. Иммунология туберкулеза /В.И.Пузик. -Москва: Медицина,1955.-342 с.
161. Ротов В.И. Туберкулез с/х животных / В.И. Ротов, П.И. Кокуричев, П.Е. Савченко. – Киев, 1978. – С.278-281.
162. Савицкая О.А. Диагностическое значение реакций клеточного иммунитета при туберкулезе крупного рогатого скота: автореф.-Москва,204.-24 с.
163. Сидорчук В.А. Паратуберкулез овец, коз и кроликов: автореф. дисс. ... канд. вет. наук / В.А. Сидорчук. – Москва, 2010. –19 с.
164. Сидорчук В.А. Патогенез экспериментального паратуберкулеза овец и коз / В. А. Сидорчук, А.Х.Найманов, Н.П.Овдиенко, Г.И.Устинова... Е.М. Сошникова и др. // Сборник науч. трудов МГАВМиБ им. К.И.Скрябина, Актуальные проблемы ветеринарной медицины. – 2009. – С.219-222.
165. Словак З., Семенкова Л. // Лаб. дело. – 1954. – С.19.
166. Смолянинов Ю.И. Экономический ущерб от туберкулеза крупного рогатого скота в России / Ю.И. Смолянинов. // Ветеринарная патология. – 2006. –№3. – С.104-112.
167. Солодовников В.Л. Иммунокомпетентность организма крупного рогатого скота и овец к микобактериям: автореф. дисс. канд. вет. наук / В.Л. Солодовников. – 1982. – 23 с.
168. Солодовников В.Л.Иммунологический контроль туберкулеза крупного рогатого скота /В.Л.Солодовников// Ветеринария.-1992.-№5.С.23-27.
169. Сомова Н.М. Антитела при туберкулезе/Н.М.Сомова //Вопросы бактериологии, патогенеза и бактериологической диагностики туберкулеза.- Ленинград,1958.-С.54-58.

170. Сошникова Е.М. Биохимические изменения крови коз при экспериментальном заражении *M. bovis* / Е.М. Сошникова, Г.И. Устинова, В.И. Строгонов [и др.] // Тр. ВИЭВ. – Москва. – 2010. – т. 76. – С. 115 – 117.
171. Сошникова Е.М. Динамика биохимических показателей крови при экспериментальном заражении коз *M. bovis* / Е.М. Сошникова, Г.И. Устинова, А.Х.Найманов [и др.] // Веткорм. – № 5. – 2014. – С. 75 – 76.
172. Сошникова Е.М. Динамика биохимических показателей крови при паратуберкулезе мелкого рогатого скота / Е.М.Сошникова, Г.И.Устинова, А.Х.Найманов [и др.] // Веткорм. – 2015. – № 3. – С. 37 – 38.
173. Сошникова Е.М. Сравнительная оценка активности ферментов в сыворотке крови коз при экспериментальном заражении туберкулезом и паратуберкулезом / Е.М.Сошникова, Г.И.Устинова // Труды ВИЭВ. – Т.78. – Москва, 2015.– С. 374 – 381.
174. Строгов А.К. Паратуберкулез овец и коз / А.К. Строгов. // Сб. иностр. с.-х. инф-ции МСХ СССР. –1959. –№4. –42 с.
175. Струков А.И. Механизмы иммунного воспаления / А.И. Струков. // Вест. АМН. СССР. – 1979. –№11. – С.67-85.
176. Сучкова С.Н. Методические вопросы исследования концентрации холестерина и триглицеридов плазмы крови / С.Н. Сучкова, И.П. Афонина, В.Н. Титов и др. // Лаб. дело. –1974. –№6. – С.334-370.
177. Таллер Л.А. Ускоренная индикация и идентификация микобактерий туберкулезного комплекса методом ПЦР / Л.А. Талер, Т.А. Вассимирская, В.Г. Ошепков и др. // Мат. Всерос. научн. - практ. конф. – Омск. – 2009. – С.160-162.
178. Тер-Ованесян О.Г. К вопросу о туберкулезе овец: автореф. дисс. ... канд. вет. наук / О.Г. Тер-Ованесян. – Ереван, 1956. –20 с.
179. Третьяков А.Д. Наставление по применению туберкулинов для диагностики туберкулеза у млекопитающих и птиц / А.Д. Третьяков. // Вет. законодат. – Москва: Колос, 1972. –т.1. – С.633-636.

180. Тузова Р.В. Туберкулез сельскохозяйственных животных и птицы / Р.В. Тузова. – Минск: Ураджай, 1983. –263 с.
181. Туркебаева К.А. Патологическая анатомия туберкулеза млекопитающих и виды микобактерий / К.А.Туркебаева, Я.А. Благодарный. – Алма-Ата: Наука КазССР, 1981. –199 с.
182. Тутов И.К. Номенклатура патогенных микобактерий / И.К Тутов. // Вестник ветеринарии. – 2006. –№38. – С.17-19.
183. Урбан В.П. Эпизоотическая вспышка туберкулеза овец / В.П. Урбан, М.М. Широбокова, Ю.Ю. Данко и др. // Сб. науч.работ Ленинградского ветин-та. – 1980. –вып.63. –С.104-109.
184. Устинова Г.И. Получение, химические и биологические свойства протеинов из микобактерий туберкулеза./Г.И.Устинова. дисс.кад.биол.наук, Москва,1978.- 21 с.
185. Устинова Г.И. Биохимические изменения крови коз при экспериментальном заражении *M. bovis* / Г.И.Устинова, В.И.Строганов, А.Х.Найманов, Е.М.Сошникова и др. // Тр. ВИЭВ. – 2010. – т.76. – С.115-117.
186. Федоров В.В. Заражаемость туберкулезом свиней, овец и лошадей при совместном содержании их с туберкулезным крупным рогатым скотом / В.В. Федоров. // Сб. науч. работ Ленинградского ин-та усовершенствов. ветврачей. – Москва-Ленинград. –1953. – вып.9. – С.50-56.
187. Финкель Е.А. Течение экспериментального туберкулеза у коз/Е.А.Финкель, Г.А.Михалева// Киргизкий НИИ туберкулеза, 1976.-С35-36.
188. Фонталлин Л.Н. Иммунологическая толерантность / Л.Н. Фонталлин, Л.А. Певницкий. – Москва: Медицина, 1978. –312 с.
189. Хабибуллина С.Х. Некоторые материалы по диагностике паратуберкулеза овец / С.Х. Хабибуллина. // Тр. Троицкого вет. ин-та. –1965. – т.9. – С.127-133.
190. Хабибуллина С.Х. О диагностической чувствительности двукратной аллергической пробы при паратуберкулезном энтерите овец. / С.Х. Хабибуллина. // В кн.: Проблемы борьбы с туберкулезом и

паратуберкулезом сельскохозяйственных животных. Изд-во Воронежского университета. – Воронеж. –1965. – С.208-211.

191. Хаитов Р.М. Миграция Т- и В-лимфоцитов / Р.М. Хаитов. // В кн.: Биологическая активность Т- и В-лимфоцитов. – Москва, 1977. – т.5. – С.36-61.

192. Ходун Л.М. Лабораторные методы экспресс-диагностики туберкулеза животных. / Л.М. Ходун. // 100-летие Курской биофабрике и агробиологической промышленности России: Тезисы науч.-произв. конф. – Курск, 1996. – С. 335-338.

193. Хон Ф.К. Диагностика паратуберкулеза верблюдов: автореф. дисс. на соиск. уч. степени канд. вет. наук / Ф.К. Хон. – Москва, 1984.

194. Хунданов Л.Л. Современные иммунологические аспекты инфекционных болезней / Л.Л. Хунданов. // Микробиол. эпидемиол. иммунол. – Москва. –1976. –№7. – С.71-77.

195. Чертов И.Я. Клеточные основы кроветворения / И.Я. Чертов, А.Я. Фриденштейн. – Москва: Медицина, 1977. –269 с.

196. Шаров А.Н. Сравнительное изучение альттуберкулина и ППД=туберкулина для птиц при диагностике паратуберкулеза овец / А.Н. Шаров, В.А. Шаров, О.В. Якушева. // Бюллетень ВИЭВ. –1983. – вып.51. – С.75-76.

197. Шаров А.Н. Интрапальпебральная туберкулиновая проба у мелкого рогатого скота / А.Н. Шаров. // Ветеринария. –1986. –№7. – С.44-46.

198. Шаров А.Н. ПЦР при диагностике туберкулеза / А.Н. Шаров, Л.А. Ерошенко, И.П. Суханов и др. // Ветеринария. –2000. –№10. – С.19-22.

199. Шаров А.Н. Эффективность методов прижизненной диагностики туберкулеза. / А.Н. Шаров, Л.А. Ерошенко, И.П.Суханов [и др.]. // Ветеринария. – 2002. - №2. – С.16-18.

200. Шаров А.Н. О бактериологической диагностики туберкулеза. / А.Н. Шаров, // Ветеринарная жизнь. – 2005. - №6. – С.7.

201. Шаров В.А. Туберкулез. В кн.: Болезни овец и коз. / В.А. Шаров. – Москва: Колос, 1973. – С.166-171. 294. Шаров А.Н. К вопросу диагностики туберкулеза / А.Н. Шаров. // Ветеринария. –1982. -№9. –С.16-17.
202. Шаров В.А. Диагностика паратуберкулеза мелкого рогатого скота / В.А. Шаров, З.С. Газарх // Тр. ВИЭВ. – 1962. – Т.26. – С.135-138.
203. Шатров А.П. Материалы по изучению паратуберкулеза овец в Уральской области / А.П. Шатров, М.М. Нуралиев. // Тр. КазНИВИ. –1966. – т.12. – С.94-95.
204. Шишкина Е.Я. Развитие микобактерий паратуберкулеза на питательных средах / Е.Я. Шишкина. // Ветеринария. – 1966. –№11. – С.15-17.
205. Шишков В.П. Туберкулез животных, методы диагностики и профилактики. Обзорная информация. / В.П. Шишков. // Всесоюз. НИИ информ. и тех-эконом. исслед. по с.-х. животным. – Москва, 1986. –44 с.
206. Шишков В.П. Патогенез и патоморфология туберкулеза. В кн.: Туберкулез сельскохозяйственных животных / В.П. Шишков, Н.А. Налетов, О.В. Якушева. – Москва: ВО Агропромиздат, 1991. – С.64-72.
207. Шуйкина Э.Е. Патология иммунной системы при инфекционных болезнях / Э.Е. Шуйкина. // Патология иммунной системы. Иммунология. – Москва. – 1979. – т.8. – С.70-92.
208. Шуляк Б.Ф. 110 лет со дня открытия возбудителя паратуберкулеза / Б.Ф. Шуляк. // Российский ветеринарный журнал. – 2005. –№9. – С.238-239.
209. Щуревский В.Е. Паратуберкулез сельскохозяйственных животных /В.Е.Щуревский.-Москва: Колос, 1971.-128 с.
210. Щуревский В.Е. Диагностическое значение аллергии при паратуберкулезе коз / В.Е. Щуревский, З.С. Газарх. // Ветеринария. –1962. –№6. – С.39-41.
211. Щуревский В.Е. Патологоанатомическая диагностика туберкулеза / В.Е. Щуревский, О.В. Якушева, Н.П. Овдиенко и др. // Ветеринария. – 1980. - №10. –С.27-29.

212. Щуревский В.Е. Патологическая анатомия паратуберкулеза у крупного рогатого скота, овец и коз в зависимости от показаний аллергии и реакции связывания комплемента / В.Е. Щуревский. // Тр. ВИЭВ. – 1965. – т.31. – С.88-102.
213. Щуревский В.Е. Патологическая анатомия, вопросы патогенеза и патоморфологическая характеристика аллергии и РСК в диагностике паратуберкулеза сельскохозяйственных животных: автореф. дисс. ... докт. вет. наук / В.Е. Щуревский. – Москва, 1966. –34 с.
214. Щуревский В.Е. Лабораторные методы диагностики паратуберкулеза. В кн.: Достижения ветеринарной науки / В.Е. Щуревский, А. П. Аликаева. – Москва: Колос. –1966. – 73 с.
215. Щуревский В.Е. Экспериментальный паратуберкулез овец / В.Е. Щуревский, В.А. Шаров, В.С. Тырина. // Тр. ВИЭВ. – 1974. –т.42. – С.235-242.
216. Юсковец М.К. Туберкулез сельскохозяйственных животных и птиц / М.К. Юсковец. – Минск: Сельхозгиз БССР, 1963. –449 с.
217. Якушева О.В. Патоморфология при экспериментальном туберкулезе / О.В. Якушева, А.С. Донченко. // Науч. -техн. Бюллетень ВАСХНИЛ. ВИЭВ. – Москва. – 1979. – вып.37. – С.13-16.
218. Белчев Д. Опити за експерименталпар върху паратуберкуозата по овцете и говедата у нас / Д. Белчев. // Известия вет. ин-т Заразни и паразитни болести. – 1962. – кн.3. – С. 65-72.
219. Савов Н. Случаи на туберкулоза по овцете / Н. Савов. // Науч. тр. Централен ветерин. ин-т за заразни и паразитни болести. –София. –1960. -Т.2. –С.231-238.
220. Abbas B. Diagnosis of Johne's disease (Paratuberculosis) in cattle with emphasis on serological methods / B. Abbas. // Vet. Med. Diss. University of California. – 1983.P.34-41.

221. Abbas B. Diagnosis of Johne's disease in Northern California cattle and note on its economic significance / B. Abbas, H.P. Ricmann, D.W. Hird. // California-Veterin. – 1983. –Vol.37. – № 8. – P.20-29.

222. Alhaji I. Diagnosis of Mycobacterium bovis and Mycobacterium paratuberculosis infectious in cattle by in vitro lymphocyte immunostimulation / I. Alhaji, D.W. Johnson, C.C. Muscoplat et al. // Am.J.Vet.Res. –1974. –Vol.35. – P.725-727.

223. Alibasoglu M. Paratuberkulozda allerjik reaktionların patolojik bulgularia uygunluk derecesi üzerinde araştırma / M. Alibasoglu, F. Demirer, N. Vüsel. // Ankara Üniversitesi. – 1969. –Vol.16. – P.236-256.

224. Alinovi C.A. Real-time PCR, compared to liquid and solid culture media and Elisa for detection of Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis / C.A. Alinovi et al. // Veterin. Microbiol. – 2009. –Vol.136. –№ 2. – P.171-179.

225. Allen W.M. Haematological study of clinical cases of Johne's disease and the assessment of intravenous Johnin diagnostic test / W.M. Allen, D.S.P. Patterson. // J. Comp. Pathol. – 1967. –Vol.77. – P. 71-79.

226. Bang O. Das Gelfügel tuberculin als diagnostisches mittel bei der chronischen Pseudotuberkulösen Darmentzündung des Rindes (Johne's disease) / O. Bang. // Zbl. Bacteriol. I. Abt. Orig. – 1909. – Bd.51. – S.450-455.

227. Bartos M. Risk assessment of mycobacterial infections (human tuberculosis and avian mycobacteriosis) during anatomical dissection of cadavers / M. Bartos, H. Pavlikova, L. Dvorska et al. // Vet.Med-Czech. – 2006. – Vol.51. – №5. – P.311-319.

228. Bas A.T. Zur bakteriologischen und serologischen diagnostic der Paratuberkulose des Rindes: Znaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades beim Fachbereich Veterinärmedizin der Sustus / A.T. Bas. – Liebig-Universität Yieben, 1990. –775 s.

229. Bendixen P.H. Immunological reactions caused by infection with Mycobacterium paratuberculosis / P.H. Bendixen. // Nord. Vet. Med. – 1978. – Vol.30. – P.163-168.

230. Benedictus D. Economic losses due to paratuberculosis in dairy cattle / D. Benedictus, A.A. Dijkhuizen, J. Stelwagen. // *Vet. Rec.* – 1987. –Vol.121. –№7. – P.142-146.
231. Berenbaum M. Immunosuppressive agents / M. Berenbaum. // *Pharm. J.* – 1969. –Vol.203. – P.671-679.
232. Bergmann A. Neuere Erkenntnisse zur Paratuberkulose / A. Bergmann, J.S. Camara, A. Voight. // *Monatsh veterinärmed.* – 1981. –Vol.36. –№12. – P.471-477.
233. Berndt R. Infektiöser chronischer Durchfall bei Bindern / R. Berndt. // *Veröffl. Jahres Veterin. Bericht.* – 1905. – H.2. – 42 s.
234. Besser W. Ökologie der Mycobacterium / W. Besser, J. Schirman. // *Zbl. Bacteriol. Parasiten. Infect.Hyg.J.Abb.Orig.* 211-169. – №1. – S.58-69.
235. Beveridge W.J.B. Mycobacterial diseases / W.J.B. Beveridge. // *Anim. Health in Austr.* –1983. –№4. – P.155-163.
236. Buergelt C. D. Lymphocyte transformation: an aid in the diagnosis of paratuberculosis / C.D. Buergelt, C.E. Hall, R.S. Merkal et al. // *Am. J. Vet. Res.* – 1977. –Vol.38. –№11. – P.1709-1715.
237. Ceriotti F., Ceriotti G. // *Clin. Chem.* – 1990. – Vol. 26. – P.327.
238. Chambers M. F. Vaccination of Guinea Pigs with DNA Encoding The Mycobacterial Antigen MPB83 Influences Infection Pathology but Not Hematogenous Spread following Atrogenic Infection with *M.bovis* / M.A. Chambers, A. Williams, G. Hatch et al. // *Inf. and Immun.* –2002. –Vol.70. –№4. – P.283-287.
239. Chambers M.A. Vaccination of Mice and Cattle with Plasmid DNA Encoding the Mycobacterium bovis Antigen MPB83 / M.A. Chambers, H.M. Vordermeier, A. Whelan et al. // *Clin.Inf.Dis.* – 2003. – Vol.30 (Suppl 3). – P.283-287.
240. Chamberlin W. Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis as one cause of Johne's disease / W. Chamberlin, D.Y.Yaron, K.Hulten. // *Aliment. Pharmacol. Ther.* – 2001. – Vol.15. – P.337-346.

241. Chandier R.L. Johne's disease of cattle and sheep in New Zealand / R.L. Chandier. // Brit. Vet. J. – 1958. –Vol.114. – P.30-38.
242. Chaparas S.D. Comparison lymphocyte transformation, inhibition of macrophage migration and skin tests using dialysable and non-dialysable tuberculine fraction from mycobacterium bovis (BBG) / S.D. Chaparas, D.E. Thoen, S.R. Hedrik. // J. Immunol. –1971. –Vol.107. – P.149-153.
243. Chaulet P. Tuberculosis. / P.Chaulet, F. Banlahbal, S. Crosset. // Int. J. Tuberc. Lung. Dis. – 1996. – Vol.78. – P. 487-492.
244. Chromy V. et all. // J. Biochem. Clin. Bohemoslov. – 1977. – Vol.6. – P.167.
245. Chromy V. et all. // J. Biochem. Clin. Bohemoslov. – 1981. – Vol.10. – P.213.
246. Chromy V. et all. // J. Biochem. Clin. Bohemoslov. – 1987. – Vol.16. – P.275.
247. Chromy V. et all. // J. Biochem. Clin. Bohemoslov. – 1989. – Vol.18. – P.57.
248. Cinander B. Cellular and genetic factors in tolerance / B. Cinander. // Allergy and clin. Immunol. – Amsterdam-Oxford, 1977. – P.19-27.
249. Claman H.N. Immunological complementation between thymus and marrow cell. A model for two-cell theory of immunocompetence / H.N. Claman, E.A. Chaparon. // Transplant. Rev. – 1969. –Vol.1 – P.92-113.
250. Cousins D. Investigation of also positives in the is 900 PCR for identification of M. paratuberculosis / D. Cousins, R. Whittington, A. Masters et al. // Mol. Cell. Probes. – 1999. –Vol.14. – P.431-442.
251. Doyle T.M. Susseptibility to Johne's disease in reaction to age / T.M. Doyle. // Vet. Rec. – 1953. –Vol.65. – P.363-364.
252. Drasan J. Tuberculosa hospodarskich zvir at / J. Drasan. // Vydala Ceskoslov. acad. Lemed. Ved de Spolupraci se. –Prase. -1962. -1895.

253. Drasan J. Tuberculosa ovei/ J. Drasan, A. Lobouk, M. Pavise. // Tuberculosa hospodarskich zvirat Vydala Ceskoslov. acad. Lemed. Ved de Spolupraci se. –Prase. – 1962 . – P.154-155.
254. Dubash K. Evaluation an agar-gel immunodifussion test kit for detection of antidodies to M. paratuberculosis in sheep / K. Dubash, V.P. Shulam, S. Bech-Nielgen. // J. Am. Med. Vet. Ass. – 1996. –№ 208 (3). – P.401-403.
255. Ellingson J.L.E. Identification of a gene unigue to Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis and application to diagnosis of paratuberculosis / J.L.E. Ellingson, C.A. Bollin, J.R. Stabel. // Mol. Cell. Probes. – 1998. –Vol.12. – P.133-142.
256. Eveleth M.W. Johne's disease of goats / M.W. Eveleth, D.F. Eveleth. // Vet. Med. – 1943. –Vol.38. – P.258-261.
257. Faldyna M. Leucocyte counts and lymphocyte subpopulations in the peripheral blood of pygmy goats from herd infected with Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis / M. Faldyna, M. Toman, I. Pavlik. // Vet. Med.-Czech. Rev. –1999. – Vol.44. – №9. – P.259-262.
258. Garcia de Lima E. Untersuchungen über die Zahl der B- und T-lymphocyten im strömenden blut von gesunden Leukoseverdächtigen und Leukosekranken Rindern der Deutschen Schwarzbunten / E.Garcia de Lima, E. Mitscherlich. // Zbl. Vet. Med. Reihe B. – 1973. – Bd.20. – H.9. – S.665-684.
259. Gasse H. L'enterite paratuberculeuse en Franse / H. Gasse. // Bull. Office internat epizooties. – 1961. –Vol.55. – P.1132-1135.
260. Geson N.M. Identification and control of paratuberculosis in a large goat heard / N.M. Geson et al. // Am. J. Vet. Res. – 1988. –Vol.49. – P.1817-1823.
261. Grewal A.S. Erythrocyte rosettes. A marker for bovine T-cells / A.S. Grewal, B.T. Rouse, L.A. Babiuk. // Can. J. Comp. Med. – 1976. –Vol.40. –№3. – P.298-305.
262. Hagan W.A. Studies on control of Johne's disease / W.A. Hagan, A. Zeissia. // J. Am. Vet. Med. Assoc. – 1933. –Vol.82. – P.391-407.

263. Halgaard C. Adverse effects of vaccination against paratuberculosis: Tuberculin sensitization and nodule formation. / C. Halgaard. // Commission of the European Communities, Agriculture, Report Eur 9000 EN. – 1984. – P.145-153.

264. Hayward A.R. Suppression of B-lymphocyte differentiation by newborn T-lymphocytes with on Fc-receptor for IgM / A.R.Hayward, P.M. Lydyard. // Clin. and Exp. Immunol. – 1978. –Vol.34. – P.374-378.

265. Hermon-Taylor J. The Causation of Crohns Disease and Treatment Autimicrobial Drugs. / J. Hermon-Taylor // Ital. J. Vastroenterology-Hepatology. Dtc. – 1998. – № 30(60). – P.607-610.

266. Hole N.H. Johne's disease. J. Present day diagnosis and a preliminary note on an investigation into the value of a serological method / N.H. Hole. // Vet. Rec. – 1952. –Vol.64. – P.601-603.

267. Hole N.H. The diagnosis of Johne's disease. / N.H. Hole. // Proceedinge 15-th International Veterin. Congress (Stockholm). – 1953. –Vol.1. – P. 173-177.

268. Hosek J. Methods of mycobacterial DNA isolation from different biological material / J. Hosek, P. Svastova, M. Maravkova et al. // Vet. Med.-Czech. Rev. – 2006. – Vol.51. – №5. – P.180-192.

269. Hutchinson L.S. Johne's disease – what know, what we need to know / L.S.Hutchinson. // Anim. Nutrit. Health. – 1986. –Vol.41. – №5. – P.24-27.

270. Jacob H.J. Zum Vorcommen der Paratuberculose bei Schafen in Süddeuschland / H.J. Jacob, B. Schiefer. // Tier. Umschau. – 1969. – H.24. –№11. – S.533-536.

271. Johnson H.W. Tuberculin reaction in cattle infected with Mycobacterium paratuberculosis (Johne's disease) / H.W. Johnson, J.G. Milligan, B.F. Cox. // J. Amer. Vet. Med. Assoc. – 1941. –Vol.99. – P.115-118.

272. Katic J. Paratuberculosis (Johne's didease) with special reference to captive wild animals / J. Katic. // A survey – Nord. Vet. Med. – 1961. –Vol.13. – P.205-214.

273. Keyhani M. Presence of the Mycobacterium tuberculosis in the milk of Experimentally Reproduces Sheep Tuberculosis / M. Keyhani. // Bull. Anim. Int. des epizootice. – Paris. –1971. –Vol.73. – №11-12. – P.993-998.
274. Kilchsperger G. Zur diagnostik der Paratuberculose / G. Kilchsperger. Schweis. Arch. Tier. – 1959. –Vol.101. –S.180-185.
275. Kleeberg H.H. Tuberculosis other Mycobacterissis. In: Diseases transmitted from animals to man. / H.H. Kleeberg. // Springfield. Chasles C. Thomas. –1975. – P.303-360.
276. Kunz W. Kliniche Untersuchungen zur Diagnostik der Paratuberkulose und zur Epidemiologic der KRANKHEIT IN BAYERN / W. Kunz. // Tier. –1977. – Vol.32. – S.571-579.
277. Lal J.M. Johne's disease in cattle, sheep and goats Indian council of agricultural research / J.M. Lal. –New Delhi. – 1958. –P.57.
278. Larsen A.B. Paratuberculosis: The status of our knowlrdge / A.B. Larsen. // Amer. J. Vet. Res. – 1972. –Vol.161. – P.1539-1541.
279. Larsen A.B. Johne's disease – immunization and diagnosis / A.B. Larsen. // Amer. J. Vet. Med. Ass. – 1973. –Vol.163. – P.902-904.
280. Levi M.L. Experimental study of Johne's disease in goats / M.L. Levi. // J. Compar. Pathol. and Therap. – 1948. –Vol. 58. – P.38-63.
281. Liebana E. Simple and rapid detection of Mycobacterium tuberculosis complex organisms in bovin tissue samples by PCR. / E. Liebana, A. Aranaz et all. // J. Clin. Microbiol. – 1995. – Vol. 33. – P. 33-36.
282. Marek J. Enteritis paratuberculosa / J. Marek.// Allatorvosi Lapok. – 1910. –504 p. по реф. в Jahres bericht. Veterin. Med. – 1933. – Vol.30. –182 s.
283. McKinley J.D. // Mikrochim. Acta. – 1953. – P.4.
284. Merkal R.S. Serologic and allergenic effects of 3 Mycobacterium Paratuberculosis antigens / R.S. Merkal, A.B. Larsen, L.F. Velicer. // Amer. J. Vet. Res. – 1965. –Vol.26. – P.1267-1270.

285. Merkal R.S. Paratuberculosis: Advances in cultural serologic and vaccination methods / R.S. Merkal. // Amer. J. Vet. Med. Ass. – 1984. –Vol.184. – P.939-943.
286. Michaelson M. et all. // Pediatrics. – 1965. – Vol.35. – P.925.
287. Miller J.F. Cell to cell interaction in the immune response. I. Haemolysin-forming cells in neonatally thymectomized mice reconstituted with thymus or thoracic duct lymphocytes / J.F. Miller, G.F. Mitchell. // J. Exp. Med. – 1968. –Vol.128. – P.801-820.
288. Miller J.F. Thymus and antigen reactive cells / J.F. Miller, G.F. Mitchell. // Transplant. Rev. – 1969. –Vol.1. – P.3-42.
289. Miller. J.F. Current concents of the immunological function of the thymus / J.F. Miller, D. Osoba. // Physiol. Rev. – 1967. –Vol.47. –P.437-459.
290. Mitchell J. Mechanisms of induction of immunological tolerance. I. Localisation of tolerance inducing antigen / J. Mitchell, C.J. Nossal. // Aust. J. Exp. Biol. Sci. – 1966. –Vol.44. – P.211-224.
291. Nadaoki T. Transient increase of IgG Fc receptor-bearing T-Miyawaki et al. // Scand. J. Immunol. –1978. –Vol.8. -№3. – P.195-200.
292. Naughton J.F. Systemic Mycobakterium avium Ihfection in Dog Diagnosed by Polymerase Chain Reaction Analisis of Buffy Coat. / J.F. Naughton et al. // J.Am. Amin. Hosp. Assoc. –2005. – Vol.41. – P. 128-132.
293. Paliwal O.P. Ultrastructural studies of Paratuberculosis (Johne's disease) in goats / O.P. Paliwal, C. Rehbinder. // Acta. Vet. Scand. – 1981. –Vol.22. – P.180-188.
294. Paliwal O.P. Evaluation of paratuberculosis in goats: pathomorphological studies / O.P. Paliwal, B.S. Rajia. // Indian. J. Vet. Path. – 1982. –Vol.6. – P.29-34.
295. Paliwal O.P. Fluorescent antibody technigne (FAT) in the diagnosis of M. Johnei infection in goats / O.P. Paliwal, B.S. Rajia, S. Krishna. // Indian. J. Vet. Path. – 1983. –Vol.7. – P.6-14.

296. Paliwal O.P. Paratuberculosis in goats: enzyme histochemical studies / O.P. Paliwal, B.S. Rajia. // Indian. J. Vet. Path. – 1984. –Vol.8. – P.1-6.
297. Paliwal O.P. The immune spectrum of M. Johnei infections in goats / O.P. Paliwal, R. Kumar. // Indian. J. Vet. Path. – 1985. –Vol.62. –P.743-747.
298. Pande P.A. Paratuberculosis (Johne disease) of cattle in Assam. Incident and epizootiology / P.G. Pande. // Indian. J. Vet.Sci. – 1940. –Vol. 10. – P.40-62.
299. Pande P.A. Evaluation of paratuberculosis goats: Pathomorphological studies / O.P. Pande et al. // Indian. J. Vet.Path. –1982. – Vol. – P.29-34.
300. Parker D. Demonstration of suppressor cell in delayed hypersensitivity by B-lymphocytes / D. Parker, S.I. Katz, J.L. Turk. // Int. Arch. Allergy and Appl. Immunol. – 1975. –Vol.49. – P.276-280.
301. Palsson O.P. Paratuberculosis in Iceland sheep and its control by vaccination paratuberculosis studies in goats / Palsson O.P. et al. //I. Am.Anim.Hops. Assoc. –2005. –Vol.41. – P.128-132.
- 302 Pilsen G.F., Boris M. // Clin. Chem. – 1957. – P.90.
303. Pollok J.M. Immune responses in bovine tuberculosis: Towards new strategies for the diagnosis and control of disease / J.M. Pollok, M.D, Welsh, J. McNair. // Vet. Immunol. And Immunopat. – 2005. –Vol.108. – P.37-43.
304. Prabhakar S. Use of the hupB Gene Encoding a Histone-Like Protein of Mycobacterium tuberculosis as a Target for Detection and Differentiation of M. tuberculosis and M. bovis / S. Prabhakar, A. Mishra, A. Singhal et al. // J.Clin. Microbiol. – 2004. – P.2724-2732.
305. Prasad A.K. Significance of allergia tests for diagnosis of Johne's disease in sheep and goats / A.K. Prasad, R.R. Shukla.// Indian. J. Veterin. Sci. Animals Hasbandry. -1968. – Vol.38. –№2. – P.188-196.
306. Prasad A.K. Investigations on active immunization against Johne's disease / A.K. Prasad, R.R. Shukla, G. Singh. // Indian. J. Animal Hlth. –1969. – Vol. 8. – P.147-150.
307. Rankin J.D. Experimental infection with M. Johnei / J.D. Rankin. // Vet. Rec. – 1969. –Vol.71. – P.1157-1160.

308. Ratiedge J. The biology of mycobacteria / J. Ratidge, J. Standal. // London. Acad. Press. – 1982. – №1.
309. Robinson E. Tuberculosis in sheep / E. Robinson. // J.S. Afric. Veterin. Med. Assoc. – 1955. – Vol.26. – №2. – P.38-40.
310. Robinson E. Tuberculosis in sheep and goats / E. Robinson. // Vet. Med. Assoc. – 1955. – №5. – P.26.
311. Roitt J.M. The cellular of immunological response. A synthesis of some current views / J.M. Roitt, M.F. Greaves, G. Torrigiant et al. // Lancet. – 1969. – Vol.2. – P.367-371.
312. Rollinson D. H.L. Paratuberculosis in a hot dry climate / D. H.L. Rollinson, N. Bashir. // Vet. Rec. – 1967, Vol.81. – 579 p.
313. Saxegaard F. Control of Paratuberculosis (Johne's disease) in goats by vaccination / F. Saxegaard, F.H. Fodstad. // Vet. Rec. – 1985. – Vol.116. – №16. – P.439-441.
314. Schaaf J. Die allergisch und serologisch Diagnose der Paratuberculosis / J. Schaaf, W. Beerwerth. // Mh. Tier. – 1960. – Vol.9. – S.103-114.
315. Schliesser T. Mykobakteriosen bei Tieren und ihre Beziehungen zum Menschen: Gegenwart und Zukunft / T.Schliesser // Prax. Pneum. – 1977. – №5. – P. 294-298.
316. Sigurdsson B. Paratuberculosis (Johne's disease) of sheep in Iceland immunological studies and observations on its mode of spread / B. Sigurdsson. // Brit. Johne's disease J. – 1954. – Vol.110. – P. 307-322.
317. Sigurdsson B. Killed vaccine against paratuberculosis (Johne's disease) of sheep / B. Sigurdsson. // Amer.J. Rec. – 1960. – Vol. 21. – P.54-67.
318. Skoric M. Tuberculous and tuberculoid lesions in free living small terrestrial mammals and the risk of infection to humans and animals: a review / M. Skoric, E.J. Shitaye, R. Halouzka et al. // Veterin. Med. – 2007. – Vol.52. – №4. – P. 144-161.

319. Tag el Din M. H. Tuberculosis in sheep in the Sudan / M.H. Tag el Din, I. Gamsan. // Trop. Anim. Health and Prod. – 1982. –Vol.14. -№1. –P.25.
320. Taylor F.N. Johne's disease – its diagnosis and the control / A. N. Taylor. // Vet.Rec. –1951. – Vol.63. – P. 776-780.
321. Thoen C.O. Mycobacterial infection in animals / C.O. Thoen, A.G.Karlson, E.M.Himts. // Rev. Infect. Dis. –1981. – №3. – P.360-372.
322. Thomas G.W. Paratuberculosis in a large goat herd / G.W. Thomas. // Vet. Rec. – 1983. –Vol.113. – P.464-466.
323. Thompson D.E. The Role of Mycobacteria in Crohn's Disease / D.E.Thompson // J. Med. Microbiol. – 1994. - № 41. – P. 74-94.
324. Thorel M.F. Phrancoeise tuberculose de la chevre. Mise au point et synthese / M.F. Thorel. // Les collogues de la LNRA – Institut national de la reherene agronomique. – 1984. –Vol.28. – P.551-556.
325. Thorel M.F. Numeral taxonomy of mycobactin-dependent mycobacteria, emended descripton of *M. avium* subsp. Nov., *M. avium* subsp. paratub. subsp. Nov., and *M. avium* subsp. silva tucum subsp. Nov / M.F. Thorel et al. // Int. J. Syst. Bacteriol. –1990. –Vol. 40. – P.254-260.
326. Tovarec J. // Practicky lek. – 1962. – Vol.42. – P.500.
327. Tragati F. An outbreak of tuberculosis in goats / F. Tragati, D. Bianca, M. Finarri. // Bivista di Zootechnia et Veterinaria. – 1977. – № 2. – P.170-176.
328. Tsuyuguchi I. Increase in T-cells bearing IgGFc receptors in peripheral blood of patients with purified protein derivative / I. Tsuyuguchi, H. Shiratsuchi, O. Taraoka et al. // Amer. Rev. Respirat. Disease. – 1980. –Vol.121. – № 6. – P.951-957.
329. Twort T.W. Metod for isolating and cultivation the Mycobacterium enteritis throcae Pseudotuberculosis bovis, Joiht and some experiments on the preparation of diagnostic, vaccine of pseudotuberculose enteritis on the bovines / T.W. Twort, Y.Z.Ingram. // Vet.J. –1912. – Vol.68. – P. 353-365.

330. Vary C.P.H. Use of highly specific DNA products and the polymerase chain reaction to detect Mycobacterium paratuberculosis in Johne's disease / C.P.H. Vary et al. // J. Clin. Microbiol. – 1990. –Vol.28. – P.269-275.
331. Weber W. Das Elektrophoregramm der Bentserums tuberculöser Binder / W. Weber.// Schweiz. Arc. Tier. – 1955. –H.97. -№5. –S.222-229.
332. Werner E. Tuberculosuinbruch in eine Rinourhaltung durch eine Tierflagerin mit Nierentuberculose / E. Werner. // Z. Erisz. Atm.-Org. – 1982. – Vol.159. -№1. P.112-115.
333. Whitty B. Generalised tuberculosis in a sheep / B. Whitty, D. Dempsey, J. Corr. // Irish. Veter. J. – 1974. –Vol.28. -№12. – P.241-242.
334. Wilesmich J.W. Johne's disease: A retrospective study of vaccinated herds in Great Britain / J.W. Wilesmich. // Brit. Vet. J. –1982. –Vol.138. – P.321-331.
335. Zima T. // Laboratorni diagnostika. – Galen. – 2002. – 674 p.