



Проба с диаскинтестом при диагностике туберкулеза животных

А. Х. НАЙМАНОВ, А. М. ГУЛЮКИН, Н. Г. ТОЛСТЕНКО, Е. П. ВАНГЕЛИ, В. М. КАЛМЫКОВ

ФГБНУ «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии им. К. И. Скрябина и Я. Р. Коваленко Российской академии наук», Москва, РФ

РЕЗЮМЕ

Цель исследования: сравнение диагностической ценности внутрикожных проб с туберкулином и диаскинтестом для выявления туберкулеза крупного рогатого скота.

Материалы и методы. В работе использовали ППД туберкулин для млекопитающих, изготовленный из *M. bovis* штамма AN-5, производства фирмы «БИОК» и препарат диаскинтест (аллерген туберкулезный рекомбинантный, раствор для внутрикожного введения) производства ЗАО ФФ «Лекко», серия 030307. Исследования проводили на лабораторных животных (морских свинках, кроликах, курах) и сельскохозяйственных животных (свиньях и крупном рогатом скоте).

Результаты. На лабораторных животных установлено, что проба с диаскинтестом не вызывает нежелательных реакций. При исследовании сенсibilизированных *M. avium* свиноматок установлено, что внутрикожное введение ППД туберкулина для млекопитающих выявляет до 8,5% положительных реакций, при этом проба с диаскинтестом была у всех отрицательной. Среди крупного рогатого скота с сенсibilизацией к нетуберкулезным микобактериям внутрикожное введение туберкулина для млекопитающих выявляло до 4,6% положительных реакций, а проба с диаскинтестом – до 0,6%. В неблагополучном по туберкулезу хозяйстве, где ранее выявлялись животные, инфицированные *M. bovis*, при исследовании 177 коров проба с туберкулином была положительной у 102 (57,6%), а проба с диаскинтестом – у 88 (49,7%). Проба с диаскинтестом может использоваться при дифференциальной диагностике туберкулеза и сенсibilизации нетуберкулезными микобактериями у свиней и крупного рогатого скота.

Ключевые слова: туберкулез, ППД туберкулин для млекопитающих, проба с диаскинтестом, свиньи, коровы, *M. bovis*, *M. avium*

Для цитирования: Найманов А. Х., Гулюкин А. М., Толстенко Н. Г., Вангели Е. П., Калмыков В. М. Проба с диаскинтестом при диагностике туберкулеза животных // Туберкулёз и болезни лёгких. – 2020. – Т. 98, № 12. – С. 53-56. <http://doi.org/10.21292/2075-1230-2020-98-12-53-56>

Diaskintest for the diagnosis of bovine tuberculosis

A. KH. NAYMANOV, A. M. GULYUKIN, N. G. TOLSTENKO, E. P. VANGELI, V. M. KALMYKOV

Federal Scientific Center, All-Russian Research Institute of Experimental Veterinary Medicine Named after K. I. Skryabin and Ya. R. Kovalenko, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

ABSTRACT

The objective of the study: to compare the diagnostic value of intracutaneous tests with tuberculin and diaskintest for detection of tuberculosis in cattle.

Subjects and methods. In this study, PPD tuberculin for mammals was used, it was made from *M. bovis* strain AN-5, manufactured by BIOC, and Diaskintest (recombinant tuberculous allergen, solution for intracutaneous administration) manufactured by ZAO FF Lecco, series 030307.

Laboratory animals (guinea pigs, rabbits, chickens) and farm animals (pigs and cattle) were used in the study.

Results. It has been established on laboratory animals that diaskintest does not cause any adverse events. When assessing sows sensitized with *M. avium*, it was found that the intracutaneous administration of PPD tuberculin to mammals resulted in up to 8.5% of positive reactions, while diaskintest was negative in all of them. Among cattle sensitized to non-tuberculous mycobacteria, intracutaneous administration of tuberculin for mammals revealed up to 4.6% of positive reactions, and diaskintest – up to 0.6%. In the farm with the unfavorable TB situation where animals infected with *M. bovis* were previously detected, when examining 177 cows, tuberculin test was positive in 102 (57.6%) of them, and diaskintest – in 88 (49.7%). Diaskintest can be used for differential diagnosis of tuberculosis and sensitization by non-tuberculous mycobacteria in pigs and cattle.

Key words: tuberculosis, PPD tuberculin for mammals, diaskintest, pigs, cows, *M. bovis*, *M. avium*

For citations: Naymanov A.Kh., Gulyukin A.M., Tolstenko N.G., Vangeli E.P., Kalmykov V.M. Diaskintest for the diagnosis of bovine tuberculosis. *Tuberculosis and Lung Diseases*, 2020, Vol. 98, no. 12, P. 53-56. (In Russ.) <http://doi.org/10.21292/2075-1230-2020-98-12-53-56>

Для корреспонденции:
Найманов Али Хусинович
E-mail: labmyc@mail.ru

Correspondence:
Ali Kh. Naymanov
Email: labmyc@mail.ru

Туберкулез остается одной из распространенных инфекционных болезней человека и животных. Основа профилактических и оздоровительных мероприятий при туберкулезе животных – это выявление болезни, а основным методом прижизненной диагностики является внутрикожная проба с ППД туберкулином для млекопитающих [7]. Недостаток этой пробы заключается в том, что аллергическая реакция на ее применение указывает на сенсibilизацию организма различными видами микобактерий, а не только микобактериями туберкулеза.

Поэтому внутрикожная туберкулиновая проба выявляет, наряду с больными туберкулезом, и здоровых животных, инфицированных нетуберкулезными микобактериями (НТМБ) [3, 7].

В 2007-2008 гг. в России был создан и внедрен в медицинскую практику аллерген туберкулезный рекомбинантный (АТР), который в виде препарата диаскинтест широко используется для проведения кожных тестов на туберкулез у людей [1, 2, 4–6]. При этом В. И. Киселев считает, что проба Манту сохраняет свое значение при оценке поствакциналь-

ного иммунитета, так как положительная реакция может означать наличие надежной иммунной защиты конкретного человека [1].

У здоровых животных и животных, вакцинированных БЦЖ, проба с диаскинтестом не вызывает положительных реакций.

Возможность использования пробы с диаскинтестом при диагностике туберкулеза у крупного рогатого скота и других видов животных ранее не изучалась.

Следует отметить, что у каждого вида животных имеются свои особенности проявления болезни и ее диагностики. Так, обнаружение свойственных для туберкулеза патолого-анатомических изменений у свиней не является основанием для диагноза туберкулеза, так как микобактериоз, вызванный *M. avium*, также вызывает подобные изменения в лимфатических узлах. Поэтому, в соответствии с утвержденными нормативными документами, туберкулез свиней считается установленным только при лабораторном подтверждении того, что эти изменения вызваны *M. bovis* [8, 9].

Цель исследования: сравнение диагностической ценности внутрикожных проб с туберкулином и диаскинтестом для выявления туберкулеза крупного рогатого скота.

Материалы и методы

В работе использовали: ППД туберкулин для млекопитающих производства ФКП Курская биофабрика – фирма «БИОК», изготовленный из *M. bovis* штамма AN-5, АТР в виде препарата диаскинтест (раствор для внутрикожного введения) производства ЗАО ФФ «Лекко», серия 030307.

Исследования проводили с участием сотрудников лаборатории микобактериозов ФГБНУ «ФНЦ ВИЭВ РАН» и практических ветеринарных врачей хозяйств, районов и областей в различных регионах России.

На начальном этапе изучали специфичность и реактогенность АТР на лабораторных животных (68 морских свинок, 3 кролика и 3 курах).

Сравнительное изучение активности и специфичности внутрикожной пробы с туберкулином и пробы с АТР провели:

- в одном из благополучных по туберкулезу свиноводческом хозяйстве Воронежской области, в котором ранее при плановых обследованиях свиноматок выявлены положительно реагирующие на туберкулин животные. При диагностическом убое этих животных в лимфатических узлах головы и легких обнаружили изменения, позволяющие предположить наличие туберкулеза. При лабораторном исследовании их патологического материала у всех были выделены микобактерии, идентифицированные как *M. avium*;

- в трех благополучных по туберкулезу хозяйствах Смоленской и Пензенской областей, в кото-

рых ранее при плановых обследованиях поголовья крупного рогатого скота выявлены положительно реагирующие на туберкулин животные. У всех была установлена сенсibilизация НТМБ 4-й группы по классификации Раньена;

- в одном длительно неблагополучном по туберкулезу хозяйстве Московской области.

Результаты исследований

Проба с АТР у здоровых лабораторных животных (68 морских свинок, 3 кролика и 3 курицы) с оценкой результатов через 24 и 48 ч после введения. Положительно реагирующих животных не было. На месте введения 0,2 мл аллергена в дозе 2 и 10 мкг/мл (0,4 мкг/0,2 мл и 2 мкг/0,2 мл) у исследованных лабораторных животных не обнаружили местных реакций, побочных реакций также не было.

Аллерген не вызывает побочных реакций у здоровых лабораторных животных.

Проба с туберкулином и АТР у свиней. Исследования провели в одном из благополучных по туберкулезу хозяйстве Воронежской области, где была установлена сенсibilизация свиней *M. avium*.

В соответствии с «Наставлениями по диагностике туберкулеза животных» от 2002 г. свиноматок обследовали методом внутрикожной пробы в область наружной поверхности уха. В основание правого уха вводили ППД туберкулин для млекопитающих в дозе 10 000 ТЕ (2 000 МЕ) в 0,2 мл, в основание левого уха – диаскинтест 0,2 мл (в дозе 10 мкг/мл). Всего обследовано 35 свиноматок. При учете результатов положительно реагирующих на туберкулин – 3 (8,5%) животных, на диаскинтест – 0.

Проба с диаскинтестом отрицательна у свиней, сенсibilизированных *M. avium*.

Проба с туберкулином и АТР у крупного рогатого скота. Исследования проводили в благополучных хозяйствах, где установлена сенсibilизация животных НТМБ, методом внутрикожного введения аллергенов в область средней трети шеи каждому животному: справа – ППД туберкулин для млекопитающих в дозе 10 000 ТЕ (2 000 МЕ) в 0,2 мл растворителя, слева – диаскинтест в дозе 20 мкг/мл в объеме 0,2 мл (4 мкг в 0,2 мл). Аллергены вводили безыгольным инъектором. Учет реакции проводили через 72 ч после введения, положительно реагирующими считали животных с увеличением толщины кожной складки на 3 мм и больше.

В одном хозяйстве Смоленской области обследовано 313 голов крупного рогатого скота. При оценке результатов положительно реагирующих на туберкулин – 8 (2,5%), на диаскинтест – 2 (0,6%) животных.

В другом хозяйстве Смоленской области обследовали 346 голов крупного рогатого скота. Положительно реагирующих на туберкулин – 16 (4,6%) животных, на диаскинтест – 0.

В хозяйстве Пензенской области обследовано 812 голов крупного рогатого скота. Выявлено 47 (5,8%) положительно реагирующих на туберкулин животных. Всем этим 47 животным проведена проба с диаскинтестом, которая оказалась положительной лишь у 1 (2,1%) коровы, наличие туберкулеза у которой не подтверждено.

Исследования в неблагополучном по туберкулезу хозяйстве. Исследования проводили в одном из неблагополучных по туберкулезу хозяйстве Московской области. В этом хозяйстве при плановом обследовании поголовья крупного рогатого скота выявлено 17 положительно реагирующих на туберкулин животных. При диагностическом убое обнаружены характерные для туберкулеза изменения.

Через месяц 198 голов крупного рогатого скота обследовано с помощью пробы с туберкулином, выявлено 25 (12,6%) положительно реагирующих животных и отправлено на убой. Совместно с сотрудниками лаборатории микобактериозов ФГБНУ «ФНЦ ВИЭВ РАН» при патолого-анатомическом осмотре их обнаружены характерные для туберкулеза изменения у всех и лабораторно подтверждено наличие *M. bovis*.

В связи с относительно небольшой долей положительно реагирующих на туберкулин животных было принято решение о повторном комиссионном обследовании поголовья крупного рогатого скота хозяйства с использованием внутрикожной пробы с туберкулином и пробы с диаскинтестом. Все имевшееся к тому времени в хозяйстве поголовье – 202 головы (177 коров и 25 телят 3-4-месячного возраста) – обследовано при участии сотрудников лаборатории микобактериозов ФГБНУ «ФНЦ ВИЭВ РАН».

При учете результатов исследований: на пробу с туберкулином положительно реагировали 102/177 (57,6%) коровы и 9/25 (36,0%) телят, на пробу с диаскинтестом – 88/177 (49,7%) коров и 3/25 (12,0%) теленка.

При этом из 177 коров положительно реагировали: на обе пробы (с туберкулином и диаскинтестом) 64 (36,1%) животных; только на туберкулин – 36 (20,3%); только на диаскинтест – 25 (14,1%)

животных. То есть положительно реагировали хотя бы на одну пробу 125/177 (70,6%) животных.

Интенсивность проявления реакций, т. е. утолщение кожной складки в месте введения аллергенов, составила: при туберкулиновой пробе – от 3 до 14 мм (среднее 4,9 мм), при пробе с диаскинтестом – от 3 до 16 мм (среднее 5,6 мм).

В соответствии с санитарными и ветеринарными правилами от 1996 г., поголовье крупного рогатого скота вместе с телятами подлежало убою. В связи с массовым поражением животных туберкулезом и отсутствием в области санитарных боен была исключена возможность вскрытия убитых животных.

Заключение

Введение препарата диаскинтест не обладает реактогенными свойствами и не вызывает побочных реакций у лабораторных животных.

В благополучном по туберкулезу хозяйстве, где установлена сенсibilизация свиней *M. avium*, выявлено 8,5% положительно реагирующих животных на внутрикожную пробу с ППД для млекопитающих и не было животных, положительно реагирующих на пробу с диаскинтестом.

В благополучных хозяйствах, где установлена сенсibilизация крупного рогатого скота НТМБ 4-й группы по классификации Раньена, внутрикожная проба с ППД для млекопитающих выявила 4,6% положительно реагирующих животных, а проба с диаскинтестом – 0,6%.

В неблагополучном по туберкулезу стаде крупного рогатого скота, где установлено заражение животных *M. bovis*, внутрикожная проба с ППД для млекопитающих выявила 57,6% положительно реагирующих животных, а проба с диаскинтестом – 49,7%.

С учетом полученных результатов проба с диаскинтестом может использоваться при диагностике туберкулеза у крупного рогатого скота наравне с пробой ППД туберкулин для млекопитающих. Проба с диаскинтестом может использоваться при дифференциальной диагностике туберкулеза и сенсibilизации НТМБ.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии у них конфликта интересов.

Conflict of Interests. The authors state that they have no conflict of interests.

ЛИТЕРАТУРА

1. Киселев В. И. Победить – значит понять // В мире науки. – 2018. – № 3. – С. 50-55.
2. Киселев В. И., Пальцев М. А., Барановский П. М., Перельман М. И., Бочарова И. В., Леви Д. Т., Демин А. В., Шустер А. М., Литвинов В. И., Пушпшев С. А. Новый кожный тест для диагностики туберкулезной инфекции на основе рекомбинантных белков *Mycobacterium tuberculosis* // Молекулярная диагностика. Сборник трудов 6-й Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. – Т. III. – М., 2007. – С. 72-73.

REFERENCES

1. Kiselev V.I. To win is to understand. *V Mire Nauki*, 2018, no. 3, pp. 50-55. (In Russ.)
2. Kiselev V.I., Paltsev M.A., Baranovskiy P.M., Perelman M.I., Bocharova I.V., Levi D.T., Demin A.V., Shuster A.M., Litvinov V.I., Pupyshov S.A. New skin test for the diagnosis of tuberculosis infection based on recombinant *Mycobacterium tuberculosis* proteins. *Molekulyarnaya diagnostika. Sbornik trudov 6-y Vserossiyskoy nauchno-prakticheskoy konferentsii s mezhdunarodnym uchastiyem*. [Molecular diagnostics. Abst. Book of the 6th All-Russian Scientific and Practical Conference with International Participation]. vol. III, Moscow, 2007, pp. 72-73. (In Russ.)

3. Козлов В. Е., Безгин В. М., Шумилов К. В., Букова Н. К., Найманов А. Х., Мясоедов Ю. М., Ничвеева Л. Д. Оценка активности национального стандарта туберкулина (ППД) для млекопитающих относительно 1-го международного стандарта туберкулина (PPD) bovine // Материалы международной научно-практической конференции «Современные проблемы диагностики и профилактики туберкулеза животных». – Ветеринарная патология. – 2004. – № 1-2 (9). – С. 89-92.
4. Кудлай Д. А. Биомаркеры и иммунологические тесты. Экспериментально-клинические параллели латентной туберкулезной инфекции // Туб. и болезни легких. – 2020. – Т. 98, № 8. – С. 63-74. <http://doi.org/10.21292/2075-1230-2020-98-8-63-74>.
5. Кудлай Д. А., Старшинова А. А., Довгалюк И. Ф. Аллерген туберкулезный рекомбинантный: 10-летний опыт применения теста у детей и подростков в Российской Федерации (данные метаанализа) // Педиатрия. Журнал им. Г. Н. Сперанского. – 2020. – Т. 99, № 3. – С. 121-129.
6. Леви Д. Т., Александрова Н. В., Лебединская Е. В. Туберкулинодиагностика: история и перспективы // Иммунология. – 2018. – № 39 (5-6). – С. 312-325.
7. Найманов А. Х., Гулюкин М. И. Микобактериальные инфекции крупного рогатого скота (туберкулез, паратуберкулез). – М.: Зооветкнига, 2014. – 235 с.
8. Наставление по диагностике туберкулеза животных (утв. Департаментом ветеринарии Министерства сельского хозяйства Российской Федерации). – М., 2002.
9. Санитарные и Ветеринарные правила «Профилактика и борьба с заразными болезнями, общими для человека и животных. Туберкулез» (утв. Госкомэпиднадзором России 16 мая 1996 г. и Департаментом ветеринарии и Минсельхозпрода России 18 июня 1996 г.).
3. Kozlov V.E., Bezgin V.M., Shumilov K.V., Bukova N.K., Najmanov A.Kh., Myasoedov Yu.M., Nichveeva L.D. Assessment of the activity of the tuberculin national standard (PPD) for mammals relative to the 1st international standard of tuberculin bovine (PPD). Materials of the international scientific-practical conference on Modern Problems of Diagnosis and Prevention of Tuberculosis in Animals. *Veterinarnaya Patologiya*, 2004, no. 1-2 (9), pp. 89-92. (In Russ.)
4. Kudlay D.A. Biomarkers and immunological tests. Experimental and clinical parallels of latent tuberculosis infection *Tuberculosis and Lung Diseases*, 2020, vol. 98, no. 8, pp. 63-74. (In Russ.) <http://doi.org/10.21292/2075-1230-2020-98-8-63-74>.
5. Kudlay D.A., Starshinova A.A., Dovgalyuk I.F. Tuberculous recombinant allergen: 10-year experience of using this test in children and adolescents in the Russian Federation (data of meta analysis). *Pediatriya. Journal im. G.N. Speranskogo*, 2020, vol. 99, no. 3, pp. 121-129. (In Russ.)
6. Levi D.T., Aleksandrova N.V., Lebedinskaya E.V. Tuberculin diagnosis: history and perspectives, *Immunologiya*, 2018, no. 39 (5-6), pp. 312-325. (In Russ.)
7. Naymanov A.Kh., Gulyukin M.I. *Mikobakterialnyye infektsii krupnogo rogatogo skota (tuberkulez, paratuberkulez)*. [Mycobacterial infections of cattle (tuberculosis, paratuberculosis)]. Moscow, Zoovetkniga Publ., 2014, 235 p.
8. *Nastavleniye po diagnostike tuberkuleza zhivotnykh*. [Manual on the diagnosis of tuberculosis in animals]. Approved by the Veterinary Department of the Russian Ministry of Agriculture. Moscow, 2002.
9. Sanitary and Veterinary Rules On Prevention and Control of Infectious Diseases Common to Humans and Animals. Tuberculosis. Approved by the Russian Goskompindnadzor on May 16, 1996 and Veterinary Medicine Department of and the Russian Ministry of Agriculture on June 18, 1996.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ:

*ФГБНУ «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии им. К. И. Скрябина и Я. Р. Коваленко Российской академии наук»
109428, Москва, Рязанский проспект, д. 24, к. 1.
Тел.: +7 (495) 970-03-68, +7 (495) 970-03-69.*

Найманов Али Хусинович

*доктор ветеринарных наук, профессор, заведующий лабораторией микобактериозов, заслуженный ветеринарный врач РФ.
E-mail: labmyc@mail.ru*

Гулюкин Алексей Михайлович

кандидат биологических наук, директор.

Толстенко Нина Гавриловна

кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник лаборатории микобактериозов.

Вангели Елена Петровна

кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории микобактериозов.

Калмыков Виктор Михайлович

кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник лаборатории микобактериозов.

INFORMATION ABOUT AUTHORS:

*Federal Scientific Center, All-Russian Research Institute of Experimental Veterinary Medicine Named after K.I. Skryabin and Ya.R. Kovalenko, Russian Academy of Sciences,
Build. 1, 24, Ryazanskiy Ave., Moscow, 109428.
Phone: +7 (495) 970-03-68, +7 (495) 970-03-69.*

Ali Kh. Naymanov

*Doctor of Veterinary Sciences, Professor,
Head of Mycobacteriosis Laboratory, Honoured Doctor of Veterinary Medicine of Russia
Email: labmyc@mail.ru*

Aleksey M. Gulyukin

Candidate of Biological Sciences, General Director.

Nina G. Tolstenko

*Candidate of Veterinary Sciences,
Leading Researcher of Mycobacteriosis Laboratory.*

Elena P. Vangeli

*Candidate of Biological Sciences,
Leading Researcher of Mycobacteriosis Laboratory.*

Viktor M. Kalmykov

Candidate of Veterinary Sciences, Senior Researcher of Mycobacteriosis Laboratory.

Поступила 12.02.2020

Submitted as of 12.02.2020