ВОЛИНСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ЛЕСІ УКРАЇНКИ
МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ

Кваліфікаційна наукова праця
на правах рукопису

ПАНІВСЬКА ОЛЬГА ВІКТОРІВНА

УДК 579.61(043.5)

ДИСЕРТАЦІЯ

ВИДІЛЕННЯ ТА ІДЕНТИФІКАЦІЯ НЕТУБЕРКУЛЬОЗНИХ МІКОБАКТЕРІЙ ІЗ ПОТЕНЦІЙНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФІКУВАННЯ ЛЮДЕЙ

Спеціальність 091 Біологія
Галузь знань 09 Біологія
Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело.
_____ О. В. Панівська

Науковий керівник: Бойко Петро Костянтинович,
доктор ветеринарних наук, професор

Луцьк – 2025

АНОТАЦІЯ

Панівська О. В. Виділення та ідентифікація нетуберкульозних мікобактерій із потенційних джерел інфікування людей. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 – Біологія. – Волинський національний університет імені Лесі Українки МОН України, Луцьк, 2025.

Погіршення епідемічної ситуації щодо туберкульозу вимагає подальшого вивчення причин зростання захворюваності. Однією із них є зростання ролі атипових мікобактерій (АТМБ) у формуванні патології респіраторної системи в людини. АТМБ, володіючи широким спектром факторів патогенності, є потенційно патогенними для людини й тварин [167]. Мікобактеріози людини мають туберкульозоподібну клінічну картину, важко піддаються діагностиці, часто формують мікст-інфекції з туберкульозом [145].

Мікобактеріози тварин у багатьох країнах світу стали актуальною проблемою ветеринарної медицини [14, 195]. Найбільше епізоотологічне та медико-біологічне значення мають мікобактеріози великої рогатої худоби [166, 208]. Неспецифічні (парааллергічні) реакції на ППД-туберкулін (Purified Protein Derivat) у корів благополучних щодо захворювання на туберкульоз молочнотоварних ферм – явище досить поширене в багатьох країнах світу, у тому числі і в Україні [156, 196]. Комплексне із використанням симультанної алергічної проби вивчення особливостей інфекційного процесу у всіх випадках виявлення реагуючих на туберкулін тварин у кожному стаді великої рогатої худоби, незалежно від його епізоотологічного статусу, дозволить безпомилково і вчасно ідентифікувати мікобактеріози, спричинені нетуберкульозними мікобактеріями (НТМБ), від туберкульозу. Вивчення видового складу та екології НТМБ у популяціях продуктивних тварин суттєво розширить наші знання про мікобактеріози тварин, стане підґрунтям

для розробки науково-обґрунтованої системи запобігання біоризиків інфікування населення через продукти харчування тваринного походження.

Мета дисертаційної роботи – вивчення напруженості епідемічної ситуації щодо мікобактеріозів людини та епізоотичної ситуації щодо мікобактеріозів тварин у країнах світу та в Україні за період 2000–2023 рр., а також особливостей інфекційного та епізоотичного процесів за мікобактеріозу великої рогатої худоби в одному із господарств Волинської області. Для досягнення поставленої мети необхідно вирішити наступні завдання:

1. Проаналізувати напруженість епідемічної ситуації щодо мікобактеріозів людей в Україні та країнах світу.

2. З’ясувати напруженість епізоотичної ситуації щодо мікобактеріозів тварин в Україні та країнах світу.

3. Виділити та ідентифікувати нетуберкульозні мікобактерії від великої рогатої худоби, що були причиною мікобактеріозу

4. Проаналізувати особливості інфекційного процесу мікобактеріозів великої рогатої худоби, спричиненого НТМБ, в одному із господарств Волинської області.

5. Проаналізувати особливості епізоотичного процесу мікобактеріозів великої рогатої худоби, спричиненого НТМБ, в одному із господарств Волинської області.

Сапрофітні та умовно-патогенні види мікобактерій, численність яких на сьогодні сягає понад дві сотні і відомі як атипові мікобактерії (АТМБ) або нетуберкульозні мікобактерії (НТМБ), відіграють значну роль в інфекційній патології людини і тварин. Тому вивченню ролі останніх в етіопатогенезі мікобактеріозів приділяється значна увага [36, 67, 132].

Вивчення просторово-часової динаміки напруженості епідемічної ситуації за мікобактеріозів людини в країнах світу та в Україні за період 2000–2023 рр. показало, що мікобактеріальні інфекції набули значного поширення. У більшості країн, у яких проводили моніторинг, спостерігали за

цей період зростання захворюваності населення на мікобактеріози. Так, у Південній Кореї захворюваність зрослау 8 разів; у США вона щорічно зростала на 8%; у Квінсленді (Австралія) зросла у 2,3 рази – з 11,1 pcm у 2001 році до 25,88 pcm у 2016 році.

До епідеміологічних особливостей мікобактеріозів можна віднести переважне інфікування пацієнтів швидкоростучими мікобактеріями, зростання ризику інфікування мікобактеріями людей із збільшенням віку, поширенням мікобактеріальних інфекцій легень серед мігрантів порівняно із місцевим населенням. Від хворих на мікобактеріози найчастіше виділяли комплекс *M. avium* (87,3%), комплекс *M. abscessus* (5,5%) і *M. kansasii* (3,9%).

В Україні мікобактеріози в людей перебігають у легеневій формі, нерідко в змішаній із туберкульозом. Етіотропним фактором у 80 % випадків були *M. avium complex*.

Епізоотологічним аналізом напруженості епізоотичної ситуації щодо мікобактеріозів тварин в Україні та низці різних країн світу за період 2000–2023 рр. встановлено, що мікобактеріальні інфекції у тваринному світі мають значне поширення і проявляються постійно. Мікобактеріози поширені в популяціях диких як теплокровних, так і холоднокровних тварин, а також у популяціях птиці і риб. При цьому клінічний прояв цієї інфекції спостерігали в усіх країнах, де проводилися комплексні (клінічні, патологоанатомічні, бактеріологічні, гістоморфологічні та молекулярно-генетичні) дослідження біоматеріалів. Найчастіше ідентифікували такі види мікобактерій як *M. ulcerans, M. gordonae, M. avium, M. fortuitum* – у тварин; *M. avium subsp. avium, M. avium subsp. hominissuis, M. genavense* – у птиці; *M. marinum, M. fortuitum і M. chelonae* – у риб та багатьох видів мікобактерій, які не вдалося ідентифікувати.

АТМБ виділяють як із абіотичних об’єктів довкілля, так і з організму корів. При цьому їх ідентифікують у молоці як клінічно здорових корів, так і в молоці корів, які позитивно реагують на алерген атипових мікобактерій і на туберкулін. Це свідчить про активне розмноження АТМБ в організмі тварин

з усіма можливими проявами цієї форми взаємодії, що характерна для латентного перебігу інфекційного процесу.

Застосування комплексного підходу до вивчення природи парааллергічних реакцій на туберкулін у корів в одному благополучному щодо захворювання на туберкульоз господарстві Волині дало можливість встановити, що причиною цих реакцій було інфікування тварин скотохромогенними видами мікобактерій *M. fortuitum, M. intracellularae* і *M. scrofulaceum* та сапрофітними мікроорганізми роду *Nocardia*.

Вивчення інфекційного процесу мікобактеріозу корів, спричиненого АТМБ, із використанням методу епізоотологічного аналізу, алергічного дослідження з використанням симультанної проби, патологоанатомічного, гістоморфологічного і бактеріологічного досліджень біоматеріалу від реагуючих тварин підтвердило функціонування епізоотичного процесу мікобактеріозу в стаді великої рогатої худоби.

Використання класичних методів бактеріологічного дослідження з метою виділення та ідентифікації НТМБ у біотичних та абіотичних об’єктах молочнотоварної ферми вказує на їх значне поширення та постійну циркуляцію, що може мати негативні наслідки як для здоров’я продуктивних тварин, так і становити потенційні біоризики для здоров’я людей через вживання продуктів.

Ключові слова: мікобактеріози, атипові мікобактерії, туберкульоз, туберкулін, епідеміологія, епізоотичний процес, лабораторна діагностика, захворюваність, інфекційний процес, алергічні реакції, імунофлуоресцентна діагностика інфекційних хвороб, *Mycobacterium bovis, Mycobacterium fortuitum.*

SUMMARY

Panivska O. V. Isolation and identification of nontuberculous mycobacteria from potential sources of human infection. – Qualifying scientific work on manuscript rights.

Dissertation for the Doctor of Philosophy degree in specialty 091 – Biology. - Lesya Ukrainka Volyn National University of the Ministry of Education and Culture of Ukraine, Lutsk, 2025.

The worsening of the epidemic situation regarding tuberculosis requires further study of the reasons for the increase in morbidity. One of them is the growing role of atypical mycobacteria (ATMB) in the formation of the pathology of the respiratory system in humans. ATMB, possessing a wide range of pathogenicity factors, are potentially pathogenic for humans and animals [167]. Human mycobacteriosis has a tuberculosis-like clinical picture, is challenging to diagnose, and often forms mixed infections with tuberculosis [145].

Animal mycobacteriosis has become an urgent problem of veterinary medicine in many world countries [112, 195]. Mycobacteriosis of cattle has the greatest epizootological and medico-biological significance [39, 41]. Non-specific (paraallergic) reactions to PPD-tuberculin (Purified Protein Derivative) in tuberculosis-free cows of dairy farms are a fairly common phenomenon in many countries of the world, including Ukraine [156, 196]. Studying the peculiarities of the infectious process in all cases of detection of animals reacting to tuberculin in each herd of cattle, regardless of its epizootological status, implementation of complex epizootological monitoring of each case of detection of para allergic reactions using a simultaneous allergic test, study of the species composition and ecology of non-tuberculous mycobacteria (NTMB) in populations of productive animals, will significantly expand our knowledge about mycobacteriosis of animals, will become the basis for the development of a scientifically based system for the prevention of risks of infection of the population through food products of animal origin.

The dissertation work aimed to study the intensity of the epidemic situation regarding human mycobacteriosis and the epizootic situation regarding animal mycobacteriosis in the countries of the world and Ukraine for the period 2000–2023, as well as the features of the infectious and epizootic processes of cattle

mycobacteriosis in one of the farms of the Volyn region. To achieve the goal, the following tasks must be solved:

1. To study the intensity of the epidemic situation regarding human mycobacteriosis in Ukraine and the countries of the world.

2. To study the intensity of the epizootic situation regarding animal mycobacteriosis in Ukraine and the world's countries.

3. To study the peculiarities of the infectious process for mycobacteriosis of cattle caused by NTMB in one of the farms of the Volyn region.

4. To study the peculiarities of the epizootic process for mycobacteriosis of cattle caused by NTMB in one of the farms of the Volyn region.

5. To isolate and identify non-tuberculous mycobacteria from cattle that were the cause of mycobacteriosis.

Saprophytic and opportunistic species of mycobacteria, the number of which today reaches more than two hundred, and as they are known as atypical mycobacteria (ATMB) or nontuberculous mycobacteria (NTMB), play a significant role in the infectious pathology of humans and animals. Therefore, considerable attention is paid to the study of the role of NTMB in the etiopathogenesis of mycobacteria [36, 67, 132].

The study of the spatio-temporal dynamics of the intensity of the epidemic situation for human mycobacteriosis in the countries of the world and Ukraine for the period 2000–2023 showed that mycobacterial infections have become significantly widespread. In most countries where monitoring was carried out, the incidence of mycobacteriosis in the population increased during this period. Yes, in South Korea 8 times; in the USA by 8% annually; in Queensland (Australia) by 2.3 times – from 11.1 pcm in 2001 to 25.88 pcm in 2016.

Epidemiological features of mycobacteriosis include the predominant infection of patients with fast-growing mycobacteria, the increasing risk of mycobacterial infection in people with increasing age, and the spread of mycobacterial lung infections among migrants compared to the local population.

M. avium complex (87.3%), *M. abscessus complex* (5.5%), and *M. kansasii* (3.9%) were most often isolated from patients with mycobacteriosis.

In Ukraine, mycobacteriosis in people occurs in the pulmonary form, often mixed with tuberculosis. The etiotropic factor in 80% of cases was *M. avium complex.*

An epizootological analysis of the intensity of the epizootic situation regarding mycobacteriosis of animals in Ukraine and several different countries of the world for the period 2000–2023 established that mycobacterial infections are widespread and occur constantly. Mycobacteriosis is widespread in wild populations of warm-blooded and cold-blooded animals, birds, and fish. At the same time, the clinical manifestation of this infection was observed in all countries where complex (clinical, patho-anatomical, bacteriological, histomorphological, and molecular genetic) studies of biomaterials were conducted. Such types of mycobacteria as *M. ulcerans, M. gordonae, M. avium, M. fortuitum* were most often identified - in animals; *M. avium subsp. avium, M. avium subsp. hominissuis, M. genavense* - in poultry; *M. marinum, M. fortuitum*, and *M. chelonae* in fish and many species of unidentified mycobacteria.

ATMB is isolated both from abiotic objects of the environment and from the body of cows. At the same time, they are identified in the milk of both clinically healthy cows and in the milk of cows that react positively to the allergen of atypical mycobacteria and to tuberculin, which indicates their active reproduction in the body with all possible manifestations of this form of interaction, which is characteristic of the latent course of infectious process.

The application of a complex approach to the study of the nature of para-allergic reactions to tuberculin in cows in one tuberculosis-free farm in Volyn found that the cause of these reactions was infection of the animals with scotochromogenic species of mycobacteria *M. fortuitum, M. intracellularae* and *M. scrofulaceum* and saprophytic microorganisms of the genus *Nocardia.*

The study of the infectious process of mycobacteriosis of cows caused by ATMB, using the method of epizootic analysis, allergic research using a

simultaneous sample, pathoanatomical, pathomorphological, and bacteriological studies of biomaterial from reacting animals, confirmed the functioning of the epizootic process of mycobacteriosis in the cattle herd.

The study of the infectious process of mycobacteriosis of cows caused by ATMB, using the method of epizootic analysis, allergic research using a simultaneous sample, pathoanatomical, pathomorphological, and bacteriological studies of biomaterial from reacting animals, confirmed the functioning of the epizootic process of mycobacteriosis in the cattle herd.

The use of classical methods of bacteriological research for isolation and identification of NTMB in biotic and abiotic objects of a dairy farm indicates their significant distribution and constant circulation, which can have negative consequences both for the health of productive animals and pose potential risks for the health people through food of animal origin.

Keywords: mycobacteriosis, atypical mycobacteria, tuberculosis, tuberculin, epidemiology, epizootic process, laboratory diagnostics, morbidity, infectious process, allergic reactions, immunofluorescence diagnostics of infectious diseases, *Mycobacterium bovis, Mycobacterium fortuitum.*

Список публікацій здобувача:

- включені до переліку фахових видань України:

1. Бойко, О., Титюк, О., Панівська, О., Поручинський, Б., Бойко, П. Можливості імунофлуоресцентного методу в лабораторній діагностиці інфекційних хвороб. *Нотатки сучасної біології*, 2021. №1. С. 93–101.

2. Бойко П., Шевчук В., Степанюк Я., Бойко О., Соловей Л., Панівська О. Мікобактеріози великої рогатої худоби: патоморфологічні зміни в органах периферичної імунної системи. Медикоепідеміологічне значення. *Нотатки сучасної біології*. № 1 (5). 2023. С. 37–44.

3. Olha Panivska, Viktor Shevchuk. Epidemiological situation of mycobacterioses in Ukraine and the worldwide at the beginning of the 21st

century: A literature review. *Bulletin of Medical and Biological Research.* 2024. Vol. 6, No. 2. P. 63–71.

4. Панівська О. В. До природи параалергічних реакцій на туберкулін у корів в умовах молочнотоварних ферм. *Нотатки сучасної біології.* 2024. Том 8 № 2. С. 115-120.

- включені до переліку міжнародних видань:

5. Olha Panivska, Viktor Shevchuk. Mycobacteriosis of productive animals in the conditions of dairy farms. *Věda a perspektivy*. 2024. № 6(37). С. 265–276.

6. Ольга Панівська, Віктор Шевчук. Порівняльна характеристика методів передпосівної обробки досліджуваного матеріалу з метою виділення мікобактерій. *Věda a perspektivy*. 2024. № 7(38). С. 267–278.

- тези у збірниках міжнародних конференцій/конгресів/симпозіумів (апробація результатів дисертаційного дослідження):

1. Панівська О. В., Бойко П. К., Шевчук В. М. Вивчення морфологічних ознак, тинкторіальних, культуральних та біохімічних властивостей ізолятів атипових мікобактерій, виділених від великої рогатої худоби. Матеріали у Всеукраїнській науково-практичній конференції *«Ветеринарно-санітарні аспекти технології виробництва і переробки продукції тваринництва»* (18–19.05. 2023 р., м. Миколаїв), Миколаїв, 2023. С. 46.

2. Панівська О. В., Бойко П. К., Шевчук В. М. Мікобактеріози – актуальна проблема гуманної і ветеринарної медицини. The International Scientific and Practical Conference *«Modern aspects of microbiology, virology, and biotechnology in wartime and postwar period»* (15–16.11.2023. Kyiv), Kyiv, 2023. P. 170–173.

3. Панівська О. В. Мікобактеріози населення. Характеристика прояву епідемічного процесу в окремих країнах світу. Тези Всеукраїнського науково-практичного семінару «Єдине здоров’я : реалії і перспективи» (Поліський національний університет, 12–13.12.2023 р. м. Житомир), Житомир, 2023. С. 56.

4. Панівська О. В., Бойко П. К. Порівняльна характеристика методів передпосівної обробки досліджуваного матеріалу з метою виділення мікобактерій. *Українські медичні вісті. Науково-практичний часопис*. 2024. 16. №3–4 (100–101). С. 34.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ 14
ВСТУП 15
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ 22
1.1. Мікобактеріози як нозологічна одиниця інфекційної патології 22
1.2. Загальна характеристика представників родини *Mycobacteriaceae* 26
1.2.1. Таксономічне положення бактерій роду Mycobacterium 27
1.2.2. Морфологічні ознаки, тинкторіальні, культуральні, біохімічні та біологічні властивості мікобактерій 28
1.2.3. Антигенні властивості та фактори патогенності 31
1.2.4. Стійкість до дії фізичних, хімічних та біологічних факторів 34
1.3. Епідеміологічні та епізоотологічні особливості мікобактеріозів 35
1.4. Діагностика мікобактеріозів 36
1.4.1. Прижиттєві методи діагностики 36
1.4.2. Посмертні методи діагностики 37
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ 38
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ 50
3.1. Епідеміологічні аспекти мікобактеріозів людини у країнах світу та в Україні 50
3.2. Епізоотологічні аспекти мікобактеріозів тварин у країнах світу та в Україні 66
3.3. Прояв інфекційного та епізоотичного процесів мікобактеріозів тварин в країнах світу на початку XXI століття 73
3.4. Епізоотичний процес за мікобактеріозу корів у конкретному стаді великої рогатої худоби 83
3.5. Інфекційний процес за мікобактеріозу корів у конкретному стаді великої рогатої худоби 92
3.6. Лабораторна діагностика мікобактеріозів 102
3.6.1. Патологоанатомічна діагностика 102

3.6.2. Гістоморфологічна діагностика 110
3.6.3. Мікробіологічна діагностика мікобактеріозів 118
3.7. Узагальнення отриманих результатів 141
ВИСНОВКИ 147
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ 148
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ 151
ДОДАТКИ 179

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

ВООЗ – Всесвітня організація охорони здоров’я

МЕБ – Міжнародне епізоотичне бюро

МАП – Міністерство аграрної політики

АВМ – Асоціація виробників молока

УВМ – Управління ветеринарної медицини

ААМ – Алерген атипових мікобактерії

КАМ – Комплексний антиген мікобактерій

ППД-туберкулін – Purified Protein Derivat

АТМБ – Атипові мікобактерії

НТМБ – Нетуберкульозні мікобактерії

МПБ – М’ясо-пептонний бульйон

МПА – М’ясо-пептонний агар

СЛ-Й – Середовище Левенштейна-Йєнсена

МЦ-Н – метод Ціля-Нільсена

ТНФ – Тринатрій фосфату 10%-й розчин;

ПрВ – Протеолітичні властивості

ГлВ – Гліколітичні властивості

ОВВ – Окисно-відновні властивості

рст – просантімілле (одна стотисячна)

ННЦ «ІЕКВМ» – науково-навчальний центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини»

КТВР – комп’ютерна томографія високої роздільності

IFN-γ – γ-Інтерферон

ВСТУП

Актуальність теми. Мікобактеріози тварин у багатьох країнах світу стали актуальною проблемою ветеринарної медицини [112, 195]. Найбільше епізоотологічне та медико-біологічне значення мають мікобактеріози великої рогатої худоби [166, 208]. Неспецифічні (парааллергічні) реакції на ППД-туберкулін (Purified Protein Derivate) у корів благополучних щодо захворювання на туберкульоз молочнотоварних ферм – явище досить поширене в багатьох країнах світу, у тому числі і в Україні [156, 196]. Спеціалісти державних установ ветеринарної медицини України не фіксують парааллергічні реакції на туберкулін у великої рогатої худоби, оскільки вважають, що нетуберкульозні мікобактерії (НТМБ) можуть викликати лише сенсибілізацію організму тварин, але не інфекційний процес [202]. Проте більшість науковців гуманної і ветеринарної медицини вважають, що мікобактеріози мають свій етіопатогенез, характерні патологоанатомічні та специфічні гістоморфологічні зміни [48, 67, 203].

Вивчення особливостей інфекційного процесу в усіх випадках виявлення реагуючих на туберкулін тварин у кожному стаді великої рогатої худоби, незалежно від його епізоотологічного статусу, здійснення комплексного моніторингу за особливостями прояву епізоотичного процесу в кожному випадку виявлення парааллергічних реакцій за допомогою симультанної алергічної проби, вивчення видового складу та екології нетуберкульозних мікобактерій у популяціях продуктивних тварин, їх патогенних та вірулентних властивостей суттєво розширить наші знання про інфекції, що спричиняються атиповими мікобактеріями, стануть підґрунтям для розробки науково-обґрунтованої системи запобігання біоризиків інфікування населення через продукти харчування тваринного походження.

Тому, крім вивчення маркерів ідентифікації (морфологічні ознаки, тинкторіальні, біохімічні, антигенні та молекулярно-генетичні властивості), не менш важливою складовою є встановлення біологічних (інвазивних,

сенсибілізуючих та патогенетичних) властивостей нових ізолятів атипових мікобактерій. Адже лише біологічне дослідження на лабораторних або цільових продуктивних тваринах дає можливість потенційному збуднику розкрити свої патогенні та вірулентні властивості [46, 175].

Кожне таке дослідження є актуальним, бо розширює пізнання досі не вивчених властивостей цих мікроорганізмів і є науковою основою для прогнозування епідемічної та епізоотичної ситуації щодо мікобактеріозів людини і тварин.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота є фрагментом планової науково-дослідної роботи кафедри гістології та медичної біології Волинського національного університету імені Лесі Українки. Номер державної реєстрації в НДДКР 0124U004519.

Мета та завдання дослідження. Мета роботи – вивчити епідемічну ситуацію щодо мікобактеріозів людини та епізоотичну ситуацію щодо мікобактеріозів тварин у країнах світу та в Україні за період 2000–2023 рр., а також особливості епізоотичного процесу за мікобактеріозу великої рогатої худоби в одному із господарств Волинської області. Для досягнення поставленої мети необхідно вирішити наступні завдання:

1. Проаналізувати епідемічну ситуацію щодо мікобактеріозів людей в Україні та країнах світу.

2. З’ясувати напруженість епізоотичної ситуації щодо мікобактеріозів тварин в Україні та країнах світу.

3. Виділити та ідентифікувати нетуберкульозні мікобактерії від великої рогатої худоби, що були причиною мікобактеріозу.

4. Вивчити особливості інфекційного процесу мікобактеріозів великої рогатої худоби, спричиненого НТМБ, в одному із господарств Волинської області.

5. Вивчити особливості епізоотичного процесу мікобактеріозів великої рогатої худоби, спричиненого НТМБ, в одному із господарств Волинської області.

Об'єкт дослідження – мікобактеріози людини і тварин.

Предмет дослідження – інфекційний та епізоотичний процес за мікобактеріозу великої рогатої худоби, спричинений нетуберкульозними мікобактеріями.

Методи дослідження:

- методи епідеміологічного та епізоотологічного аналізу, який включав методику збору матеріалу, його систематику та аналіз з метою виявлення просторово-часових та порівняльно-географічних особливостей прояву епідемічного та епізоотичного процесів мікобактеріозів;
- імунологічні: алергічний метод з використанням симультанної проби дослідження зводився до внутрішньошкірного уведення ППД-туберкуліну для ссавців у дозі 0,1 $см^3$ у середній третині шиї з лівої сторони та ААМ (алерген атипових мікобактерій) у дозі 0,1 $см^3$ – з правої;
- клінічні: огляд, пальпація, аускультація, термометрія;
- патологоанатомічні: візуально досліджували заглоткові, піднижньощелепові, середостінні, мезентеріальні і надвим’яні лімфатичні вузли, а також внутрішні органи, шматочки великоободової кишки товстого відділу кишківника;
- бактеріологічні: виділення культур мікобактерій на живильному середовищі Левенштейна-Йєнсена із біоматеріалу, обробленого за методом А.П. Алікаєвої, за методом Петрова А.А., 10 % розчином натрію фосфату;
- мікроскопічні: світлова мікроскопія мазків-відбитків досліджуваних лімфатичних вузлів і культур мікроорганізмів, пофарбованих за методами Грама, Ціля-Нільсона; люмінесцентна мікроскопія мазків-відбитків і культур мікроорганізмів, пофарбованих аураміном з метою виявлення кислотостійких мікобактерій;

- гістологічні: парафінові гістозрізи, виготовлені із заглоткових, піднижньощелепових, середостінних, мезентеріальних і надвим'яних лімфатичних вузлів, змінених ділянок товстого відділу кишківника, які фарбували гематоксилін-еозином і розглядали під мікроскопом при збільшенні ×400.

Наукова новизна отриманих результатів. Зроблено спробу епідеміологічного та епізоотологічного аналізу особливостей просторово-часового прояву мікобактеріозів людини і тварин у різних країнах світу та в Україні; уперше на основі комплексного багаторічного дослідження встановлено функціонування епізоотичного процесу мікобактеріозу в стаді великої рогатої худоби в одному із молочнотоварних господарств Волинської області; вивчено окремі аспекти інфекційного та епізоотичного процесів за мікобактеріозу великої рогатої худоби; виділено та ідентифіковано декілька видів нетуберкульозних мікобактерій, що спричинили інфекційний процес та сенсибілізацію організму корів; зроблено спроби вивчення екології атипових мікобактерій на конкретній молочнотоварній фермі та розроблено заходи, спрямовані на профілактику мікобактеріозу в популяції продуктивних тварин на молочнотоварній фермі великої рогатої худоби.

Практичне значення отриманих результатів. Результати проведених досліджень стали науковою підставою для розробки низки ветеринарно-санітарних та медико-соціальних заходів, спрямованих на заборону необґрунтованого забою корів, які давали позитивні реакції на туберкулін за алергічного дослідження на туберкульоз, на профілактику мікобактеріозу серед поголів'я худоби молочнотоварної ферми, на покращення санітарної якості сирого молока, на зниження біоризиків інфікування сирого коров'ячого молока атиповими мікобактеріями – потенційними збудниками мікобактеріозу людини.

На основі виділених ізолятів нетуберкульозних мікобактерій можлива розробка діагностикуму для експрес-діагностики мікобактеріозів з використанням прямого варіанту методу флуоресціюючих антитіл.

Отримані результати вказують на перспективність подальших досліджень з метою покращення епізоотичної ситуації мікобактеріозів і, отже, на зменшення напруженості епідемічної ситуації.

Основні результати проведених досліджень використовуються спеціалістами державної служби ветеринарної медицини безпосередньо в господарстві, де проводилися виробничі та польові дослідження, а також у навчальних програмах з мікробіології у Волинському національному університеті імені Лесі Українки.

Особистий внесок здобувача. Автором особисто під керівництвом наукового керівника доктора ветеринарних наук, доцента, професора кафедри гістології та медичної біології Бойка П. К. було здійснено інформаційний пошук, у тому числі із залученням електронних засобів, методичні підходи до проведення польових та лабораторних досліджень, відпрацьовано моделі, відповідно до яких особисто виконано експериментальні дослідження. Проведено оформлення одержаних результатів у вигляді таблиць та графіків, здійснено їх епідеміологічний та епізоотологічний аналіз, сформульовано практичні рекомендації для спеціалістів тваринницької галузі господарства, а також висновки роботи.

Дисертанткою освоєно методи епідеміологічного та епізоотологічного аналізу, методи клінічного та патологоанатомічного дослідження, методику гістоморфологічного і бактеріологічного дослідження біоматеріалу від тварин. Авторка виконала низку дослідів з порівняльної оцінки різних способів первинної обробки біоматеріалу з метою виділення НТМБ з біологічних матеріалів. На основі детального вивчення морфологічно-тинкторіальних та кульурально-біохімічних властивостей самостійно провела видову ідентифікацію виділених ізолятів мікобактерій. В результаті набутих у процесі роботи навиків провела низку дослідів з вивчення поширеності НТМБ в абіотичних об’єктах довкілля молочнотоварної ферми, на якій було встановлено функціонування епізоотичного процесу мікобактеріозу серед поголів’я великої рогатої худоби.

Усі положення та висновки дисертації належать автору. Автором написані особисто чи в співавторстві з доктором ветеринарних наук, академіком Бусолом В. О., доктором ветеринарних наук Бойком П. К., кандидатом біологічних наук Кондратюк Н. В., кандидатом ветеринарних наук Шевчуком В. М., кандидатом ветеринарних наук Бойко О. П. усі опубліковані роботи, що стосуються теми дисертації.

Апробація результатів дисертації. Результати дисертаційного дослідження були представлені на засіданнях кафедри гістології та медичної біології Волинського національного університету імені Лесі Українки (2022, 2023 і 2024 рр.) та апробовані на наукових конференціях, зокрема: на Всеукраїнській науково-практичній конференції «Ветеринарно-санітарні аспекти технології виробництва і переробки продукції тваринництва» (Миколаївський національнийц агарний університет, 18–19.05.2023 р., м. Миколаїв), на Міжнародній науково-практичні конференції «Сучасні сапекти мікробіології, вірусології і біотехнології у воєнний та післявоєнний час» (Національний університет біоресурсів та природокористування, 15–16.11.2023 р., м. Київ), на Всеукраїнському науково-практичному семінарі «Єдине здоров’я : реалії і перспективи» (Поліський національний університет, 12–13.12.2023 р. м. Житомир), на XX Конгресі Світової Федереації Українських Лікарських Товариств медичному конгресі (24–25.10.2024 р., Волинський національний університет імені Лесі Українки, м. Луцьк).

Публікації.

Включені до переліку фахових видань України:

1. Бойко, О., Титюк, О., Панівська, О., Поручинський, Б., Бойко, П. Можливості імунофлуоресцентного методу в лабораторній діагностиці інфекційних хвороб. *Нотатки сучасної біології*, 2021. №1. С. 93–101.

2. Бойко П., Шевчук В., Степанюк Я., Бойко О., Соловей Л., Панівська О. Мікобактеріози великої рогатої худоби: патоморфологічні зміни

в органах периферичної імунної системи. Медикоепідеміологічне значення. *Нотатки сучасної біології*. № 1 (5). 2023. 37–44.

3. Olha Panivska, Viktor Shevchuk. Epidemiological situation of mycobacterioses in Ukraine and the worldwide at the beginning of the 21st century: A literature review. *Bulletin of Medical and Biological Research.* 2024. Vol. 6, No. 2. P. 63–71.

4. Панівська О. В. До природи парааллергічних реакцій на туберкулін у корів в умовах молочнотоварних ферм. *Нотатки сучасної біології.* 2024. Том 8 № 2. С. 115-120.

5. Olha Panivska, Viktor Shevchuk. Mycobacteriosis of productive animals in the conditions of dairy farms. *Věda a perspektivy*. 2024. № 6(37). С. 265–276.

6. Ольга Панівська, Віктор Шевчук. Порівняльна характеристика методів передпосівної обробки досліджуваного матеріалу з метою виділення мікобактерій. *Věda a perspektivy*. 2024. № 7(38). С. 267–278.

Результати роботи були доповідані та обговорювалися на конференціях:

1. Панівська О. В., Бойко П. К., Шевчук В. М. Вивчення морфологічних ознак, тинкторіальних, культуральних та біохімічних властивостей ізолятів атипових мікобактерій, виділених від великої рогатої худоби. Матеріали у Всеукраїнській науково-практичній конференції *«Ветеринарно-санітарні аспекти технології виробництва і переробки продукції тваринництва»* (18–19.05. 2023 р., м. Миколаїв), Миколаїв, 2023. С. 46.

2. Panivska O. V., Boiko P. K., Shevchuk V. M. Mycobacteriosis is an actual problem of human abd veterinary medicine. Панівська О. В., Бойко П. К., Шевчук В. М. Мікобактеріози – актуальна проблема гуманної і ветеринарної медицини. The International Scientific and Practical Conference *«Modern aspects of microbiology, virology, and biotechnology in wartime and postwar period»* (15–16.11.2023. Kyiv), Kyiv, 2023. P. 170–173.

3. Панівська О. В. Мікобактеріози населення. Характеристика прояву епідемічного процесу в окремих країнах світу. *Тези Всеукраїнського науково-*

практичного семінару «Єдине здоров'я : реалії і перспективи» (Поліський національний університет, 12–13.12.2023 р. м. Житомир), Житомир, 2023. С. 56.

4. Панівська О. В., Бойко П. К. Порівняльна характеристика методів передпосівної обробки досліджуваного матеріалу з метою виділення мікобактерій. XX Конґрес світової федерації українських лікарських товариств. Луцьк, 24-26 жовтня 2024 р. *Українські медичні вісті. Науково-практичний часопис*. 2024. 16. №3–4 (100–101). С. 34.

Структура й обсяг дисертації. Дисертаційна робота викладена на 182 сторінках комп'ютерного тексту і містить вступ, огляд літератури, матеріал і методи досліджень, результати власних досліджень, узагальнення отриманих результатів, висновки, список використаних літературних джерел, додатки. Список використаної літератури включає 208 найменувань. Робота ілюстрована 12 таблицями та 23 рисунками.

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Мікобактеріози як нозологічна одиниця інфекційної патології

Окрім бактерій туберкульозу та лепри, у Переліку назв прокаріотів згідно з чинною номенклатурою є понад 200 відомих видів мікобактерій, які зазвичай існують як сапрофіти ґрунту та води. Це так звані мікобактерії навколишнього середовища (або нетуберкульозні), деякі з них іноді спричиняють умовно-патогенні захворювання у тварин та людей, що дістали назву мікобактеріози [105].

Мікобактеріози – хвороби, що викликаються іншими мікобактеріями, тобто нетуберкульозними (НТМБ) (*non-tuberculous mycobacteria* – NTM, *mycobacteria other than tuberculosis* – MOTT) (стара назва «атипові мікобактерії (АТМБ)») [47, 62, 105].

НТМБ дуже поширені в природі, зокрема в ґрунті та водозбірниках, які є природніми резервуарами цих бактерій [109]. НТМБ як сапрофіти, нерідко заселяють дихальні шляхи, травний тракт і сечостатеву систему людини. Через низьку патогенність НТМБ патогенні в основному для осіб з імунодефіцитом. Вони частіше спостерігаються у ВІЛ-інфікованих осіб, у пацієнтів з силікозом, муковісцидозом, ХОЗЛ або бронхоектатичною хворобою, а також у пацієнтів, які лікуються імунодепресантами [143].

Інфекційний процес за мікобактеріозу може бути безсимптомним або з клінічними симптомами. У пацієнтів без суттєвих порушень імунітету легеневі мікобактеріози мають 4 клінічні форми:

1) подібна до туберкульозу. Зазвичай розвивається в чоловіків похилого віку з ХОЗЛ, курців з багаторічним стажем або пацієнтів з пневмоконіозом і бронхоектазами (найчастіше спричиняються *M. kansasii*, *M. avium, M. xenopi, M. malmoense*);

2) множинна дрібновузликова з бронхоектазами, які виявляють на КТВР, у середній та язичковій частині; характерна для струнких жінок

старшого віку, з деформацією грудної клітки (сколіоз або лійкоподібна грудна клітка); зазвичай спричиняється МАС;

3) з клінічними симптомами і змінами при візуалізуючому обстеженні, характерними для альвеоліту, зазвичай спричиняється тривалим впливом МАС;

4) форма єдиного вузлика або кількох вузликів.

Найпоширенішим симптомом легеневого мікобактеріозу є хронічний продуктивний кашель та слабість, рідше гарячка і пітливість. Кахексія може прогресувати в пацієнтів з поширеними змінами в легенях. При мікобактеріозі у формі алергічного альвеоліту виникає лихоманка та задишка. Маніфестація НТМБ появою поодинчих вузликів у легенях, як правило, безсимптомна.

Клінічний перебіг легеневого мікобактеріозу зазвичай хронічний і прогресуючий. Перебіг мікобактеріозів характеризується утворенням гранульом, а клінічна картина нагадує туберкульоз. Туберкулінова проба також може бути позитивною, натомість при мікобактеріозах, при яких як збудник виступають *M. kansasii*, *M. marinum* і *M. szulgai* позитивним може також бути результат IGRA (Interferon-Gamma Release Assay, IGRA – твердофазний імуноферментний аналіз) [118, 143].

В епідеміології мікобактеріозів хвора людина не виступає як джерело НТМБ [118]. Ймовірно, що таким за мікобактеріозу людини є абіотичні фактори – вода, ґрунт, продукти харчування рослинного і, особливо, тваринного походження. Зважаючи на цей постулат, продуктивних тварин слід розглядати як потенційне біотичне джерело НТМБ [62].

З цієї точки зору мікобактеріози тварин повинні стати в центрі уваги ветеринарної науки і ветеринарної медицини. Адже парааллергічні реакції на туберкулін у великої рогатої худоби, як одного із основних засобів зажиттєвої діагностики туберкульозу у популяціях продуктивних тварин, часте явище за діагностики туберкульозу як в нашій країні, так і за кордоном [14, 53, 97].

Усе це не лише призводять до ускладнення діагностики туберкульозу тварин, але, найважливіше, наносить значні економічні збитків молочному скотарству через вибраковку високопродуктивних корів та племінних тварин.

З метою диференціації парааллергічних реакцій у ветеринарну практику нашої країни за алергічної діагностики туберкульозу була запроваджена симультанна проба з використанням комплексного антигену мікобактерій (КАМ) [165, 189]. З цією метою в Україні використовують алерген атипових мікобактерій (ААМ). Кількість господарств, де виявляють тварин, які позитивно реагують на алерген атипових мікобактерій, з кожним роком збільшується. Цей факт, як і низка інших, зокрема зростання захворюваності людей на мікобактеріози, збудниками яких виступають НТМБ, що причетні не лише до сенсибілізації організму продуктивних тварин, але й до розвитку інфекційного процесу в організмі останніх, є очевидним свідченням існуючої проблеми мікобактеріозів у популяціях продуктивних свійських, домашніх і диких тварин [151, 165, 189].

Актуальність проблеми мікобактеріозів зростає з року в рік і привертає все більшу увагу дослідників та клініцистів як в гуманній, так і у ветеринарній медицині. Про це свідчить кількість наукових публікацій, що з’являється щорічно в науковій літературі. Зацікавленість цією проблемою обумовлена, насамперед, зростанням числа пацієнтів із мікробіологічно підтвердженим діагнозом мікобактеріозу [93], а також із появою нових, більш точних методів діагностики та ідентифікації мікобактерій до виду, щорічним зростанням числа людей, що входять до груп ризику з розвитку захворювання (пацієнти з ВІЛ-інфекцією, пацієнти після трансплантації органів, особи з ХОЗЛ, бронхоектазами, муковісцидозом, які отримують імуносупресивну терапію та ін.), а також зі «звільненням ніші» для НТМБ у розвинутих країнах унаслідок різкого скорочення числа туберкульозних пацієнтів [46].

1.2. Загальна характеристика представників родини *Mycobacteriaceae*

Mycobacterium tuberculosis (застаріле – «паличка Коха») – бактерія, збудник туберкульозу в людей. Цю бактерію вперше описав у 1882 році німецький мікробіолог Роберт Кох, який 1905 року за це відкриття отримав Нобелівську премію. Геном *M. tuberculosis* був секвенований у 1998 році.

M. tuberculosis належить до роду *Mycobacterium*. Рід містить кілька відомих патогенів, які здатні спричинити тяжкі захворювання ссавців, включаючи туберкульоз, лепру, виразку Бурулі та низку захворювань людини і тварин, що мають узагальнену назву мікобактеріози.

Актуальність проблеми туберкульозу полягає в тому, що чверть населення землі інфікована туберкульозною паличкою, унаслідок чого щорічно на Землі виникає понад 100 млн нових інфікувань людей, понад 10 млн нових випадків захворювання на туберкульоз і понад 1,5 млн смертей.

Захворювання на лепру в 1985 році, у якому було зафіксовано 10 млн хворих на цю недугу, було взято під епідеміологічний контроль, унаслідок чого в 2014 році їхня кількість зменшилася до 0,2 млн.

Захворювання, що спричиняються НТМБ, набувають усе більшого значення в промислово розвинених країнах. У низці розвинених країн понад 50 % клінічних мікобактеріальних ізолятів становлять НТМБ. Вони причетні до таких факторних інфекцій людини, як локалізований лімфаденіт (*M. intracellulare*), басейнова гранульома (*M. marinum*), виразка Бурулі (*M. ulcerans*), актиномікози – хронічні ураження шкіри, що характеризуються множинними абсцесами, гранульомами, дифузним фіброзом та утворенням нориць (*Actinomyces israeli*), постінокуляційні абсцеси шкіри (мадурська стопа), до виникнення яких причетні нокардії (*Nocardia asteroides*), кишкова ліподистрофія – рідкісна мультисистемна хвороба з вираженим ураженням кишкового епітелію, що спричиняється *Tropheryma whippelii*.

Низка мікобактерій причетна до факторних інфекційних захворювань тварин. Так, *M. avium* підвиду *avium* спричиняє пташиний туберкульоз,

M. avium підвиду *paratuberculosis* – збудник хвороби Крона людини і хвороби Джона овець, *M. lepraemurium* – збудник лепроподібного захворювання в щурів, мишей та котів [39, 192].

1.2.1. Таксономічне положення бактерій роду Mycobacterium

Біологічна класифікація представників роду *Mycobacterium* була встановлена Lehmann and Neumann (1896) [93]. Згідно з цією класифікацією рід *Mycobacterium* входить як єдиний рід в єдину родину *Mycobacteriaceae*, яка є складовою підряду *Corynebacterineae*. Останній належить до ряду *Actinomycetales*, який відноситься до типу *Actinobacteria* домену Бактерії (*Bacteria*).

У терміні *Mycobacteriaceae* грецький префікс «*myco-*» від грец. Μύκης – *гриб*) присвоєно даному таксону бактерій через здатність багатьох представників роду утворювати грибоподібний міцелій на одній зі стадій розвитку (зазвичай за сприятливих умов).

У роді *Mycobacterium* усі види мікобактерій поділені на 3 групи:

1. **Патогенні** – збудники туберкульозу і лепри:

- *M. tuberculosis* – збудник туберкульозу людини;
- *M. bovis* – збудник туберкульозу великої рогатої худоби;
- *M. africanum* – збудник туберкульозу людини в країнах Африки;
- *M. leprae* – збудник лепри (прокази).

2. **Умовно-патогенні** – збудники мікобактеріозів (понад 40 видів):

- *M. avium;*
- *M. kansasii;*
- *M. marinum* – збудник басейнової гранульоми*;*
- *M. ulcerans* – збудник виразки Бурулі.

3. **Сапрофіти** (в т.ч. й представники нормальної мікрофлори):

- *M. smegmatis*;
- *M. abscessus;*
- *Mycobacterium avium complex (MAC);*

- *M. avium* підвид *avium* – збудник пташиного туберкульозу;
- *M. avium paratuberculosis* – збудник хвороби Крона людини і хвороби Джона овець;
- *M. avium silvaticum;*
- *M. avium «hominissuis»*;
- *M. colombiense;*
- *M. fortuitum;*
- *M. gilvum;*
- *M. intracellulare;*
- *M. kansasii;*
- *M. marinum;*
- *M. xenopi* та ціла низка інших видів, більш або менш відомих як збудники мікобактеріозів людини і тварин, виділення та ідентифікація яких триває [93].

Мікобактеріози тварин теж мають значне поширення, але їх ніхто предметно не вивчав, тому, на перший погляд, проблеми ніби немає. Але вона реально існує і є безпосередньо дотичною до мікобактеріозів людини [46].

Особлива цікавість до цієї групи мікобактерій в останні роки пов'язана з тим, що вони складають значний процент опортуністичних інфекцій при СНІДі (80% ізольованих штамів – це M. *avium* або M. *intracellularae)* [46, 47].

1.2.2. Морфологічні ознаки, тинкторіальні, культуральні, біохімічні та біологічні властивості мікобактерій

НТМБ – це кислото-, спирто- та лугостійкі грампозитивні нерухомі палички, що не утворюють капсул і спор. У мазках із культур можуть мати вигляд тонких, прямих або злегка зігнутих паличок довжиною 1–4 мкм і діаметром 0,3–0,5 мкм. Надзвичайно поліморфні – у культурі можуть бути бактерії різних форм (кулясті, паличковидно видовжені, розгалужені). За сприятливих умов культивування на збагачених живильних середовищах мікобактерії утворюють цитоплазматичні включення – зерна Муха, що

являють собою метафосфатні включення. Клітинна стінка мікобактерій має високий вміст ненасичених жирних кислот (міколова кислота), ліпідів, восків (до 40 %), що й надає їй не лише кислотостійкості, але лугостійкості та спиртостійкості. Зважаючи на цей факт, для виявлення мікобактерій насамперед *M. tuberculosis* був розроблений спеціальний метод фарбування кислотостійких мікобактерій, який отримав назву за іменами авторів, які його розробили, а саме фарбування за методом Ціля-Нільсена [46, 47].

Суть методу полягає в тому, що першу фарбу (карболовий фуксин), яку наносять на мікропрепарат, підігрівають на полум'ї майже до кипіння, щоб барвник міг подолати всі гідрофобні структури (ненасичені жирні кислоти, ліпіди, воски) бактеріальної клітини мікобактерій і проникнути в цитоплазму і залишатися в ній навіть за умови жорсткого знебарвлення підкисленим спиртом. А додаткове нанесення контрастного барвника після знебарвлення мікропрепарату не матиме впливу на кислотостійкі мікобактерії, і вони залишаться зафарбованими в той колір, яким був перший барвник, тобто будуть яскраво червоними, бо першим барвником був карболовий фуксин.

Мікобактерії вирощують в аеробних умовах на складних живильних середовищах із додаванням яєць, гліцерину, картоплі, вітамінів, глюкози, амінокислот, твіну-80. Найчастіше з цією метою використовують гліцериновий бульйон, середовище Левенштейна-Йєнсена, Петраньяні, Сотона, Фінна. Мікобактерії туберкульозу розмножуються дуже повільно. На гліцериновому бульйоні через 10–15 днів з'являється плівка, яка поступово товстішає, зморщується, кришиться і опускається на дно, а бульйон залишається прозорим. На щільних середовищах через 10–12 днів виникає сухий, лускоподібний наліт, який поступово переходить у нерівномірні, бородавчасті утворення. Це типові R-форми колоній, які властиві більш вірулентним штамам мікобактерій (див. рис. 1).

Рис. 1. Колонії *M. tuberculosis* на щільному середовищі [167].

Використовують і прискорений метод культивування за Прайсом на предметних скельцях у кров'яних середовищах. Мікроколонії з'являються через 2–3 доби, мають вигляд кіс або джгутів із-за наявності корд-фактора – спеціальної клейкої речовини, яка властива патогенним видам. Туберкульозні бактерії виділяють ряд протеолітичних і цукролітичних ферментів, каталазу, уреазу, нікотинамідазу й ніациназу, за якими проводять диференціацію видів [118]. На поверхні рідких поживних середовищ утворюється щільна плівка, яка поступово потовщується, стає ламкою, зморщеною. Інколи плівка піднімається по стінках пробірки – дисгонічний ріст. Середовище залишається прозорим. Збудник синтезує у великій кількості нікотинову кислоту, за якою диференціаціюють його з іншими мікобактеріями (ніациновий тест).

Залежно від швидкості росту та забарвлення колоній НТМБ були поділені на 4 групи:

I - група – фотохромогенні повільноростучі (не утворюють пігменту в темноті, після освітлення набувають жовтого кольору): *M. kansasii, M. marinum.*

II - група – скотохромогенні повільноростучі (наявність жовтого пігменту незалежно від світла) - *M. scrofulaceum, M. agri.*

III - група – нефотохромогенні повільноростучі (не утворюють пігменту) M. *avium,* M. *intracellularae, M. terrae.*

IV - група – швидкоростучі; при кімнатній температурі ріст з'являється

через 2–5 днів, володіють властивостями сапрофітів – *M. fortuitum, M. phlei, M. smegmatis, M. abscessus* [46].

Інколи застосовують спрощену класифікацію:

1) мікобактерії з повільним ростом (колонії з'являються через 2–8 тижнів);

2) мікобактерії, які ростуть швидко (колонії з'являються вже через 3–5 діб).

НТМБ, яких виділяють з дихальних шляхів, ідентифікують щонайменше до рівня виду за допомогою перевірених класичних, молекулярно-генетичних або спектрометричних методів.

На цей час ідентифіковано понад 200 видів НТМБ, 25 з яких є патогенними, а 10 видів є причиною більшості мікобактеріозів.

Найчастіше хвороби легень спричиняють:

1) мікобактерії з повільним ростом – *M. kansasii* мікобактерії, які утворюють комплекс *M. avium* (МАС – *M. avium, M. intracellulare* і *M. chimaera*); мікобактерії *M. malmoense* і *M. xenopi*;

2) мікобактерії зі швидким ростом – *M. abscessus* (три підвиди: M. *a.abscessus, M. a.masiliense, M. a.bolletii*) [175].

1.2.3. Антигенні властивості та фактори патогенності

Більшість ознак мікобактерій як патогенних, так і умовно-патогенних пов'язані із будовою та хімічним складом клітинної стінки (див. рис. 2). Вона містить багато ліпідів і восків (10–40%). Найважливішим з них є гліколіпіди (ліпоарабінозогалактан), міколова кислота, віск Д та ін.

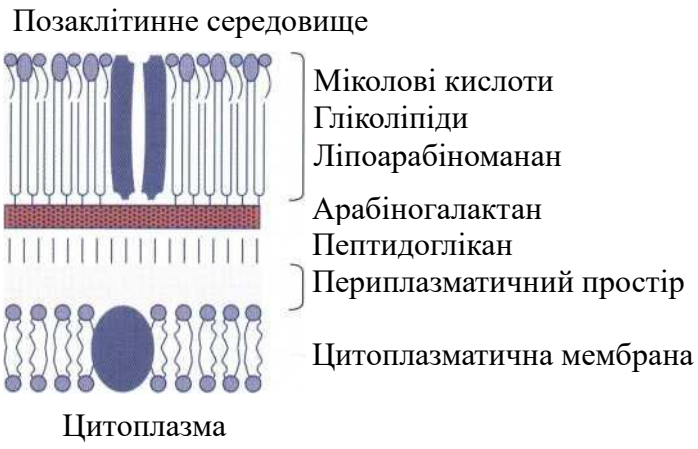


Рис. 2. Будова клітинної стінки мікобактерій *(за Williams, 2010)*.

При характеристиці будови клітинної стінки мікобактерій слід відзначити, що вона у своїй будові має подібність як до грампозитивних, так і до грамнегативних бактерій. Так, із грамнегативними бактеріями ця подібність зводиться до наявності в мікобактерій периплазматичного простору і незначного за товщиною пептидогліканового шару. Проте відсутність зовнішньої мембрани зближує їх із грампозитивними бактеріями. У той же час ні грампозитивні, ні грамнегативні бактерії не мають у структурі клітинної стінки додаткового шару арабіногалактану та ще значнішого за товщиною і хімічним складом шару, що складається із міколових кислот, гліколіпідів, поринів (білків-переносників) і ліпоарабіноманану [46].

Із восків особливої уваги заслуговує корд-фактор (трегалоза 6,6-диміколат). Будучи за антигенними властивостями гаптеном, корд-фактор згубно діє на мітохондрії, погіршуючи функцію дихання в клітинах організму, а також є інгібітором Т-клітинного природного імунітету, бо пригнічує міграцію макрофагів [166].

Антигенними властивостями володіють різні біохімічні сполуки бактеріальної клітини мікобактерій, зокрема білки, полісахариди, ліпіди, фосфатиди, а також структури клітинної стінки. Одні з них мають властивості гаптенів (корд-фактор), інші – повноцінних антигенів і навіть суперантигенів, на основі яких у свій час було сконструйовано повний ад’ювант Фрейнда, який включає в себе мурамілдіпептид. Він додатково активізує макрофаги і ко-стимулює Т-клітини. У ньому також можуть бути присутні убиті мікобактерії.

Антигени мікобактерій є слабими індукторами гуморального імунітету, тобто рівні антитіл у відповідь на імунізацію організму є низькими, вони є мало специфічними, тобто вказують на високу антигенну спорідненість між різними видами мікобактерій, а тим паче ізолятами.

Натомість мікобактеріальні протеїни мають високу сенсибілізуючу активність, а, отже, високі алергенні властивості, що спричиняє в

інфікованих організмів розвиток гіперчутливості сповільненого типу (алергічна реакція IV-го типу). Цю особливість мікобактерій широко використовують з діагностичною метою для виявлення раннього інфікування людей (проба Манту) і для виявлення хворих на туберкульоз тварин – туберкулінова проба [39].

Високими імуногенними властивостями володіють туберкулопротеїни, серед яких найважливішим є білок з молекулярною масою 65 кДа.

Проте для активної імунізації проти туберкульозу використовують живу атенуйовану вакцину БЦЖ (BCG). Її назва походить від скорочення Бацилла Кальмета – Герена, *фр*. Bacillus Calmette - Guérin, BCG). На початку 19 ст. ветеринарний лікар Каміль Герен і мікробіолог Альбер Кальмет в Інституті Пастера вивчали туберкульозну паличку. Дослідники виявили, що в середовищі на основі жовчі та гліцерину туберкульозні палички втрачають свою вірулентність. Саме це відкриття змінило хід досліджень. Вони вирішили перевірити, чи можна за допомогою повторюваного культивування збудника туберкульозу великої рогатої худоби *M. bovis* звести нанівець його вірулентність, натомість не позбавивши його здатності стимулювати активний імунітет, щоб таким чином отримати вакцинний штам. Дослідження тривали майже 10 років. Тести і перевірка вакцини почалися з 1919 року, а в 1921 році в Парижі була створена вакцина для застосування на добровольцях. Тепер ця вакцина знайшла широке застосування в багатьох країнах світу. Імунітет за туберкульозу не стерильний [32].

Мікобактерії не утворюють екзотоксину, але містять низку ендотоксинів, які вивільняються при розпаді клітин. Велику роль у патогенезі мікобактеріозів відіграють високомолекулярні жирні кислоти, які викликають розпад клітинних елементів, блокують низку внутріклітинних ферментів (протеаз і ліпаз). Вірулентні мікобактерії виділяють фосфатини, серед яких найактивнішою є фітонова кислота. Полісахариди клітинної стінки є активними інгібіторами злиття фагосом із лізосомами, що є

причиною незавершеного фагоцитозу мікобактерій, які проникли в організм [32, 46].

1.2.4. Стійкість до дії фізичних, хімічних та біологічних факторів

Незвичний хімічний склад і особливості структури зумовлюють дуже високу стійкість мікобактерій у довкіллі, до дії фізичних і хімічних факторів, дезінфектантів. Туберкульозні мікобактерії зберігають життєздатність у сухому харкотинні до 10 місяців, вуличному пилу – до 2-х тижнів, у ґрунті – до півроку, у воді – довше року, сирі і молоці – 250 діб, на сторінках книжок – до 3-х місяців. Однак під дією прямих сонячних променів втрачають життєздатність за лічені хвилини, тоді як під дією розсіяного сонячного світла виживають до 10 діб [32].

Мікобактерії стійкі до дії високих температур: у молоці при 60 °С гинуть за годину, при 70 °С – за 30 хв., при 90–95 °С – за 5 хв. [46].

До дезінфектантів мікобактерії також стійкіші, ніж інші бактерії. Так, 5 % розчин карболової кислоти спричиняє їх загибель лише через 6 годин, тоді як розчини хлораміну і хлорного вапна діють на них згубніше [175].

Особливо ефективними дезінфектантами за поточної або заключної дезінфекції виявилися такі комерційні препарати як «Бровадез-Плюс», «Епідез», «Аноліт» та ін. [28, 69, 52].

Мікобактерії виявилися пластичними мікроорганізмами у відношенні до антибіотиків. Так, хорватські вчені виділили та ідентифікували від тварин 87 ізолятів НТМБ, які належали до 11 швидко зростаючих видів (видимі колонії з’являються протягом 3–7 діб). Вивчаючи антимікробну чутливість цих ізолятів до 15 антибіотиків, що найчастіше використовуються при лікуванні мікобактеріозів у клініці, вони встановили, що найпоширенішою була резистентність до цефалоспоринів (>50%), потім до амоксицилін-клавуланату (31,0%), кларитроміцину (23,0%), тобраміцину (14,9%) і доксицикліну (10,3%). Резистентність до іміпенему, ципрофлоксацину, міноцикліну та лінезоліду була значно нижчою (<7,0%). Усі ізоляти були

чутливі до амікацину та амоксифлоксацину. Найчастіше резистентність виявляли найбільш патогенні види – *M. fortuitum*, *M. neoaurum*, *M. vaccae* та *M. porcinum*. Натомість інші види НТМБ виявилися із вищим рівнем чутливості. Суттєвих відмінностей у резистентності між ізолятами, виділеними від домашніх та диких тварин не виявлено. Автори роблять висновок, що виявлена висока частота резистентності в досліджуваних ізолятів свідчить про значний зоонозний потенціал, що формується циркулюючими швидко зростаючими штамами НТМБ [171].

1.3. Епідеміологічні та епізоотологічні особливості мікобактеріозів

Мікобактерії мають значне поширення в навколишньому середовищі, тому їх нерідко називають бактеріями довкілля (environmental mycobacteria). Особливо часто їх виділяють із вологого ґрунту, заболочених місць, із води річок, струмків, ставків та лиманів. Деякі види, такі як *M. terrae*, переживають у ґрунті, тоді як інші, зокрема *M. marinum* та *M. gordonae*, – у водоймах. Деякі види, зокрема і потенційно патогенні, приміром комплекс M. *avium*, *M. kansasii* та M. *xenopi* можуть колонізувати системи водопостачання, що нерідко призводить до регулярного контактування людей з мікобактеріями в процесі пиття води, приймання душу, при вдиханні аерозолів, що природно утворюються із інфікованої води. Така часто повторювана субінфекція може викликати сенсибілізацію організму до туберкуліну або мікобактеріальних реагентів [86, 105, 138].

Є повідомлення, що НТМБ можуть передаватися між хворими на муковісцидоз пацієнтами. Окремі штами *M. abscessus* мають значне поширення як на місцевому, так і на міжнародному рівні [171].

Зростає чисельність випадків захворювань, зумовлених НТМБ, порівняно із регіонами, де випадки туберкульозу спостерігаються нечасто або захворюваність на туберкульоз зменшується. Крім того, абсолютна захворюваність на мікобактеріози зростає внаслідок збільшення кількості осіб, у яких імунна система є ураженою, зокрема у хворих на СНІД [171].

У механізмі передачі мікобактерій від джерела або резервуару до сприйнятливих осіб можна виділити такі шляхи, як аерогенний, аліментарний, контактно-побутовий, ятрогенний, трансмісивний. Усі вони відносяться до горизонтальних [171].

Про вертикальну (трансоваріальну чи трансплацентарну) передачу НТМБ ми не знаходили даних у науковій літературі.

Як фактори передачі мікобактерій можуть виступати такі субстанції, як пил, вода, продукти харчування, інструментарій для інвазійних методів діагностики, а також членистоногі (мухи, комарі, блохи) [171].

Хорватські науковці експериментально доводять потенційну роль домашніх і диких тварин як природного резервуару численних резистентних штамів швидкозростаючих НТМБ, які становлять потенційну зоонозну загрозу для людини [171].

1.4. Діагностика мікобактеріозів

У діагностиці мікобактеріозів усі методи, що можуть бути застосовані для цього, можна поділити на зажиттєві та посмертні.

1.4.1. Прижиттєві методи діагностики

До зажиттєвих методів діагностики мікобактеріозів, що спричиняються НТМБ, відносять наступні:

1. Метод епідеміологічного (епізоотологічного) аналізу.
2. Клінічний метод із застосуванням інструментальних засобів первинної діагностики (рентгеноскопія, рентгенографія, ендоскопія, ультразвукова діагностика, томографія тощо).
3. Імунологічні методи, що ґрунтуються на виявленні алергічних реакцій сенсибілізованого організму антигенами мікобактерій.
4. Лабораторні методи:

- загальний аналіз крові, сечі та інших біоматеріалів;
- бактеріологічне дослідження біоматеріалу;
- гістоморфологічне дослідження біоптатів;

- молекулярно-генетичне дослідження виділень, біоптатів тощо.

Кожен із цих методів несе певний рівень інформативності, нерідко із кінцевим висновком, який для професійного спеціаліста має важливе значення як у виборі подальших методів підтвердження діагнозу, так і у його спростуванні. Кожен із перерахованих методів є важливим, але остаточне заключення ґрунтується на виділенні та ідентифікації до виду ізолятів НТМБ.

Зважаючи на значне поширення НТМБ у біотичних та абіотичних об'єктах довкілля, підтвердження їхньої етіопатогенетичної ролі зумовлює потребу в багаторазовому виділенні їх з джерела ураження. Тому Американська асоціація торакальних лікарів розробила низку критеріїв для встановлення етіологічної ролі НТМБ у ВІЛ-позитивних пацієнтів [203].

1.4.2. Посмертні методи діагностики

Посмертні методи діагностики мікобактеріозів включають такі методи дослідження секційного матеріалу:

- ❖ патологоанатомічне – за візуально виявленими патологоанатомічними змінами встановлюють діагноз:
- ❖ гістологічне – за виявленими гістоморфологічними змінами встановлюють діагноз;
- ❖ бактеріологічне – за результатами виявлення, виділення та ідентифікації ізолятів встановлюють етіологічний чинник мікобактеріозу;
- ❖ імунологічне з використанням алергічних реакцій, ІФА та ін. для виявлення специфічних реакцій імунної системи на проникнення НТМБ;
- ❖ молекулярно-генетичне дослідження – дозволяє виявляти та ідентифікувати на рівні специфічності геному наявність у досліджуваному матеріалі мікобактерій.

Послідовне комплексне застосування вказаних методів діагностики практикуючими лікарями гуманної та ветеринарної медицини є запорукою успішної діагностики інфекційних захворювань, що спричиняються НТМБ [3].

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дисертаційна робота виконана у Волинському національному університеті імені Лесі Українки, у досліджуваному господарстві молочнотоварного напрямку Волинської області, у низці м'ясо-переробних підприємств Волинської та Рівненської областей, у бактеріологічній лабораторії Волинського обласного туберкульозного диспансеру та у бактеріологічному відділі лабораторії Держпродспоживслужби Волинської області у період з 2020 по 2024 роки за схемою представленою в табл.1.

Таблиця 1.

Етапи виконання дисертаційної роботи

Етапи	**Виконані роботи**
I етап	Робота над літературою з обраної теми дисертації. Вивчення методів та методик досліджень. Розробка мети, завдань та плану дисертаційної роботи.
II етап	Робота над науковою літературою з вивчення епідемічної ситуації щодо мікобактеріозів людини в країнах світу та в Україні.
III етап	Робота над науковою літературою з вивчення епізоотичної ситуації щодо мікобактеріозів тварин в країнах світу та в Україні.
IV етап	Комплексне вивчення епізоотичної ситуації щодо туберкульозу великої рогатої худоби в дослідному господарстві з допомогою методу епізоотологічного аналізу, алергічного дослідження симультанною пробою з використанням туберкуліну для ссавців та ААМ (алерген атипових мікобактерій), клінічного дослідження реагуючих тварин.
V етап	Проведення діагностичних забоїв тварин, які позитивно реагували на один або обидва алергени з метою виявлення патолого-анатомічних змін, характерних для туберкульозу. Для цього органолептично (візуально і пальпацією) досліджували лімфатичні вузли – залопаткові, піднижньощелепові, заглоткові, шийні, середостінні, мезентеріальні і портальні лімфатичні вузли, передлопаткові, надвим'яні, колінної складки, а також внутрішні органи – легені, печінку, нирки, селезінку, серце, молочну залозу, брижейку, тонкий і товстий відділи кишківника. Одночасно для гістоморфологічного та бактеріологічного дослідження відбирали перераховані вище

	лімфатичні вузли, а також змінені ділянки паренхіматозних органів.
VI етап	Патологоанатомічне і гістоморфологічне дослідження заглоткових, піднижньощелепових, портальних, середостінних, мезентеріальних, колінної складки і надвим'яних лімфатичних вузлів.
VII етап	Бактеріологічне дослідження біоматеріалу з метою виділення мікобактерій із одночасною передпосівною обробкою біоматеріалу за методом А.П. Алікаєвої, Петрова і натрію фосфатом, висівом обробленого матеріалу на середовище Левенштейна-Йєнсена.
VIII етап	Мікроскопічне дослідження мазків-відбитків із біоматеріалу та мазків із культур ізолятів, пофарбованих за методом Ціля-Нільсена (з метою виявлення кислотостійких мікобактерій) та аураміном (для люмінесцентної мікроскопії).
IX етап	Вивчення культуральних властивостей ізолятів, їх морфологічних ознак, тинкторіальних та біохімічних властивостей з метою ідентифікації
X етап	Написання і публікація наукових статей, тез для участі в роботі науково-практичних конференціях з метою ознайомлення науковців, практичних працівників гуманної і ветеринарної медицини та працівників діагностичних лабораторій із результатами нашої роботи.
XI етап	Написання дисертації за результатами виконаної дослідницької роботи, а також на основі аналізу опрацьованої наукової літератури.

Об'єкти дослідження: Епізоотична та епідемічна ситуація, інфекційний та епізоотичний процес, екологія мікобактерій, морфологічні ознаки, тинкторіальні, культуральні, біохімічні властивості ізолятів мікобактерій, діагностика мікобактеріозів.

Предмет досліджень:

велика рогата худоба – 2534 голів (клінічний огляд);

– 31 голова (діагностичний забій);

біоматеріал – 310 лімфатичних вузлів;

сире молока – 24 зразки;

культури мікобактерій – 81 ізолят.

Методи досліджень. У роботі використано такі методи досліджень: метод епідеміологічного (епізоотологічного) аналізу [70, 77], алергічний [33], клінічний [43], патологоанатомічний [45], гістоморфологічний [15], бактеріологічний [63, 68, 60], який включав у себе мікроскопічний (світлова і люмінесцентна мікроскопія), культуральний, який передбачав виділення чистих культур ізолятів НТМБ, вивчення біохімічних властивостей виділених ізолятів НТМБ з метою їх ідентифікації, а також статистичну обробку отриманих результатів [43].

Здійснення аналізу епідемічної ситуації щодо мікобактеріозів людини в країнах світу та в Україні було відправним пунктом і зрештою наслідком вивчення наукових джерел, у яких були висвітлені, на перший погляд, розрізнені дані, що розкривали різні сторони цієї медико-біологічної та соціально значимої проблеми гуманної медицини. Глибина пошуку дослідження обмежилася періодом 2000–2023 років. Контингент країн, що був охоплений у процесі нашого наукового пошуку, визначався наявністю публікацій з цієї тематики з наукових центрів цих країн.

Подібний підхід було здійснено стосовно вивчення напруженості епізоотичної ситуації щодо мікобактеріозів тварин у країнах світу та в Україні за період, що обмежувався 2000–2023 роками.

Епідеміологічному аналізу були піддані статті, що висвітлювали різні аспекти прояву епідемічного процесу, зокрема захворюваність на 100 тисяч населення, яку виражали в pcm (просантімілле), віковий і статевий, місцевий та заїжджий (туристи) контингент населення, коморбідність, видовий склад мікобактерій, а також фактори, які мали сприяючий або схиляючий вплив на зростання сприйнятливості населення до прояву інфекційного процесу за мікобактеріозу.

Зважаючи на те, що проблема мікобактеріозів у ветеринарній медицині, у силу різних причин не набула такого значення, як у гуманній медицині, епізоотологічному аналізу були піддані доступні наукові публікації, які стосувалися розкриття етіопатогенезу, клінічних симптомів та

патологоанатомічних змін за мікобактеріозів теплокровних і холоднокровних тварин, особливостей прояву епізоотичного процесу, методів діагностики. Особливу увагу було зосереджено на видовому складі ізолятів, виділених від хворих тварин.

Отримані дані в процесі моніторингу наукової літератури дозволили побачити проблему екології мікобактерій, епідемічний та епізоотичний процеси мікобактеріозів як єдине планетарне біологічне явище, що функціонує за єдиними законами і категоріями, якими воно постійно функціонує і знаходиться в нерозривну зв'язку і взаємодії із факторами зовнішнього середовища (природно-екологічного і соціально-економічного характеру).

Наступним етапом роботи було вивчення природи позитивних реакцій на туберкулін за проведення планових алергічних дослідження на туберкульоз в одному із благополучних щодо туберкульозу господарств молочнотоварного напрямку. Цю роботу було розпочато в час, коли достеменно було встановлено, що реакції корів дійного стада на туберкулін мають парааллергічну або псевдоалергічну природу, що істинною причиною цих реакцій є інфекційний процес спричинений НТМБ. Проте не вивченими залишалася низка питань, пов'язаних із етіопатогенезом, особливостями інфекційного та епізоотичного процесів, ефективністю методів передпосівної обробки біоматеріалів з метою виділення мікобактерій, методів їх ідентифікації, вивчення екології НТМБ в умовах господарства.

Епізоотологічне розслідування з метою з'ясування причинно-наслідкових зв'язків виникнення парааллергічних реакції на туберкулін у корів проводили за методикою вивчення епізоотичної ситуації [77].

Зважаючи на те, що природа парааллергічних реакцій на туберкулін була встановлена раніше [3], усі наступні алергічні дослідження тварин на туберкульоз проводили симультанною пробою з використанням туберкуліну для ссавців та ААМ (алерген атипових мікобактерій), яка зводилася до того, що кожній досліджуваній тварині ППД-туберкулін для ссавців в дозі 0,1 $см^3$

уводили в середній третині шиї з лівого боку, а ААМ (алерген атипових мікобактерій) у дозі 0,1 $см^3$ – із правого боку. Потовщення шкіри в місці уведення алергенів вимірювали кутиметром через 72±4 години після ін'єкції. Різницю між товщиною складки шкіри в місці уведення і товщиною шкіри, де не вводили алерген (в мм) оцінювали як реакцію на той чи інший алерген [35]. Результати вимірювань записували в журнал досліджень. Інтерпретацію результатів досліджень проводили таким чином:

негативна реакція – не спостерігається жодних клінічних проявів хвороби, потовщення складки шкіри не більше 2 мм;

сумнівна реакція – не спостерігається жодних клінічних проявів хвороби, потовщення складки шкіри більше 2 мм, але менше 3 мм;

позитивна реакція – спостерігаються (або не спостерігаються) клінічні прояви або збільшення товщини складки шкіри на 3 мм і більше [33].

Тварин, які дали позитивні реакції на один або обидва алергени, оглядали, звертаючи увагу на загальний стан, вгодованість, стан підшкірних лімфатичних вузлів (нормальні вони за розмірами чи збільшені), вимірювали температуру тіла [43].

За результатами алергічного та клінічного досліджень, а також зважаючи на фізіологічний стан та господарську цінність корів, на діагностичний забій з числа реагуючих відбирали тварин, які дали найбільші за розміром реакції на один або обидва алергени.

Діагностичні забої проводили на забійних пунктах, де були відповідні умови для патологоанатомічного дослідження внутрішніх органів та лімфатичних вузлів з метою, насамперед, не пропустити первинного афекту туберкульозу та виявити всі можливі патологічні зміни в них.

Проведення діагностичних забоїв тварин передбачало відбір біологічного матеріалу – уражених або змінених ділянок органів (легені, печінка, селезінка, нирки та відрізок товстого відділу кишечника, довжиною 10–15 см) чи тканин, а також таких лімфатичних вузлів, як-от заглоткові, піднижньощелепові, середостінні (медіастінальні), надвим’яні, брижові

(мезентеріальні). Матеріал упаковували в окремі підписані стерильні пакетики, які від кожної тварини поміщали в один пакет і упаковували в термосумку із холодоагентами.

Для гістологічного дослідження шматочки досліджуваних органів і лімфатичних вузлів розміром 1×1×1 см поміщали в баночки із 10% нейтральним формальдегідом. Для матеріалу від кожної тварини брали окрему баночку, а кожний орган чи лімфатичний вузол поміщали в марлевий мішечок із биркою, яка знаходилася на нитці ззовні баночки. Через добу розчин змінювали. Критерієм достатньої фіксації є рівномірне ущільнення об'єкта як з поверхні, так і на контрольному розрізі. Якщо кусочки тканини зафіксовані неповністю, то в центральній частині вона зберігає червоно-рожевий колір. Фіксацію проводили при кімнатній температурі.

Гістологічні дослідження проводили в лабораторії гістології та морфогенезу кафедри гістології та медичної біології Волинського національного університету імені Лесі Українки.

Вивчення гістоморфологічних змін проводили на парафінових гістозрізах, зафарбованих гематоксилін-еозином [8, 9]. Для цього перед заливкою в парафін фіксовані об’єкти обов’язково зневоднювали. Для зневоднення матеріалу використовували декілька порцій етилового спирту зростаючої концентрації. Тривалість перебування об’єктів у спиртах зумовлена їх розмірами, властивостями тканин і метою дослідження.

Перед зневодненням фіксовані шматочки тканин досліджуваного матеріалу ще раз вирізали, залишаючи шматочки таких розмірів 0,8×1×1 см. Шматочки лімфатичних вузлів після вирізки промивали в проточній воді і просушити на фільтрувальному папері.

Зневоднення промитих шматочків вузлів починали з 50° етанолу. У такій концентрації він не спричинює суттєвого стиснення та зміни тинкторіальних властивостей досліджуваних тканин. Зневоднення проводили ручною проводкою за кімнатної температури, без постійного помішування в етанолі зростаючої концентрації (50, 60, 70, 80, 96, 100).

Після зневоднення матеріал переносили в суміш спирт–о-ксилол (1:1) та орто-ксилол. Після цього матеріал витримували у о-ксилол-парафіновій суміші в термостаті (+37°С) та у двох порціях гістологічного парафіну (Leica systems) в термостаті (+56°С), забезпечуючи підтримку температури на 1–3° вище температури плавлення парафіну.

Після завершення проводки, кусочки матеріалу переміщали в пластикову форму і заливали розігрітим до 58–65°С парафіном. Після цього для отримання кращої консистенції парафінового блоку та якісніших зрізів проводили прискорене охолодження залитих об'єктів. Для цього форми поміщали в камеру холодильника. З затверділого парафіну розігрітим скальпелем вирізали блоки так, щоб по краю шматочка залишалося 1–2 мм.

Зрізи з парафінових блоків робили на санному мікротомі. Зрізи з ножа поміщали в підігріту до 37–40°С дистильовану воду, щоб зрізи розправилися. Розправлені зрізи розміщують на предметні скельця. Після розрівнювання зрізів на склі надлишок води акуратно видаляють за допомогою фільтрувального паперу і розміщують у термостат (37°С) на 12 год.

Перед перенесенням зрізів на предметні скельця їх попередньо знежирювали в суміші Нікіфорова впродовж декількох днів.

Наступним етапом є підготовка зрізів до фарбування, яка полягає у видаленні парафіну із зрізів, і досягається вона в процесі депарафінування та регідратації. Як розчинник парафіну використовують орто-ксилол. Для регідратації застосовують спирти низхідної міцності.

Депарафінування і регідратацію зрізів проводили у високих стаканчиках з притертими кришками. У перші два наливали орто-ксилол. У наступні два – 96° і 80° етанол. У кожній порції ксилолу предметні скельця витримували 3–5 хв., а у спиртах – по 2–3 хв. Перекладаючи скельця, акуратно промокали їхню торцеву частину об фільтрувальний папір, щоб не забруднювати наступні розчини. З 80° спирту скельця переносили в дистильовану воду на 5 хв. Після завершення дегідратації зрізів їх фарбували гематоксиліном і еозином. Попередньо готували барвники – гематоксилін та

розчин еозину. Після забарвлення гематоксиліном (експозиція 60 сек.), зрізи промивали в проточній водопровідній воді 15 хв., сполоскували дистильованою водою і дофарбовували водним розчином еозину 5 хв. Знову сполоскували дистильованою водою, а тоді шляхом проводки через спирт із різними концентраціями гістозрізи зневоднювали, просвітлювали в ксилолі і заключали в бальзам. Різку блоків проводили серійно у фронтальній та сагітальній площині на санному мікротомі (МС-2), товщина зрізів – 5 мкм. Зрізи забарвлювали гематоксиліном та еозином [9]. Фотографування гістологічних зрізів проводили на мікроскопі Primo Star 3 (ZEISS), цифрової камери Axiocam 208 (ZEISS) та спеціалізованого програмного забезпечення Z (ZEISS).

З метою вивчення ролі мікобактерій у розвитку інфекційного процесу та сенсибілізації організму корів, екології мікобактерій в об'єктах довкілля на території молочнотоварної ферми проводили бактеріологічне дослідження шматків паренхіматозних органів та лімфатичних вузлів, відібраних від тварин, забитих з діагностичною метою, що кожний раз було підтверджено господарсько-економічними показниками з боку дирекції господарства.

Передпосівну обробку біологічного матеріалу з метою виділення мікобактерій здійснювали трьома методами – за А.П. Алікаєвою, за А.А. Петровим та 10 % розчином три заміщеного натрію фосфату (ТНФ) [68].

Обробка біологічного матеріалу за А.П. Алікаєвою. Досліджуваний матеріал розрізали на шматочки розміром 0,5×0,5 см і заливали на 15 хв. 5% розчином H_2SO_4. Розчин кислоти зливали і матеріал заливали стерильним 0,85% розчином натрію хлориду (у подвійному до розчину кислоти об'ємі). Через 8 хв. розчин зливали і додавали незначну кількість (не більше 1 мл) 0,85% розчин натрію хлориду і старанно розтирали у ступці із стерильним піском до утворення однорідного гомогенату, з якого робили посіви по 0,25 мл в пробірки із середовищем Левенштейна-Йєнсена та готували мазки для фарбування за Ціль-Нільсеном та люмінесцентної мікроскопії [68].

Обробку матеріалу розчином ТНФ вважають більш щадним методом. У 10% концентрації ТНФ діє згубно на супутню мікрофлору, при цьому не пошкоджує мікобактерії навіть за 2–3-денного зберігання при низьких температурах, а також не впливає на здатність до росту на живильних середовищах. Метод обробки не має жорстоких обмежень у часі [60].

Досліджуваний матеріал нарізали малими шматками розміром 0,5×0,5 см (загальна маса матеріалу однієї проби 3–4 г), поміщали в стерильні флакони, заливали 10 мл 10% ТНФ, щільно закривали та поміщали на струшувач на 10 хв. Після цього флакони із деконтамінантом ставили в термостат на 20 год при 37°С. Потім флакони, не відкриваючи, центрифугували при 3000 обертів протягом 15 хв. Вважають, що за такого режиму центрифугування відбувається осадження 95% мікобактерій, що наявні у матеріалі. Далі біля 10 мл надосадової рідини відібрали стерильною піпеткою і зливали в дезінфекційний розчин. До залишкового матеріалу стерильно додали кілька крапель стерильного розчину 1% лимонної кислоти для отримання нейтрального pH, що контролювали універсальною індикаторною смужкою. Насамкінець, з метою зниження токсичного впливу на мікобактерії ТНФ та інших речовин осад промивали стерильним 0,85% розчином натрію хлориду методом центрифугування. Надосадову рідину видаляли, а шматки матеріалу розтирали із стерильним піском до утворення рівномірного гомогенату, із якого готували мазки для фарбування за Ціль-Нільсеном і для люмінесцентної мікроскопії та висівали в пробірки із середовищем Левенштейна-Йєнсена [60].

Обробку досліджуваного матеріалу 4% розчином калію гідроксиду (модифікований метод А.А. Петрова) частіше застосовують для виділення мікобактерій туберкульозного комплексу, проте він може бути використаним і для виділення атипових мікобактерій. Головне дотриматися головного правила – не перевищити тривалість обробки матеріалу лугом довше 40 хв. Основним є 4% розчин КОН. Досліджуваний матеріал нарізали дрібними шматочками розміром 0,5×0,5 см (масою до 3 г) у стерильну ступку,

розтирали із стерильним піском до утворення рівномірного гомогенату. Гомогенат заливали двократною кількістю 4% розчину КОН, струшували і витримували впродовж 10 хв. Після цього стерильним шпателем гомогенат переносили в стерильну центрифужну пробірку і центрифугували за 3000 обертів протягом 15 хв. Стерильною піпеткою відібрали луг, а до осаду додавали 15 мл стерильного 0,85% розчину натрію хлориду. Ще раз центрифугували. Надосадову рідину видаляли, а осад нейтралізували додаванням 1 мл 10% розчину лимонної кислоти, старанно перемішували і висівали на середовище Левенштейна-Йєнсена, готували мазки для фарбування за Цілем-Нільсенем та для люмінесцентної мікроскопії [60].

Фіксацію мазків для звичайної світлової та люмінесцентної мікроскопії проводили на полум'ї спиртівки – предметне скельце проводили над полум'ям тричі впродовж 3–5 сек. до зникнення ознаки запотівання або метанолом упродовж не менше 10 хв. [60].

Для забарвлення мазків використовували методику фарбування за Цілем-Нільсеном. Мікобактерії мають унікальну особливість – зберігати забарвлення карболовим фуксином після знебарвлення розчином 5% сульфатної кислоти чи солянокислим спиртом. Тому ці бактерії ще називають кислотостійкими. А для полегшення виявлення мікобактерій застосовують метиленовий синій, яким дофарбовують фон препарату. Процедура забарвлення має декілька етапів. На мазок клали смужку фільтрувального паперу та наливали забарвлюваний розчин (карболовий фуксин). Препарат повільно нагрівали над полум'ям спиртівки до появи легкої пари, не допускаючи закипання чи повного випаровування забарвлювального розчину на предметному склі. Контакт фарби із мазком тривав не менше на 5 хв. Після цього фільтрувальний папір видаляли, а мазок змивали слабким струменем дистильованої води. Тоді на мазок наносили знебарвлювальний розчин – 5% сульфатну кислоту на 3 хв. і змивали його слабким струменем дистильованої води. Останній етап – дофарбовування мазка 0,3% розчином метиленового синього впродовж 60 с. Після цього

слабким струменем дистильованої води змивали барвник із мазка, злегка струшували великі краплі води і препарат висушували на повітрі у вертикальному положенні: не можна залишки води висушувати шляхом прикладання фільтрувального паперу до поверхні препарату [60, 45, 15,].

Завдяки високому вмісту воскоподібних речовин у поверхневих структурах мікобактерій, флуорохромні барвники (родамін С, аурамін О та інші) легко зв'язуються з ними, що й було відправним моментом для застосування люмінесцентного методу виявлення мікобактерій у мікропрепаратах. Кращі результати дає люмінесцентна мікроскопія мікропрепаратів, пофарбованих аураміном. Для люмінесцентного фарбування мікропрепаратів необхідні такі реактиви:

- спиртовий розчин аураміну О – забарвлюваний розчин;
- 0,5% розчин солянокислого спирту – знебарвлюючий розчин;
- 0,5% розчин перманганату калію – дофарбувальний розчин.

Процедура забарвлення. На фіксований мазок через паперовий фільтр наносили забарвлюючий розчин на 15 хв. Мікропрепарат промивали дистильованою водою та наливали знебарвлюючий розчин на 2 хв. Знов промивали препарат дистильованою водою і дофарбовували розчином перманганату калію з використанням фільтрувального паперу протягом 2 хв. Мазок промивали та залишали препарат на повітрі за кімнатної температури у вертикальному положенні [60].

Досліджуваний матеріал після передпосівної обробки, як було описано вище, висівали, насамперед, на тверде середовище Левенштейна-Йєнсена, перевагою якого є простота приготування, тривалий термін зберігання у холодильнику (до 4 тижнів), високі ростові якості для більшості штамів мікобактерій та пригнічуваний вплив на супутню мікрофлору [60].

Для приготування середовища Левенштейна-Йєнсена використовували основу для середовища Левенштейна-Йєнсена та свіжі курячі яйця (до 7 діб). Яєчну масу готували, дотримуючись правил асептики. Яйця збивали міксером. Яєчну емульсію змішували з готовою основою середовища

Левенштейна-Йєнсена, яку попередньо стерилізували за 121° С протягом 20 хв. Для згортання середовища використовували спеціальний пристрій – згортувач. Згортання яєчної маси середовища тривало впродовж 45 хв. за 85° С [60].

Ідентифікацію ізолятів мікобактерій проводили на основі їх культуральних властивостей та низки біохімічних тестів. Із особливостей росту ізолятів на щільному живильному середовищі враховували такі ознаки, як тривалість періоду від моменту посіву до моменту появи візуально видимих колоній, наявність у них пігментації, ріст за температури 25, 37 і 45 °С, ріст на яєчному поживному середовищі із саліцилатом натрію та із 5 % вмістом NaCl [16], форма, розміри і стан поверхні колоній, морфологічні ознаки ізолятів та їх тинкторіальні властивості. Як біохімічні тести з метою ідентифікації ізолятів кислото- та лугостійких ізолятів використовували наступні тести, як-от визначення каталазної активності за методом (Middlebrook C., 1954) [17], реакція гідролізу твін-80 за методом (Wayne G. 1962), амідазна активність за методом (Taequet A. et al. 1967), у модифікації (Ільїної А.Б. 1978), реакція редукції телуриту калію за методом (Kulburn J. et al., 1969), толерантність до за методом (Kestle D., 1967).

Отримані результати досліджень обробляли статистично з використанням програм Microsoft Excel і Statistika 99 Edition на персональному комп’ютері. Різницю вважали вірогідною при $P \leq 0,05$, $P \leq 0,01$ та $P \leq 0,001$ (Лапач С.Н., 2001) [43].

Висновок до розділу 2. Комплексний усесторонній методологічний підхід до вирішення кожного із поставлених завдань дисертаційної роботи дасть можливість досягти виконання поставленої мети.

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1. Епідеміологічні аспекти мікобактеріозів людини у країнах світу та в Україні

Мікобактеріальні інфекції людини мають значне поширення в країнах світу. Медико-соціальне значення цих захворювань з кожним роком зростає. Про це свідчать дані підсумкової доповіді Всесвітньої організації охорони здоров'я про туберкульоз за 2022 рік, у якій сказано, що щорічна кількість випадків діагностування цієї хвороби у світі становить біля 6,4 мільйонів [202]. Другим за поширенням збудником мікобактеріальних інфекцій є нетуберкульозні мікобактерії (НТМБ). Їх чисельність нараховує біля 200 видів і 14 підвидів. При цьому їх кількість постійно зростає [140]. Дані наукової літератури свідчать, що мікобактеріози, які спричиняються бактеріями нетуберкульозного комплексу – важлива проблема гуманної медицини [79, 119]. Зростанню актуальності цієї проблеми додає існування низки невизначеностей щодо лікування нетуберкульозних мікобактеріальних хвороб легень (НТМБ-ХЛ), невивченість епідеміологічних особливостей їх виникнення, перебігу та згасання, відсутність уніфікованості методів комплексної діагностики мікобактеріозів узагалі і лабораторної зокрема, значні розбіжності в протоколах лікування, заходах профілактики, які нерідко беруться з Інструкцій по боротьбі з іншими інфекціями [118, 206].

Мікобактеріози, які спричиняються НТМБ, – актуальна проблема ветеринарної медицини як у світі [55, 147], так і в Україні [18, 64]. Так, щорічно в Україні за планових алергічних досліджень корів на туберкульоз у 250 і більше молочнотоварних господарствах виявляють тварин, які дають парааллергічні реакції на туберкулін, що свідчить про сенсибілізацію їх організму атиповими мікобактеріями, тобто мікобактеріями нетуберкульозного комплексу [30]. Дослідження, проведені Boyko P. et al. (2020), свідчать про те, що в організмі тварин, які позитивно реагували на внутрішньошкірне уведення ППД-туберкуліну, виявлено патологоанатомічні

і патоморфологічні зміни та виділено НТМБ, зокрема *M. scrofulaceum* і *M. fortuitum*, що було підставою для висновку про наявність інфекційного процесу мікобактеріозу в реагуючих на туберкулін корів та функціонування в стаді корів епізоотичного процесу мікобактеріозу, спричиненого НТМБ [5].

Мікобактеріози продуктивних, домашніх і диких тварин мають значене поширення і в інших країнах світу [85, 92]. Вивчення особливостей екології, видового складу, джерел та резервуарів природного існування НТМБ – важливий сегмент наукових досліджень у контексті розгляду їх як потенційних патогенів людського організму [97, 112].

Відсутність даних про діагностування мікобактеріозів, що спричиняються НТМБ, в офіційних звітах державних установ, які здійснюють епідеміологічний нагляд і контроль за інфекційними хворобами в Україні, а також в єдиному реєстрі ВООЗ, не дають можливості відтворити повну картину просторово-часової динаміки напруженості епідемічної ситуації щодо мікобактеріозів НТМБ-походження у країнах світу.

Тому метою нашого дослідження була систематизація та епідеміологічний аналіз результатів досліджень мікобактеріозів людей, проведених науковцями з різних країн, включаючи Україну, що дасть змогу глибше розкрити етіопатогенетичні аспекти та особливості прояву епідемічного процесу цього виду інфекційної патології населення. Епідеміологічному аналізу піддано наукові роботи, що стосуються НТМБ у спричиненні інфекційного процесу мікобактеріозів людини, форм та тривалості перебігу мікобактеріозів, впливу факторів зовнішнього середовища на їх прояв та особливостей прояву мікобактеріозів населення в різних країнах світу за період 2000–2023 рр.

Мікобактерії довкілля – потенційні збудники мікобактеріозів людей і тварин. Мікобактеріози (лат. *mycobacteriosis)* – інфекційні захворювання людини і тварин, що спричиняються НТМБ, як от *Mycobacterium avium, M. fortuitum, M. kansasii, M. scrofulaceum, M. xenopi* та інші [62]. Їх ще називають атиповими мікобактеріями (АТМБ) або мікобактеріями довкілля

(environmental mycobacteria) [181]. На сьогодні мікобактеріози – одна із важливих проблем охорони здоров'я у всьому світі [112, 166].

Переважаючим видом серед НТМБ – збудників мікобактеріозів людини є *M. avium* або комплекс *M. avium (MAC*). *M. avium* вважають убіквітарним мікроорганізмом, його виділяють із забрудненої води, ґрунту та інших абіотичних об'єктів [126]. Відмічені тенденції зростання захворюваності мікобактеріозу, що викликані комплексом *MAC,* наразі остаточно не з'ясовані. Вважають, що інфікування людини *MAC,* насамперед, пов'язане з множинністю джерел збудника інфекції [109].

Встановлення причинно-наслідкових зв'язків між джерелом збудника інфекції та особливостями епідемічного процесу є важливою ділянкою в розробці стратегії профілактичних заходів та контролю МАС-інфекції, а також більшості інфекційних захворювань, що спричиняються НТМБ. Роботи більшості науковців свідчать, що більшість АТМБ є сапронозами тобто, що джерелом збудників цих інфекцій є абіотичне середовище [194]. Лише деякі з них такі, як *M. avium-intracellulare complex, M. kansasii, M. abscessus, M. chelonae* та низка інших є факультативними, а нерідко й завершеними патогенами [19]. До останніх можна віднести *M. ulcerans* – збудника виразки Бурулі, що спричиняє це захворювання у регіонах зі спекотним тропічним кліматом, зокрема в Африці, Австралії та Мексиці, [147] і є свідченням триваючої еволюції патогенності цих мікроорганізмів [194].

Американська асоціація торакальних лікарів розробила мікробіологічні, клінічні та радіологічні критерії встановлення етіологічної ролі НТМБ у ВІЛ-позитивних і ВІЛ-негативних пацієнтів [103]. Такий крок був зроблений у відповідь на виклик, спричинений значним поширенням НТМБ у біотичних та абіотичних об'єктах довкілля. Тому підтвердження етіопатогенетичної ролі НТМБ потребує неодноразового виділення їх з об'єкту дослідження.

Виділення та ідентифікація НТМБ відбувалися майже одночасно із вивченням тинкторіально-морфологічних та культурально-біохімічних та біологічних властивостей *M. tuberculosis.* Але їхньої ролі як патогенів не визнавали. Лише в середині 50-х років XX ст. було доведено їх роль у виникненні легеневих захворювань людини. У 1954 році було уведено класифікацію НТМБ, яку тепер називають класифікацією E. Runyon [175]. Мікобактерії, у відповідності до цієї класифікації, відносять до 4 груп. Критеріями віднесення мікобактерій до цієї чи іншої групи взято такі показники, як швидкість зростання, морфологія колоній та здатність до утворення пігменту. У клінічний практиці найчастіше виділяють такі види НТМБ, як *M. avium-intracellulare complex (MAC-complex), M. kansasii, M. fortuitum, M. abscessus, M. chelonae, M. marinum* та низку інших видів. НТМБ нерідко ізолюють з ґрунту, води та інших абіотичних об'єктів довкілля [20].

Вивчення особливостей виникнення, етіопатогенезу, перебігу та реконвалесценції мікобактеріозів у різних країнах світу і в Україні, насамперед, стосується НТМБ, які були виділені та ідентифіковані від пацієнтів з інфекційними хворобами легень. В той же час ідентифікація ізолятів НТМБ, виділених у випадках інфекційних захворювань шкіри, м'яких тканин та окремих органів, піддаються епідеміологічному аналізу значно рідше [84].

Gopalaswamy R. et al. (2020), аналізуючи результати власних досліджень і мікробіологічних досліджень клінічних зразків, проведених низкою інших дослідників, відзначають, що НТМБ із позалегеневих тканин (гайморові і лобні пазухи, рани і шкіра) виділяли нерідше, ніж із легеневих зразків [118].

Низка фактів свідчить про багатовекторність патогенної дії мікобактерій стосовно тканин і органів інфікованого організму. А це вкотре підтверджує наявність у НТМБ різноманітних факторів агресії, які контролюються хромосомними або позахромосомними факторами

спадковості і при цьому, по-різному, проявляють себе залежно від впливу факторів зовнішнього середовища, тобто мають фенотиповий прояв [99].

Епідемічний процес – складне соціально-біологічне явище, що виникає як наслідок взаємодії мікроорганізмів та макроорганізмів на популяційному рівні і проявляється специфічними інфекційними станами серед людей (хворобою чи носійством) та забезпечує збереження збудника інфекції в природі як біологічного виду. Епідемічний процес – це ланцюг пов'язаних один з одним інфекційних станів людей, який виникає і функціонує завдяки взаємодії трьох ланок – джерела збудника інфекції, механізму передачі збудника інфекції та сприйнятливого організму, що послідовно відтворюється [12]. Ця взаємодія відбувається на тлі впливу різноманітних факторів довкілля [74]. За мікобактеріозів останній чинник зазвичай відіграє вирішальну роль у прояві інфекційного процесу.

З точки зору класичної епідеміології джерелом НТМБ – збудників мікобактеріозів людини є інфіковані НТМБ люди [73]. Проте слід зауважити, що перша ланка епідемічного ланцюга за мікобактеріозів вивчена недостатньо. Одна із причин такого стану – доволі молодий вік проблеми мікобактеріозів. З іншого боку, достеменно встановлено, що НТМБ – це убіквітарні організми. бо вони присутні в окремих біотопах людського організму, ґрунті, воді, кормах, біоплівках та аерозолях тощо [112]. Вони є природними мешканцями людського середовища, особливо систем розподілу питної води. Таким чином, цілком ймовірно, що впливу НТМБ кожна людина піддається щодня. Це є однією із об'єктивних причин зростання захворюваності на мікобактеріози, що спричиняються НТМБ. Зважаючи на це, очевидним є факт постійного зростання з року в рік захворюваності жителів планети на мікобактеріози, які викликаються мікобактеріями довкілля [200]. Це відбуватиметься завдяки підвищенню рівня обізнаності про ці мікроби як збудників захворювань людини (суб'єктивний фактор), а головним чином внаслідок вдосконалення методів виявлення, культивування та ідентифікації самих збудників (об'єктивний чинник) [188].

Деякі автори (Tran Q. & Han X., 2014) вважають, що вивченню мікробіологічних характеристик НТМБ через низку причин приділяється недостатньо уваги [193]. Так, мікобактеріози важко піддаються ідентифікації класичними методами діагностики тому, що маючи туберкульозоподібну картину клінічного перебігу вони нерідко формують змішані із туберкульозом інфекції. Слід зважати на те, що атипові мікобактерії, володіючи широким спектром антибактеріальної стійкості, є потенційними патогенами як для людини, так і тварин [206]. Встановлено, що майже 80% випадків інфікування людей викликаються *M. avium complex*. При цьому найчастіше НТМБ ізолюють від осіб, які інфіковані ВІЛ, а за вмісту в крові CD^{4+}лімфоцитів менше, ніж 50/мкл виникає дисемінований мікобактеріоз, збудником якого зазвичай (у 90 % випадків) є *MAC* [55].

Встановлено, що основним резервуаром *M. avium* є відкриті водойми, звідки вони потрапляють в людський організм у вигляді аерозолів як наслідок природного утворення аерозолів над поверхнею води. Нерідко джерелом НТМБ стають хворі свійські птахи. Стійкості *M. avium* і *M. intracellulare* у системах розподілу питної води може сприяти дезінфекція. Було встановлено, що *M. avium* і *M. intracellulare* у багато разів стійкіші до хлорвмісних дезінфектантів, ніж інші водні мікроорганізми. Знезараження питної води призводить до переважання популяції мікобактерій над іншими мікроорганізмами в питній воді. А тому за відсутності конкурентної мікробіоти повільно зростаючі НТМБ можуть проростати в системах розподілу води 108].

Ознайомлення із особливостями основних ланок епідемічного процесу за мікобактеріозів людини не розкриває повноти медико-соціальної значимості цього виду інфекційної патології. Для цього необхідно вивчити просторово-часові параметри поширення мікобактеріозів в Україні та країнах світу. Це дасть змогу встановити існуючі та виявити нові закономірності прояву епідемічного процесу та його рушійних сил за мікобактеріозів людей.

Насамперед, посилаючись на дані наукових публікацій, розглянемо просторово-часові закономірності прояву епідемічного процесу за мікобактеріозів в Україні на початку XXI століття. Треба відзначити, що, незважаючи на складне економічне становище медичної науки вцілому, напружену епідемічну ситуацію щодо низки інфекційних хвороб (кір, COVID-19, туберкульоз та ін.), а в останні роки і війна із російською федерацією, вивченню цього питання в нашій країні приділяється значна увага, про що свідчать численні наукові публікації [49, 50, 76].

Слід відзначити, що в більшості розвинених країн світу зростання захворюваності мікобактеріозами, що спричиняються НТМБ, привертає все більшу увагу вчених. При цьому, як відзначають окремі науковці, географічне розташування країни впливає на видову поширеність НТМБ [111, 208].

Тодоріко Л.Д. і Шевченко О.С. (2016), вивчаючи напруженість епідемічної ситуації щодо мікобактеріозів в Україні, встановили, що захворюваність населення цією недугою становить 2,3 на 100 тис. населення (2,3 pcm). При цьому мікобактеріози проявляються в різних формах – легеневій (вузлова бронхоектатична форма зазвичай виникає в жінок старшого (70 років і більше) віку, кавернозній (фіброзно-вузлова форма є типовою для чоловіків 40–50-річного віку, особливо в тих, які палять або зловживають алкоголем; у молодих людей, які не палять, спостерігається гіперчутливий легеневий синдром, що зазвичай перебігає підгостро). Легенева форма мікобактеріозу спостерігається в 94 % випадків. Дисеміновані мікобактеріози, які розвиваються в пацієнтів з IV клінічною стадією СНІДу, після трансплантації нирки або серця, при тривалому використанні ГКС (глюкокортикостероїдів) і хворих на лейкемію, явище в клінічній практиці нерідке. Збудниками 2/3 мікобактеріозів є *M. avium*, *M. gordonae, M. xenopi, M. intracellulare* і *M. fortuitum,* а майже 7 % ізолятів НТМБ не вдається ідентифікувати. Автори відзначають, що однією із форм прояву мікобактеріозів є ураження лімфовузлів, яке переважно виявляють у

дітей до 5-річного віку. Особливістю є те, що уражаються лімфовузли з однієї сторони – тонзилярні, навколовушні і/або підщелепні. При цьому збудником переважно є МАС. Без лікарського втручання наступає самовільне розкриття лімфовузла з утворенням нориці [62].

Л.Д. Тодоріко і О.С. Шевченко (2016), Л.Д. Шевченко та ін., (2019) довели, що в клініці внутрішніх інфекційних хвороб мікобактеріози діагностуються все частіше, зростає роль НТМБ у патології органів дихання. При цьому вони протікають з клінікою, що подібна до такої за туберкульозу, часто формують мікст-інфекції з туберкульозом, а тому важко діагностуються [62, 73].

Зважаючи на широкий спектр антибактеріальної стійкості, НТМБ усе більше розглядаються як потенційні патогени для людини.

Автори, аналізуючи фактори ризику виникнення мікобактеріозів, приходять до висновку, що до них слід віднести захворювання органів дихання, зокрема ХОЗЛ, пневмоконіози, муковісцидоз, бронхоектази; перенесений туберкульоз; роботу із сільськогосподарськими тваринами й птицею; гіпермобільність суглобів; пролапс мітрального клапана, прийом ГКС більше 15 мг/добу довше 14 днів, ревматоїдний артрит; гастроезофагеальна рефлюксна хвороба, а також приймання імуносупресантів, які застосовують при пересадці органів [55, 62].

Вивчення видової різноманітності НТМБ на основі фенотипічної ідентифікації за допомогою культуральних та біохімічних методів на території України протягом 2014–2018 рр. було виділено такі види НТМБ, як *M. avium-complex, M. kansasii, M. xenopi, M. simiae, M. fortuitum, M. scrofulaceum* і *M. chelonae*. *M. avium-complex* виділяли найчастіше – 45,5 %, *M. fortuitum* – 13,5 %, *M. xenopi* – 7,1 %, *M. kansasii* – 5,8 % та *M. scrofulaceum* – 3,2 %. Слід відзначити, що повільно зростаючі мікобактерії виділялися у 6 разів частіше, ніж швидко зростаючі [20].

За допомогою генотипової ідентифікації культур мікобактерій із застосуванням наборів Geno Type Mycobacterium CM/AS ідентифіковано 11

видів НТМБ. При цьому 7 видів були віднесені до груп повільно зростаючих НТМБ (I–III групи за Раньоном: *M. avium, M. intracellulare, M. gordonae, M. kansasii, M. xenopi, M. malmoence, M. scrofulaceum*), і 4 види – до групи швидко зростаючих НТМБ (IV група за Раньоном: *M. abscessus, M. chelonae, M. fortuitum, M. peregrinum*). Серед повільно зростаючих НТМБ частота виділення *MAC* сумарно становила 53,24 % (71/133). Проте чітко прослідковувалися регіональні особливості у поширенні певних видів НТМБ. Так, *MAC* переважали серед повільно зростаючих НТМБ у Дніпропетровській, Житомирській, Чернігівській, Чернівецькій і Черкаській областях. Але були області, у яких *MAC* не переважали в групі повільно зростаючих НТМБ, зокрема у Київській і Полтавській. У Чернівецькій області в групі *MAC* переважали *M. intracellulare*, а не *M. avium*, тоді як в усіх областях переважаючим видом в групі *MAC* були *M. avium*. Серед швидко зростаючих НТМБ переважаючим видом в усіх регіонах України був вид *M. fortuitum*, на долю якого припадало 86,96 % серед усіх ідентифікованих швидко зростаючих НТМБ. *M. abscessus, M. chelonae* і *M. peregrinum* виділялися дуже рідко [62].

З наведених даних видно, що робіт, присвячених вивченню етіопатогенезу та епідеміологічних особливостей мікобактеріозів людини в Україні ще недостатньо. Зрештою й ці роботи головно висвітлюють патологію, пов’язану із клінічними випадками туберкульозу або хронічних інфекцій дихальних шляхів. Мікобактеріози людини в Україні в балансі інфекційних захворювань людини – проблема актуальна, багатогранна, з багатьма невідомими, які потребують вивчення як на рівні інфекційного, так і на рівні епідемічного процесів.

Беручи це до уваги, нами проведено моніторинг наукової літератури, що стосується висвітлення етіопатогенезу, особливостей прояву інфекційного та епідемічного процесів мікобактеріозів за період 2000–2023 рр. Епідеміологічному аналізу були піддані результати досліджень

наукових центрів, колективні та одноосібні роботи науковців з різних країн світу.

Японські вчені провели багатофакторний епідеміологічний аналіз випадків клінічного прояву хвороб легень, що спричиняються НТМБ, (НТМБ-ХЛ) і туберкульозу, а також виділення мікобактерій у лікарні Фукуджуджі за період 2006–2016 рр. з метою прогнозування епідемічної ситуації. При цьому найчастіше виділялися мікобактерії комплексу *M. avium* (87,3%), комплексу *M. abscessus* (5,5%) і *M. kansasii* (3,9%) [116]. Ідентифікацію ізолятів мікобактерій проводили відповідно до мікробіологічних критеріїв Американського торакального товариства і Товариства інфекціоністів Америки [188].

Корейські вчені, вивчаючи особливості епідемічного процесу щодо мікобактеріозів населення Південної Кореї за період 2001–2015 рр., встановили, що захворюваність НТМБ-ХЛ за цей період зросла майже у 8 разів, а саме із 7,0 pcm (у 2001 р.) до 55,6 pcm (у 2015 р.). У Південній Кореї найчастіше спричиняли НТМБ-ХЛ мікобактерії комплексу *M. avium* (n = 1746; 75%), значно рідше – *M. abscessus* (n = 519; 22%) і *M. kansasii* (n = 64; 3%) [133].

Зростання занепокоєння у сфері охорони здоров'я в Китаї викликають хвороби легень, що спричиняються НТМБ. З кожним роком вони діагностуються все частіше. Так, у Південному Китаї протягом періоду (2013–2016 рр.) серед збудників мікобактеріозів населення найчастіше ідентифікували *M. avium complex* (44,5%), *M. abscessus complex* (40,5%), значно рідше *M. kansasii* (10,0%) і *M. fortuitum* (2,8%). Китайські науковці, вивчаючи етіологію та епідеміологічні особливості мікобактеріозів, встановили, що інфікування пацієнтів швидкоростучими мікобактеріями є значно вищим, ніж повільно ростучими; ризик інфікування швидкоростучими мікобактеріями зі збільшенням віку різко зростає; хвороби легень, спричинені швидкоростучими мікобактеріями, більш поширені серед мігрантів, ніж серед місцевого населення; збудниками мікобактеріозів

найчастіше були *M. avium complex, M. abscessus complex, M. kansasii* і *M. fortuitum* [190].

Науковцями, які вивчали окремі аспектів епідеміології мікобактеріозів, спричинених НТМБ, у країнах Близького Сходу було встановлено, що із 1084 штамів, ідентифікованих із клінічних зразків, 434 (40,0%) були виділені від пацієнтів Ірану, 280 (25,8%) – Туреччини, 137 (12,6%) – Саудівської Аравії, 116 (10,7%) – Пакистану, 47 (4,3%) – Єгипту, 43 (3,9 %) – Лівану, 14 (1,2%) – Кувейту та 13 (1,1%) – Оману. При цьому 637 (58,7%) ізолятів були ідентифіковані як повільно ростучі мікобактерії, а 447 (41,2%) – як швидкоростучі; найчастіше виділяли *M. fortuitum* (269 із 447; 60,1%) [184, 197].

Аналіз отриманих даних із країн Близького та Середнього Сходу показує, що мікобактеріози в країнах цього регіону досить поширене явище, а тому повинні знаходитися під постійним контролем інфекціоністів.

На американському континенті, як свідчать результати аналізу наукових публікацій, мікобактеріози населення НТМБ-походження реєструють щорічно і майже в усіх країнах континенту. Так, у США захворюваність на мікобактеріози, спричинені НТБМ, впродовж 2015–2017 рр. коливалася в межах 2,3–3,9 pcm. Захворюваність населення на НТМБ-ХЛ у 2019 році була значно вища, ніж захворюваність на туберкульоз. Епідеміологічний аналіз отриманих даних підтверджує неухильне щорічне зростання захворюваності НТМБ-ХЛ на 8% [188].

При цьому, як свідчать результати епідеміологічного моніторингу мікобактеріозів у США, головна увага у вивченні етіопатогенезу приділяється НТМБ, яких ізолюють від пацієнтів з легеневою патологією, в той же час як інфекції шкіри, м’яких тканин, які спричиняються мікобактеріями, піддаються аналізу значно рідше. Так, із клінічних зразків від 1033 пацієнтів Північної Кароліни (США) найчастіше із позалегеневих тканин (гайморові і лобні пазухи, рани і шкіра) виділяли та ідентифікували *M. chelonae* і *M. fortuitum* (обидва види швидкоростучі), тоді як з легеневих зразків ідентифікували в основному *M. avium* [185].

Подібну картину спостерігаємо і в Канаді. Так, епідеміологічним аналізом результатів мікробіологічних досліджень 20617 клінічних зразків від пацієнтів із хворобами легень населення штату Онтаріо за період 2001–2013 рр. встановлено, що у 10936 випадках (53%), ізольовані НТМБ, зокрема *avium* і *M. abscessus complex.* Ці види НТМБ частіше виділяли із клінічних зразків від осіб жіночої статі. Цей факт заслуговує на увагу інфекціоністів, хоча потребує неодноразового підтвердження, щоб віднести його до розряду об'єктивної закономірності [142].

Подібну картину спостерігаємо в країнах Південної Америки. На цьому континенті захворюваність на НТМБ-легеневі хвороби неухильно зростає. Так, у штаті Ріо-Гранді-ду-Сул (Бразилія) упродовж 2003–2013 рр. від 100 пацієнтів з НТМБ-ХЛ найчастіше виділяли та ідентифікували *M. avium complex* – у 35% випадків; *M. kansasii* – у 17% і *M. abscessus* – у 12% [98].

Епідеміологічним аналізом даних, отриманих колективами науковців американського та азійського континентів, свідчать про те, що в інфекційній патології людини в країнах азійського континенту домінуючі види НТМБ такі ж, як і в американських країнах, тобто НТМБ, що спричиняють мікобактеріози людей в азійських країнах, мало відрізняються за вірулентністю від видів, які ізольовані від пацієнтів в американських країнах. Тобто можна стверджувати, що фактори патогенності в основних видів мікобактерій, які причетні до етіопатогенезу мікобактеріозів, не мають особливих відмінностей. З іншого боку, виявлені закономірності свідчать про те, що еволюція патогенності мікобактерій відбувалася одночасно на всіх континентах. Звідси, основні механізми етіопатогенезу мікобактеріозів здійснювалися на тлі взаємодії популяцій мікроорганізмів і макроорганізмів. Визначальною функцією з боку популяції мікроорганізмів було формування та реалізація факторів патогенності, а з боку популяції макроорганізмів – удосконалення механізмів специфічного імунітету щодо цих патогенів.

Інфекції, спричинені НТМБ, протягом останніх двох десятиріч у країнах ЄС мають тенденцію до загострення епідемічної ситуації. Так,

щорічно як в окремих країнах, так і вцілому на континенті зростає захворюваність на мікобактеріози різних верств населення [127]. Так, у Греції епідемічна ситуація щодо НТМБ-ХЛ до кінця не з'ясована, хоча епідеміологічним аналізом результатів бактеріологічних досліджень клінічних зразків за період 2007–2013 рр. встановлено, що захворюваність на легеневі інфекції НТМБ походження становлять 18,9 pcm серед стаціонарних пацієнтів і 8,8 pcm – серед амбулаторних. Загалом у мікробному спектрі було ідентифіковано 13 видів НТМБ, серед яких найчастіше виділяли *M. avium* – 13%, *M. intracellulare* – 10%, *M. gordonae* – 14%, *M. fortuitum* – 12%. Ідентифікацію ізолятів проводили за мікробіологічними критеріями, які встановлені асоціаціями торакальних лікарів і лікарів інфекціоністів Америки [157].

НТМБ відіграють значну роль в етіології інфекційних хвороб легень і в інших країнах ЄС. Так, у Франції серед 1582 пацієнтів з муковісцидозом легень питома вага НТМБ у ускладненнях цієї патології сягала 3,7–9,6%. Із клінічних зразків найчастіше виділяли *M. abscessus complex* та *M. avium complex*. Важливо, що ізоляти *M. abscessus complex* переважали в групах осіб віком 11–15 років, у той час як ізоляти *M. avium complex* – у пацієнтів старше 25 років. Епідеміологічним аналізом поширеності інфекційних захворювань, спричинених НТМБ, у лікарні Університету Бордо (Франція) за період 2002–2013 рр. встановлено, що НТМБ-ХЛ виявлено в 170 пацієнтів, що становило 54,1%, інфекції шкіри та м'яких тканин – у 72 пацієнтів (22,9%), дисеміновані випадки – у 33 пацієнтів (10,6%), лімфаденіти – у 24 пацієнтів (7,7%), інфекції кісток і суглобів – у 9 пацієнтів (2,9%) та решта (1,8%) становили інвазивні (катетерні) інфекції. Серед 16 ідентифікованих видів НТМБ найчастіше виділялися *M. avium* – 31,8% і *M. intracellulare* – 20%, *M. marinum* – 13,5%, *M. kansasii* – 10,6%, *M. xenopi* – 9,4%. У загальному балансі ідентифікованих НТМБ швидко зростаючі мікобактерії становили 9,4%, а повільно зростаючі – 5,3% [90].

Przybylski G. et al. (2023), вивчаючи етіопатогенетичні та епідеміологічні аспекти інфекційних хвороб легень, спричинених НТМБ, у Польщі за 10-річний період (2013–2022 рр.), встановили, що питома вага НТМБ-ХЛ становила 37,7 % – із клінічних зразків від 395 пацієнтів з інфекційною патологією легень у 149 ідентифікували НТМБ. Найчастіше причиною НТМБ-ХЛ були *M. kansasii* (51,68%) і *M. avium complex* (46%) [167].

Rindi L. Garzelli C. (2015) в Італії за період 2004–2014 рр. провели тестування та епідеміологічний аналіз результатів бактеріологічних досліджень 42055 клінічних зразки, відібраних у 15000 пацієнтів з підозрою на мікобактеріальну інфекцію. За результатами цих досліджень було встановлено, що мікобактерії були виділені від 595 пацієнтів (4 % до загальної кількості обстежених пацієнтів). У 448 (75,3 %) пацієнтів ідентифіковано *M. tuberculosis complex*, а НТМБ – у 147 (24,7 %) пацієнтів. Загалом ідентифіковано 16 видів НТМБ. *M. avium subsp. hominissuis* виявився найпоширенішим серед них – (41,5%). *M. intracellulare* зайняв другу позицію – 14,3 %, *M. gordonae* – третю (11,6 %), *M. xenopi* – четверту (9,5 %), *M. fortuitum* – п’яту (6,8 %) та M. kansasii – шосту (4,8 %) [173].

Чеські науковці (Modrá H., Ulmann V., Caha J., Hübelová D., Konečný O., Svobodová J., Weston R.T., Pavlík I.; 2019), досліджуючи корелятивні зв’язки між захворюваність на мікобактеріози населення із низкою соціально-економічних та екологічних факторів за період 2012–2018 рр. на історичних територіях Моравії та Сілезії (Чеська Республіка), встановили, що видовий профіль НТМБ та рівень захворюваності, спричинених НТМБ, значно різнилися на цих територіях. Зокрема, встановлено, що як етіологічний чинник найчастіше виступали такі НТМБ як *M. avium-intracellulare*, *M. kansasii* і *M. xenopi*. Захворюваність населення на НТМБ-ХЛ становила 1,10 pcm. Епідеміологічною особливістю прояву мікобактеріозів у цих регіонах було те, що серед чоловіків захворюваність на мікобактеріози становила 1,33 pcm, тоді як серед жінок – 0,88 pcm. Автори припускають, що

географічні умови проживання людей мають вплив на видовий склад НТМБ – збудників мікобактеріозів, а вищу захворюваність на мікобактеріози та підвищену сприйнятливість чоловіків порівняно із жінками до НТМБ пояснюють провокуючим впливом таких факторів як гіподинамія, психогенні стреси або/і тютюнопаління, зловживання алкоголем тощо) на чоловічий організм [148].

Колективом великобританських вчених (Davies B.S., Roberts C.H., Kaul S., Klein J.L., Milburn H.J.; 2012) було проведене ретроспективне дослідження інфекційних хвороб легень, які були спричинені НТМБ, у лондонській навчальній лікарні за період 2000–2007 рр. Як критерії ретроспективного аналізу слугували такі показники: вік пацієнтів – старше 18 років з ВІЛ-негативністю; лише повільно зростаючі культури мікобактерій, які відповідали критеріям Американського торакального товариства. Було встановлено, що із клінічних зразків 93% пацієнтів були ідентифіковано *M. kansasii*, у 63% – *M. avium intracellulare*, у 60% – *M. malmoense* і у 25% – *M. xenopi*. Дослідники зауважують, що в країні до цих пір немає єдиної думки щодо оптимальних схем лікування НТМБ-ХЛ [105].

Zomer D., van Ingen J., Hofland R., Dutch C.F. (2023), вивчаючи етіопатогенез та напруженість епідемічної ситуації щодо мікобактеріозів, спричинених НТМБ, у Нідерландах за період 2013–2019 рр. встановили, що виділення НТМБ від пацієнтів із легеневими хворобами за цей період зросло з 1,0% до 3,6%. Епідеміологічними особливостями мікобактеріозів при цьому були такі показники: одноразова ізоляція НТМБ у дорослих становила 53,7%, а в дітей – 60,0%; як етіологічні чинники найчастіше ідентифікувалися *M. abscessus* і *M. avium complex* – 47,1 і 30,9%, відповідно; зростання кількості позитивних випадків ідентифікації НТМБ є наслідком незадовільних результатів лікування та пов’язане з цим зниження функції легень. Дослідники вважають, що НТМБ-ХЛ – складна і серйозна проблема охорони здоров’я населення в Нідерландах, особливо у пацієнтів, що страдають на муковісцидоз [207].

Епідеміологічний аналіз даних, які представлені нідерландськими вченими у цій статті, вказує на те, що як і у Великобританії, Чехії та Польщі, спостерігаємо, так би мовити, «європейські» особливості етіопатогенезу мікобактеріозів, що, на нашу думку, у більшій мірі обумовлено впливом факторів (соціальних, психологічних та біологічних) на інфекційний та епідемічний процеси, ніж патогенними властивостями збудників.

На Африканському континенті, особливо в країнах на південь від Сахари (Нігерія, Малі, Гана, Замбія, ПАР, Кенія, Уганда, Танзанія, Ефіопія) виділення та ідентифікація НТМБ із легеневих зразків у пацієнтів із хворобами легень становила в середньому 7,5% (7,2–7,8%). При цьому мікобактерії *M. avium complex* становили 28,0% від усіх ізольованих НТМБ. Подібну картину спостерігали у Танзанії, де поширеність мікобактерій *M. avium complex* коливалася в межах 15,0–57,8% [80].

Ретроспективним епідеміологічним аналізом результатів бактеріологічних досліджень в країнах Африки за 10-річнй період виявлено регіональні особливості в розподілі НТМБ. Так, 76,4% (2355 ізолятів із 3084) *M. avium complex* з Південної Африки були мікобактерії виду *M. intracellulare*, тоді як усі ізоляти *M. avium complex* з Малі були *M. avium*. Швидкоростучі мікобактерії таких видів, як *M. fortuitum, M. chelonae* і *M. abscessus* становили лише 1,2% [96, 154, 155].

На жаль, наукових робіт, з яких можна зробити певні судження про етіопатогенетичні та епідеміологічні аспекти мікобактеріозів населення Австралії та островів Океанії, є небагато. Проте епідеміологічний та бактеріологічний моніторинг мікобактеріозів у Квінсленді (Австралія) за 15-річний період (2001–2016 рр.), свідчить, що за цей час було зареєстровано 12219 випадків виділення НТМБ у пацієнтів віком старше 18 років. Найчастіше із клінічних зразків ідентифікували *M. intracellulare* (39,1%), *M. avium* (9,8%), *M. abscessus* (8,5%), *M. fortuitum* (8,3%), *M. chelonae* (3,3%) та *M. kansasii* (2,4%). За цей період рівень захворюваності на мікобактеріози

НТМБ походження зріс у 2,3 рази – з 11,1 pcm у 2001 році до 25,88 pcm у 2016 році [109].

Із наведених даних видно, що в країнах Австралії та Океанії видовий склад етіопатогенетичних видів НТМБ має видову структуру як і у більшості країн світу. Епідеміологічною особливістю прояву цього виду інфекційної патології населення країн цього материка є стабільне щорічне зростання захворюваності на мікобактеріози, що, насамперед, свідчить про зростання ролі НТБМ в інфекційній патології органів дихання та інших систем організму людини.

Висновок до підрозділу 3.1. Вищенаведені дані, які характеризують етіопатогенетичні особливості та епідеміологічні аспекти мікобактеріозів населення різних країн світу, вплив на їх прояв як природно-географічних факторів довкілля, так і соціально-психологічних, підтверджують висновки, зроблені багатьма вченими, що проблема мікобактеріозів є складною, до кінця не розв’язаною і потребує всебічного вивчення, як в кожній окремо взятій країні, так і у світі в цілому.

Епідемічний процес мікобактеріозів людей у часі та просторі тісно пов'язаний із епізоотичним процесом мікобактеріозів тварин. Вивчення етіопатогенезу та епізоотологічних особливостей мікобактеріозів тварин особливо продуктивних допоможе розкрити глибинні причинно-наслідкові зв’язки і тим самим дасть змогу науково обґрунтувати низку ефективних заходів профілактики інфекцій, що спричиняються НТМБ.

3.2. Епізоотологічні аспекти мікобактеріозів тварин у країнах світу та в Україні

Мікобактеріози людини вже давно стали актуальною проблемою гуманної медицини [83, 169, 196]. Мікобактеріози тварин, що спричиняються АТМБ, як нозологічна одиниця інфекційної патології у ветеринарній медицині ще не набули тієї актуальності, яку мають інфекції, що

викликаються мікобактеріями туберкульозного комплексу (*M. tuberculosis, M. bovis, M. africanum*).

Такі важливі факти, як парааллергічні реакції на туберкулін у великої рогатої худоби, що призводять до ускладнення діагностики туберкульозної інфекції, а також є причиною значних збитків молочному скотарству через вибраковку та забій високопродуктивних корів, поступово ставлять у центр уваги ветеринарної науки і ветеринарної медицини проблему діагностики та профілактики мікобактеріозів тварин. З метою диференціації парааллергічних реакцій у другій половині минулого століття у ветеринарну практику запроваджена симультанна проба з використанням комплексного антигену мікобактерій. З цією метою в Україні використовують алерген атипових мікобактерій (ААМ). Кількість господарств, де виявляють тварин, які позитивно реагують на ААМ, з кожним роком зростає [30].

У той же час зростання захворюваності людей на мікобактеріози, збудниками яких виступають НТМБ, які причетні до сенсибілізації організму продуктивних тварин, є об'єктивним свідченням існування взаємопов'язаної проблеми, якою вже стали мікобактеріози людей і тварин.

МЕБ не включило мікобактеріози тварин в епізоотологічний моніторинг. Тому дати об'єктивну оцінку просторово-часової динаміки напруженості епізоотичного процесу за мікобактеріозів тварин у країнах світу і в Україні не можна. Для досягнення поставленої мети ми використали результати наукових досліджень, що були у відкритому друці. Ці дослідження мали різну мету, і методи, що були використані при цьому, теж були різними. Усе це утруднювало порівнювання отриманих даних.

Дані наукових публікацій були зібрані та узагальнені. На основі отриманих результатів нами зроблена просторово-часова оцінка напруженості епізоотичної ситуації щодо мікобактеріозів тварин, виявлено певні закономірності інфекційного та епізоотичного процесів, встановлено домінуючі критерії етіопатогенезу цієї інфекції в популяціях тварин.

Слід відзначити, що епізоотичний процес за мікобактеріозу тварин характеризується взаємодією трьох ланок – джерела збудника інфекції, механізму передачі збудника та сприйнятливого організму. Мікобактеріози відносяться до групи факторних інфекцій, тому ця взаємодія відбувається на тлі впливу різних факторів довкілля, які в більшості випадків відіграють головну роль у прояві інфекційного процесу мікобактеріозу [74, 77].

Питання про джерело збудників мікобактеріозів тварин вивчене недостатньо. Зважаючи на те, що в організмі реагуючих на ААМ тварин, мікобактерії не просто перебувають як індиферентні мікроорганізми, але й спричиняють активний, але клінічно скритий інфекційний процес, можна думати, що такі тварини є основним джерелом збудника інфекції. НТМБ, виживаючи в організмі тварин, посилюють фактори свої патогенності і, виділяючись у довкілля з молоком, фекаліями чи іншими виділеннями, інфікують інших тварин і можуть становити біоризики інфікування людей безпосередньо або через продукти харчування тваринного походження [6].

Деякі автори відзначають, що вивчення екології різних видів мікобактерій у тварин та в об’єктах довкілля дозволяє визначити ступінь активності збудника в прояві епізоотичного процесу [16]. Таке теоретичне обґрунтування може бути використане для всебічного вивчення прояву епізоотичного процесу як при туберкульозі, так і при інших мікобактеріозах.

Деякі науковці вважають, що вивченню мікробіологічних характеристик НТМБ приділяється мало уваги [120]. Автори вбачають у цьому наступні причини. Клінічний перебіг мікобактеріозів не має туберкульозоподібної картини, а тому виявити їх клінічними методами діагностики часто буває важко. Вони нерідко залишаються поза увагою діагностів через формування мікст-інфекції з туберкульозом. З іншого боку, володіючи значною стійкістю до несприятливих факторів довкілля, НТМБ можуть тривалий час знаходитися в зовнішньому середовищі і впродовж тривалого часу інфікувати організм сприйнятливих тварин, викликаючи в

останньому сенсибілізацію або інфекційний процес, що у свою чергу, визначається вірулентними властивостями мікобактерій [114].

Lipner E. et al. (2017) стверджують, що хворі тварини та бактеріоносії, а також різноманітні об'єкти довкілля (корми, вода, ґрунт, гній), де мікобактерії можуть не лише переживати, але й розмножуватися, збільшуючи свою популяцію, мають еволюційно усталені шляхи потрапляння в сприйнятливі організми, є джерелом збудників за мікобактеріозів тварин. З точки зору епізоотології та епідеміології наведені факти дають підставу вважати, що мікобактеріози відносяться до сапронозних інфекцій [141]. Проте Mercaldo R. et al., (2023), вивчаючи фактори патогенності (особливість будови клітинної стінки, що забезпечує стійкість до фагоцитозу; наявність корд-фактору – головного фактуру патогенності; здатність до утворення L-форм; наявність механізмів резистентності до несприятливих факторів зовнішнього середовища, що за стійкістю ставить їх на друге місце після спороутворюючих мікроорганізмів у домені бактерії), стверджують, що багато представників роду *Mycobacterium* еволюціонують у бік завершених патогенів таких, як *M. avium, M. kansasii, M. intracellulare, M. fortuitum, M. abscessus, M. vaccae* та ін. [146].

У гуманній медицині в останні роки (2000–2023 рр.) низка авторів (Falkinham J. O. 3rd.; 2009) відзначають постійне зростання з року в рік кількості пацієнтів з НТМБ-інфекцією. Цей факт автори пояснюють покращенням діагностики мікобактеріозів людини з одного боку, а з іншого – тривалішим виживанням пацієнтів, впливом кліматичних умов на поширення НТМБ-інфекцій, оскільки на територія з із теплим та вологим кліматом НТМБ можуть не лише переживати, але й збільшувати свою популяцію за рахунок розмноження в абіотичних умовах довкілля, що, у свою чергу, вказує на те, що сапронозна стадія в їх існуванні є головною [113, 128, 153].

В Україні при планових алергічних дослідженнях щорічно у 200–280 господарствах виявляють реагуючих тварин, у яких при діагностичному забої

в органах і тканинах не знаходять характерних для туберкульозу уражень. Бактеріологічними дослідженнями біоматеріалу від таких тварин збудника туберкульозу не виділяють. Проте із лімфатичних вузлів та підслизового шару товстого кишківника виділяють нетуберкульозні мікобактерії (НТМБ), зокрема *M. fortuitum, M. scrofulaceum, M. xenopi* та ін. [16, 21, 22].

Роботами вітчизняних вчених (Завгородній А.І., 1996; Кассіч В.Ю., 2003; Горжеєв В.М., 2005) доведено, що впродовж останніх 30 років від реагуючої на туберкулін великої рогатої худоби значно (до 86,2 % від загального числа всіх виділених та ідентифікованих мікобактерій) збільшилась кількість виділених НТМБ, зокрема таких як *M. smegmatis, M. fortuitum, M. phlei, M. vaccae* та ін. [16, 21, 37].

Наявність в організмі тварин НТМБ негативно впливає на діагностику туберкульозу та оздоровчі заходи, особливо коли туберкульоз виникає повторно. Дяченко Г.М. та ін., (2006) відзначають, що застосування комплексного підходу до діагностики туберкульозу дозволяє диференціювати природу реакцій на туберкулін у ВРХ протягом двох циклів діагностичних досліджень. Господарства, у яких сенсибілізація великої рогатої худоби обумовлена НТМБ, слід вважати благополучними щодо захворювання на туберкульоз, тому що НТМБ в організмі здорових тварин не зумовлюють розвитку туберкульозного процесу [18].

Отже, тварини, які дали позитивні реакції на ААМ, так само як і ті, що дали параалергічні реакції на туберкулін, вважаються не хворими на туберкульоз і можуть залишатися у стаді без будь-яких обмежень [59].

У зв’язку із цим залишається відкритим питання про механізм сенсибілізації – це фізіологічна чи патологічна реакція імунної системи у відповідь на постійне або перманентне потрапляння в організм тварин АТМБ чи це результат прояву інфекційного процесу, спричиненого АТМБ. Відповіді на ці, як і на багато інших пов’язаних із цим явищем питань, можна отримати в процесі детального вивчення шляхів інфікування організму

тварин АТМБ, їх взаємодії на клітинному, тканинному, органному і організменному рівнях інфікованих тварин.

Завгородній А.І., Котляр О.В. (2014) встановили, що позитивні реакції на туберкулін (ППД) для ссавців у великої рогатої худоби благополучних щодо туберкульозу господарств України були зумовлені 13 видами атипових мікобактерій, зокрема *M. gordone, M. scrofulaceum, M. avium, M. terrae, M. xenopi, M. peregrinum, M. fortuitum, M. smegmatis, M. vaccae, M. phlei, M. flavenscens, M. diernhoferi, M. thamnpheos*. Вони довели, що окремі види атипових мікобактерій спричиняли в морських свинок підвищену чутливість сповільненого типу на туберкулін (ППД) для ссавців, проте характерних для туберкульозу патолого-анатомічних змін не викликали [27]. Проте автори не вивчали гістоморфологічних змін у піддослідних тварин, проведення яких вкупі із бактеріологічним дослідженням регіонарних лімфатичних вузлів могло б розкрити механізм виникнення сенсибілізації, а, отже, і природу парааллергічних реакцій у піддослідних тварин [97].

Як бачимо, що предметно процесами, які лежить в основі сенсибілізації організму тварин, інфікованих АТМБ, ніхто не займався. Немає відповіді на питання, на якому етапі взаємодії мікроорганізму і макроорганізму виникає сенсибілізація, є вона результатом інфекційного процесу, спричиненого АТМБ, чи інфікуванням АТМБ. Можна припустити, що це звичайний процес, пов'язаний із проникненням АТМБ в організм з послідовним включенням реакції гіперчутливості сповільненого типу, що видається надто спрощеним поглядом на таке складне явище як сенсибілізація, яку й виявляємо з допомогою алергічних досліджень. Так само залишаються не вивченими механізми періодичного згасання і появи парааллергічних реакцій туберкулін, що вказує на їх перманентність [3].

Неспецифічні (парааллергічні) реакції на туберкулін у корів благополучних щодо захворювання на туберкульоз господарств – досить поширене явище в багатьох країнах світу. Так, у США за планових алергічних досліджень великої рогатої худоби на туберкульоз 10–15% тварин

неспецифічно реагують на туберкулін, у Франції – 15–30%, у Латвії – 35,8%, у Литві – 81,8–98,3%, в Естонії – 92–95,1% [17, 30].

Наведені факти свідчать, що в популяціях великої рогатої худоби постійно знаходяться АТМБ, які й індукують неспецифічні або парааллергічні реакції на туберкулін. Отже, вивчення джерел збудників мікобактеріозів та механізму інфікування продуктивних тварин АТМБ є питанням актуальним. Як з практичного боку, так і з наукового погляду «спонтанні» спалахи парааллергічних реакцій у конкретному стаді, – ускладнюють діагностику туберкульозу, а тому потребують вивчення та роз'яснення, що лежить в основі цих реакцій – сенсибілізація організму як фізіологічна реакція імунної системи у відповідь на потрапляння АТМБ, чи сенсибілізація організму – як наслідок інфекційного процесу, спричиненого цими бактеріями.

Завгородній А.І. та ін. (2018) повідомляють, що станом на 1.01.2017 року тваринництво України вільне від туберкульозу, що в Україні не залишилось жодного неблагополучного щодо туберкульозу пункту [30]. Проте за даними Всесвітньої організації охорони здоров'я тварин (ВООЗТ) або Міжнародного епізоотичного бюро (МЕБ) Україна і надалі залишається в категорії країн неблагополучних щодо туберкульозу тварин [202]. Зрештою, свідченням неблагополуччя щодо туберкульозу в скотарстві є алергічні реакції худоби на туберкулін, які постійно виявляють у цілій низці господарств України.

Аналізуючи дані наукової періодики з питань щодо туберкульозу та мікобактеріозів великої рогатої худоби в Україні за останні десятиріччя (2000–2023 рр.) можна відзначити, що кожного року на молочнотоварних фермах країни виявляють у середньому по 250±30 реагуючих на туберкулін і на ААМ тварин, що становить більше 150 випадків на 100 000 голів наявного поголів'я великої рогатої худоби [30, 55]. Це з точки зору епізоотології дуже високе значення, яке свідчить про значну напруженість епізоотичної ситуації щодо мікобактеріозів продуктивних тварин в Україні.

Висновок до підрозділу 3.2. Отже, зважаючи на повну невивченість існуючої проблеми з погляду етіопатогенезу, епізоотології, відсутності регламентованих методичних підходів діагностики та заходів профілактики, можна стверджувати, що кожна із вказаних вище проблем є важливою ланкою наукових досліджень, результати яких загалом дозволять взяти під контроль проблему мікобактеріозів у тваринництві.

Проте, щоб побачити і зрозуміти проблему мікобактеріозів на регіональному рівні, тобто в межах України, потрібно розглянути особливості прояву інфекційного та епізоотичного процесів мікобактеріозів тварин в країнах світу на початку XXI століття.

3.3. Прояв інфекційного та епізоотичного процесів мікобактеріозів тварин в країнах світу на початку XXI століття

Аналізуючи наукові публікації, що стосувалися етіопатогенезу та епізоотології мікобактеріозів у продуктивних тварин, спричинених НТМБ, ми намагалися виявити тенденції розвитку епізоотичного процесу мікобактеріозів тварин на різних континентах. Спочатку було проведено епізоотологічний аналіз мікобактеріозів у великої рогатої худоби в різних країнах світу, а тоді – аналіз епізоотичної ситуації щодо мікобактеріозів інших видів тварин (амфібій, риби та птиці).

Як показали результати моніторингу наукової періодики, що стосуються вивчення цього питання, найбільше наукових робіт, присвячених цій тематиці, спостерігаємо в країнах Латинської Америки. Так, групою бразильських науковців впродовж 2014–2015 рр. у 15 округах штату Парана (Бразилія), внутрішньошкірною симультанною пробою із застосуванням ППД-туберкуліну і алергену із *M. avium* досліджено 4766 корів. При цьому 142 (2,98%) тварини дали позитивну алергічну реакцію на один або обидва алергени. Найчастіше (71%) позитивні реакції відмічали у корів віком 5–10 років. При цьому від 12 корів виділено 14 ізолятів мікобактерій (8,4%), в т.ч. *M. engbaekii* (n=5), *M. nonchromogenicum (n=3),*

M. heraklionense (n=2) і *M. arupense* (n=4). Оскільки деякі види мікобактерій, які були ідентифіковані в молоці, були виявлені як етіологічні агенти за легеневих і позалегеневих захворювань у людей з ослабленим імунітетом, можна відзначити той високий ризик передачі згаданих патогенів від великої рогатої худоби до людини через молоко, навіть незважаючи на відсутність у зразках молока мікобактерій комплексу *M. tuberculosis* [91].

Особлива увага вивченню екології збудників мікобактеріозів приділяється науковцями Бразилії, у якій нараховується понад 220 млн голів великої рогатої худоби. Pardo R. et al. (2001), дослідивши 780 зразків сирого молока від 52 корів із позитивною симультанною пробою (тест Стормонта), у 78,95% випадків виділяли *Mycobacterium* spp., у 10,52% випадків – *M. fortuitum* і по 5,26% – *M. bovis* та *M. avium* [98]. Низка дослідників (Leite C.Q. *et al.,* 2003; Sgarioni S.A. *et al.,* 2014) у зразках пастеризованого молока виділяли НТМБ [139, 179].

Проєктуючи результати наукових досліджень, зроблених науковцями Бразилії, на інші країни Південної Америки можна стверджувати, що поширеність мікобактеріозів серед продуктивних тварин в інших країнах цього континенту є також високою, особливо серед рогатої худоби.

Звісно, що наше припущення потребує ширших наукових досліджень, що дасть змогу з’ясувати реальну епізоотичну ситуацію і на цій основі розробити ефективні заходи профілактики мікобактеріозів у стадах продуктивних тварин.

Треба відзначити, що в ході моніторингу наукових повідомлень про бактеріологічні дослідження щодо виділення та ідентифікації НТМБ із молока корів було встановлено, що такі дослідження проводилися не лише у країнах Південної Америки, але і в країнах інших континентів, зокрема Азії, Африки, Австралії, Європи та північної Америки [85, 130, 167]. Із наукових публікацій, що стосуються поширення НТМБ на території молочнотоварних ферм, видно, що ці бактерії присутні у гноєві, кормах, рослинах і воді. Інфікування великої рогатої худоби НТМБ відбувається головно аліментарно

через споживання зараженої води та кормів та аерогенно [100]. Проте дуже мало досліджень, які розкривають механізми та шляхи присвячено елімінації мікобактерій з організму тварин, які дали позитивні реакції на туберкулін чи алерген атипових мікобактерій. Тому всі роботи, що стосуються цього питання, становлять великий інтерес, бо допомагають отримати обґрунтовану відповідь на питання, чи мікобактерії у зразках молока від корів, які позитивно реагували на туберкулін, є закономірним чи випадковим явищем [88, 129]. Franco M. et al. (2013) довели, що елімінація мікобактерій з організму корів відбувається головно через молочну залозу, тобто із молоком [115].

Підбиваючи проміжний підсумок епізоотологічного аналізу наукової періоди, що стосується висвітлення питань, пов'язаних із циркуляцією АТМБ на території молочнотоварних ферм, можемо відзначити, що вони мають значне поширення на цих сільськогосподарських об'єктах багатьох країн світу – їх виділяють як із абіотичних об'єктів довкілля, так і з організму корів. При цьому АТМБ ізолюють із молока як клінічно здорових корів, так і з молока позитивно реагуючих на туберкулін і на ААМ корів. Ці дані свідчить про не просто транзиторний спосіб перебування АТМБ в організмі тварин, а про їх активне розмноження в ньому. Це є непрямим доказом такої взаємодії між мікроорганізмом і макроорганізмом, що характерна для клінічно скритого і хронічно протікаючого інфекційного процесу, а не просто сенсибілізації. З цього короткого огляду можна також зробити висновок, що НТМБ мають значне поширення серед продуктивних тварин.

Проте не менш важливими є знання про взаємини НТМБ із домашніми тваринами і тваринами дикої фауни. Треба відзначити, що вивченню цього питання присвячено чимало наукових робіт дослідників із різних країн світу.

Так, групою польських учених було встановлено, що мікобактеріози тварин часто викликаються *M. avium ssp. hominissuis*. До зараження цією бактерією сприйнятливі багато видів тварин і навіть ті, які знаходяться в зоопарках [135]. Інша група польських науковців (Bruczyńska M. et al., 2023),

провівши комплексні (бактеріологічні та молекулярно-генетичні) дослідження 131 зразка фекалій, відібраних від різних видів тварин восьми зоопарків Польщі на паратуберкульоз (*MAP),* виділили та ідентифікували 7 ізолятів мікобактерій, зокрема *M. avium* – 5, *M. fortuitum* – 1 і неідентифікований вид *Mycobacterium* – 1. З допомогою полімеразно-ланцюгової реакції було ідентифіковано присутність *MAP* у фекаліях від 9 тварин. Дослідники роблять висновок, що мікобактерії паратуберкульозу циркулюють у популяціях зоопаркових тварин [94].

Австралійські вчені (O'Brien C. et al., 2014), застосовуючи бактеріологічні та молекулярно-генетичні (ПЛР в режимі реального часу), вивчали прояв інфекційного процесу, спричиненого *M. ulcerans*, серед тварин дикої фауни (звичайних, кільчастих та гірських опосумів, щіткохвостів). Було з'ясовано, що ДНК *M. ulcerans* виявлялися в різноманітних зразках довкілля, у т.ч. у фекаліях опосумів як з клінічними ознаками інфекції, так і без них. Вивчення клінічного прояву інфекційного процесу *M. ulcerans* у 27 дорослих опосумів було виявлено поодинокі або множинні виразкові ураження шкіри, в основному в ділянці голови, кінцівок та хвоста. Патологоанатомічним дослідженням 4 трупів опосумів виявлено патологоанатомічні зміни в різних органах і тканинах, що є свідченням системного ураження організму. Проте є низка до кінця нез'ясованих питань. Зокрема, природний перебіг хвороби залишається й досі не вивченим – невідомі способи і шляхи передачі збудника інфекції та резервуари мікобактерії у навколишньому середовищі; чому деякі легко уражені опосуми (звичайні щіткохвости та гірські опосуми) можуть спонтанно подолати інфекцію, тоді як для інших видів опосумів (звичайні та кільчасті) інфекція зазвичай закінчується летально. Автори роблять висновок, що потрібне глибше вивчення інфекційного та епізоотичного процесів мікобактеріозу опосумів, спричиненого *M. ulcerans*, щоб з'ясувати, чи становить інфекція *M. ulcerans* потенційну загрозу для популяцій опосумів і чи можуть ці тварини виступати як резервуари збудника інфекції [152].

Група італійських вчених (Vetere A. et al., 2022) описала в кенійського піщаного удава (*Eryx colubrinus loveridgei*), виловленого в дикій природі, смертельний випадок системного мікобактеріозу, викликаного *M. goodii*. *M. goodii* ідентифіковано на основі результатів гістологічних досліджень целомічних органів і за допомогою ПЛР у реальному час підтвердено мікобактеріоз [198].

Велику увагу інфекційним захворюванням диких тварин, які є потенційним джерелом збудників інфекційних хвороб людини, приділяють науковці Південної Америки. Так, застосовуючи комплексне (гістологічне та за допомогою ПЛР) дослідження 1306 зразків амфібій, які належали до 6 родин, 12 родів і 21 виду, ученими у 17 зразках (0,76%) були виявлені петрифіковані вузлики в целомічній порожнині, нирках, печінці, легенях, кишечнику та підшлунковій залозі. Збудником виявилася *M. gordonae.* Це повідомлення про інфекцію *M. gordonae* у цих видів земноводних у природному середовищі стало першим, а гістопатологічні дослідження підтвердили типові зміни, характерні для мікобактеріозного ураження в земноводних на північному сході Бразилії [150].

Наведені результати досліджень, які були проведені вченими різних країн світу, свідчать про значне поширення мікобактеріозів у популяціях диких теплокровних і холоднокровних тварин. Клінічний прояв мікобактеріозів у тварин виявляли в усіх країнах, де дослідження біоматеріалів проводили, використовуючи клінічні, патологоанатомічні, бактеріологічні, гістоморфологічні та молекулярно-генетичні методи. Було встановлено, що як збудник інфекції найчастіше ідентифікували *M. ulcerans, M. gordonae, M. avium, M. fortuitum* та низку інших неідентифікованих видів мікобактерій нетуберкульозного комплексу. На основі епізоотологічного аналізу результатів цих досліджень можна зробити висновок, що мікобактеріози тварин – інфекційна хвороба, яка поширена в дикій фауні і потребує всебічного вивчення, зокрема особливостей як інфекційного, так і епізоотичного процесів, встановлення видового складу збудників та їх

екології, що матиме велике загально біологічне, медико-санітарне і ветеринарне значення. Отримані дані можуть бути покладені в основу системи контролю епізоотичного та епідемічного процесів мікобактеріозів.

Моніторинг наукових публікацій, у яких розкрито особливості прояву мікобактеріозів птахів, засвідчив, що і цій проблемі дослідниками з різних країн світу приділяється значна увага.

Так, група вчених з декількох університетів Європи (Hoop R. et al., 1993), вивчаючи випадки мікобактеріозу, у трьох хвилястих папуг (*Melopsittacus undulatus*), одного амазона (*Amazona amazonica*), однієї мухоловки (*Cyanoptila cyanomelana*) та одного зебрового в'юрка (*Taeniopygia guttata*), встановили, що в усіх випадках збудником інфекції була *M. genavense*. Із патологоанатомічних змін, виявлених при цьому, були наступні – виснаження м'язів (у 5 випадках), гепатомегалія (у 4 випадках) і потовщення стінки тонкої кишки (у 4 випадках), а також гранульоми в легенях і підшкірній тканині (по одному випадку). Мікроскопією мазків-відбитків кислотостійкі палички були виявлені в печінці всіх досліджуваних птахів птахів. Виділити *M. genavense* на середовищі Левенштейна-Йєнсена збудника не вдалося, а на на кислому середовищі BACTEC вдалося. Автори підкреслюють важливість середовища як резервуара для *M. genavense* [122].

Німецькі вчені (Schmidt V. et al., 2022), вивчаючи мікобактеріози домашніх і деяких диких птахів та фактори, що сприяють їх виникненню, встановили, що збудниками мікобактеріозу в птахів були *M. avium subsp. avium* (ідентифіковано у 20 птахів із 50), *M. genavense* (ідентифіковано у 16 із 50), і *M. avium subsp. hominissuis* (ідентифіковано у 3 із 50). Усього було досліджено 50 птахів, у яких діагноз на мікобактеріоз був встановлений за патоморфологічними змінами. Патологоанатомічні зміни мікобактеріозного характеру при ураженні *M. avium* виявляли найчастіше – 95%, тоді як за інфікування *M. genavense* – 66%. Найчастіше патоморфологічні зміни локалізувалися в тонкій кишці в 71% досліджених птахів, в легенях – у 65%. Ці дані вказують на пероральне (аліментарний шлях інфікування) та легеневе

(аерогенний шлях) потрапляння мікобактерій. Автори дослідження стверджують, що коінфекції (пситакоз, вірози, бактеріози, мікози та ендопаразитози) не мали впливу на прояв мікобактеріозу. Дослідники вважають, що ізоляти *M. avium subsp. hominissuis* – вид, який викликає велике занепокоєння у сфері охорони здоров'я, бо він був ідентифікований від птахів, а це має епідеміологічне значення з точки зору їх зоонозної ролі [177].

Група чеських вчених (Hejlícek K. і Treml F., 1994). досліджуючи виникнення та поширення мікобактеріозів серед голубів, їх сприйнятливість до *M. avium,* як збудника інфекції, та роль цього виду птахів, як джерела збудника МАС-інфекції, встановили високу стійкість голубів до *M. avium.* Із семи населених пунктів з різною епізоотичною ситуацією щодо туберкульозу птиці досліджено 470 голубів. При цьому у 2 птахів (0,43%) виявлено туберкульозне ураження, у 5 птахів (1,06%) виділено мікобактерії. Чотири із п'яти ізолятів виявилися патогенними для домашньої птиці [121].

Групою вчених університету Панами (Rengifo-Herrera C. et al., 2019) виявили надзвичайне виснаження із задишкою, аномальні зміни у селезінці, печінці та повітряних мішках в орла-гарпії. Діагноз на мікобактеріоз був підтверджений ПЛР-аналізом, чим і було доведено наявність *M. avium* у зразках тканин, хоча виявлені спочатку біохімічні та гематологічні зміни не були підставою для підозри на мікобактеріоз. Автори підкреслюють важливість комплексного підходу при діагностиці мікобактеріозів, бо лише в такому разі можна уникнути діагностичних помилок [172].

Група вчених із США (Pawsat G. et al., 2023) дослідили незвичайний випадок одночасного прояву двох основних захворювань – мікобактеріозу і важких дегенеративних змін суглобів у самця лососевого чубатого какаду *(Cacatua moluccensis*) віком 32 років. Унікальність цього випадку мікобактеріозу, за якого гістологічно діагностовано двосторонню ліктьову лімфому, до якої могли призвести важкі дегенеративні змін суглобів. Проте мікобактеріоз був підтверджений завдяки застосуванню методу ПЛР, з допомогою якого й було ідентифіковано *M. genavense* [163].

Аналізуючи результати вище наведених наукових публікацій, можна стверджувати, що інфікування організму птахів НТМБ зустрічається доволі часто, воно може перебігати асоційовано з іншими коінфекціями та патологічними станами, що може бути причиною діагностичних помилок. Більшість дослідників вказують на важливість комплексного підходу до діагностики мікобактеріозів, бо лише в такому разі можна гарантувати діагностичний успіх та отримати об'єктивну оцінку результатів дослідження. Звертає на себе увагу значення pH середовища. Воно важливе не лише у разі ізоляції мікобактерій із об'єктів довкілля, тобто при виборі середовища для висіву досліджуваного матеріалу, але й у разі вивчення особливостей їх екології мікобактерій.

Не менш важливою проблемою є мікобактеріози риб. Вони наносять значні збитки рибній промисловості, а також розведенню декоративної риби. На підтвердження цього наведемо декілька прикладів.

Про поширеність мікобактеріозів серед диких видів риб маємо дуже мало повідомлень. Так, норвезькі вчені (Sandlund N. et al., 2023) описали мікобактеріоз в атлантичної скумбрії (*Scomber scombrus*). З 6 зразків скумбрії, яка була виловлена у Північному морі, виділи та ідентифікували *M. lentiflavum, M. stomatepiae* і *M. montefiorense.* Хвороба мала хронічний перебіг і проявлялася грануломатозним ураженням нирок [175].

Торгівля прісноводною декоративною рибою – основне джерело існування багатьох підприємців у Тринідаді і Тобаго. Про те, що мікобактеріози риб дуже поширені в місцевої декоративної риби, засвідчує відділ охорони здоров'я водних тварин Школи ветеринарної медицини Університету Вест-Індії. Бактеріологічними та молекулярно-генетичними дослідженнями 122 зразків риби було ізольовано та ідентифіковано *Mycobacterium sp.* Результати цих досліджень вказують на значну поширеність інфекції, спричиненої *Mycobacterium sp.,* яка становила 61±7% (74/122); позитивні результати були отримані у 54,2% (13/24) обстежених господарств, що займаються розведенням декоративних риб [177].

У світовій торгівлі акваріумними риби сіамські бійцівські риби *(Betta splendens)* відіграють важливу роль. Проте сприйнятливість цих риб до мікобактеріозу ставить під загрозу існування цієї галузі. Виділення з риби *Betta splendens* високопатогенних і мультирезистентних штамів НТМБ таких, як *M. chelonae, M. cosmeticum, M. farcinogenes, M. mucogenicum і M. senegalense* є підставою для розробки превентивних заходів як з метою зменшення негативного впливу на економіку галузі, так і профілактику ризиків для здоров'я населення [124].

Вчені Багдадського університету (Hussein F. et al., 2016) вивчили особливості інфекційного та епідемічного процесів мікобактеріозу людини і тварин, спричиненого *M. marinum.* Вони відзначили, що *M. marinum* викликає мікобактеріоз у всіх видів риб (прісноводних, солонуватих і солоних водойм), а також у людей та деяких видів тварин. Так, у механізмі передачі збудника в риб превалює аліментарний шлях (споживання зараженого корму, канібалізм інфікованої риби чи водного детриту), а також контактний (проникнення через травми, садна шкіри або травми, спричинені ектопаразитами). Люди інфікуються, зазвичай, вдома, розводячи акваріумних риб. У працівників-переробників риби або зоомагазинів інфекція може мати професійний характер. Вхідними воротами є пошкодження шкіри під час контакту з інфікованою рибою, під час чищення або догляду за акваріумами, після поранення плавниками або укусами риби. Контакт з природними джерелами води під час риболовлі, катання на човні або плавання немає епідемічного значення як шлях передачі. Контакти з морськими тваринами та рептиліями відіграють певну роль у передачі збудника [125].

Іспанські вчені (Montero E. et al., 2022), вивчаючи клінічні прояви мікобактеріозу у сингнатид, які виявилися сприйнятливими до зараження НТМБ, встановили, що клінічні ознаки хвороби були мінливі – від раптової смерті до появи неспецифічних ознак таких, як анорексія, пригнічений загальний стан, втрата ваги, виражена ядуха зі збільшенням частоти дихальння. Із продуктивних процесів спостерігали виразки на хвості та білі

вузлики всередині ока і в печінці. З інших ознак автори відзначали ураження зябер, печінки, кишечника і целомічної брижі. Бактеріологічно було ізольовано, а молекулярно-генетично (ПЛР у реальному часі) ідентифіковано *M. fortuitum, M. chelonae, M. marinum та Mycobacterium spp*. [149].

Roger C. (2022), досліджуючи мікобактеріози в риб, ідентифікував *M. piscium* як збудника мікобактеріозу. Згодом було встановлено, що понад 200 видів риб, які поширені у водах від холодної субарктики до тропічних регіонів, інфіковані НТМБ. При цьому багато видів роду *Mycobacterium* були ідентифіковані в риб, які клінічно були здорові. З'ясовано, що збудниками мікобактеріозів риб найчастіше є *M. marinum, M. fortuitum і M. chelonae*. Перебігають мікобактеріози риб хронічно і характеризуються прогресуючим виснаженням, втратою лусочок, виразками шкіри, репродуктивними розладами, рідше глибокими геморагічними ураженнями шкіри. Автор вважає, що мікобактеріози риб – це зоонозне джерело збудника інфекції для людей, які контактують з хворою на мікобактеріоз рибою та водоймами, де знаходяться хвора риба [173].

Висновок до підрозділу 3.3. Отже, можна стверджувати, що вивчення шляхів та факторів поширення мікобактеріозів тварин в Україні та країнах світу відкриє нові закономірності прояву епізоотичного процесу мікобактеріозів тварин, його основних рушійних сил.

Знання особливостей прояву інфекційного та епізоотичного процесів за мікобактеріозів тварин буде покладено в основу розробки ефективних заходів профілактики та контролю цього виду інфекційних захворювань у популяціях різних видів тварин і тим самим буде служити гарантією біобезпеки харчових продуктів, а, отже, здоров'я населення планети.

Здоров'я людини, передовсім, залежить від повноцінності та безпечності продуктів харчування. Тому на перший план у профілактиці низки інфекційних захворювань населення, у т.ч. й мікобактеріозів, виступає організація і втілення в життя профілактичних заходів, спрямованих на підтримку здоров'я продуктивних тварин. Бо лише від здорових тварин

можна отримати повноцінну і безпечну продукцію. Профілактика мікобактеріозів у стадах корів – один із шляхів досягнення цієї мети. Тому наступні розділи нашої роботи буть присвячені вивченню інфекційного та епізоотичного процесів за мікобактеріозу корів на молочнотоварній фермі одного із господарств Волині.

3.4. Епізоотичниий процес за мікобактеріозу корів у конкретному стаді великої рогатої худоби

При вивченні причин виникнення позитивних алергічних реакцій на туберкулін за планового алергічного дослідження корів дійного стада господарства групою вчених (Бойко П.К. та ін., 2020) було проведено епізоотологічне розслідування із наступним епізоотологічним аналізом отриманих даних [4, 5]. Згідно результатів цього дослідження було встановлено наступне. Улітку 2010 року на ферму було завезено 20 нетелів із сусіднього господарства, яке впродовж 2008–2010 рр. було неблагополучним щодо туберкульозу. Весною 2011 року із числа закуплених нетелів було виявлено 2 реагуючі тварини, які були здані на забій без проведення обов'язкових досліджень, як це передбачено Інструкцією по боротьбі з туберкульозом [33]. Починаючи з 2011 року, за кожного наступного дослідження на туберкульоз виявляли по декілька реагуючих на туберкулін тварин, яких здавали на забій. Причин цих реакцій ніхто не вивчав, діагностичних забоїв не проводили, протитуберкульозних заходів за винятком планових алергічних досліджень у господарстві не здійснювали. З кожним наступним алергічним дослідженням поголів'я кількість реагуючих на туберкулін корів почала суттєво збільшуватися, і вже за період з 2011 по 2014 рік на забій було здано біля 100 корів. Така динаміка виявлення реагуючих на туберкулін тварин продовжилася і в наступні роки – впродовж 2015–2016 рр. на вимушений забій здано понад 200 корів. Протягом 2011–2016 рр. реагуючих на туберкулін тварин серед телят, телиць, нетелів і тварин на відгодівлі не виявляли.

Упродовж 2017 року було виявлено 84 корови, які дали позитивні реакції на туберкулін, а якщо врахувати тварин із сумнівними реакціями, то їх кількість становила 102 голови. Завдяки такому підходу щодо профілактики туберкульозу та підтримання ветеринарного благополуччя на молчонотоварній фермі в господарстві залишилося 110 корів дійного стада. Стало питання про ліквідацію молочнотоварного напрямку розвитку господарства. Але для остаточного прийняття рішення було вирішено викликати спеціалістів, які мали досвід боротьби з туберкульозом.

Перші комплексні дослідження стада, проведені протягом 07–12.2017 року, дали змогу встановити парааллергічну природу реакцій на туберкулін та стали підґрунтям для заборони необґрунтованого забою худоби [5].

За результатами комплексного дослідження було зроблено висновок, що господарство є благополучним щодо туберкульозу великої рогатої худоби. Цей висновок був підтверджений результатами проведених досліджень, зокрема:

1. Алергічних:

– позитивні реакції на уведення туберкуліну при повторних дослідженнях у більшості корів випадали; ?

– реакції на туберкулін у реагуючих корів, в основному, мали потовщення шкіри від 2 до 4 мм, тобто були віднесені до категорії «сумнівних» або «позитивних», але на мінімальній межі;

– кількість реагуючих тварин на ААМ була значно більшою, ніж на туберкулін;

2. Патологоанатомічних:

– патологоанатомічних змін, характерних для туберкульозу, не виявлено жодного разу при трьох діагностичних забоях позитивно реагуючих корів, які були проведені протягом липня-жовтня 2017 року.

3. Патоморфологічних:

– гістологічним дослідженням лімфатичних вузлів від 10 корів, які позитивно реагували на туберкулін, змін, характерних для туберкульозу не виявлено;

4. Мікроскопічних:

– в усіх досліджуваних матеріалах, відібраних від 10 корів, які були забиті з діагностичною метою, мікобактерій туберкульозу не виявлено;

5. Бактеріологічних і біологічних:

– збудників туберкульозу – *M. bovis, M. tuberculosis* і *M. avium* із біоматеріалу (лімфатичні вузли, уражені ділянки товстого відділу кишечника) від 10 корів, які були забиті з діагностичною метою, не виділено;

– з біоматеріалів від усіх корів виділено кислотостійкі із сенсибілізуючими властивостями два види скотохромогенних мікобактерій: один вид мікобактерій за швидкістю росту (2–5 доба) і забарвленням (світло-жовтий) колоній можна віднести до *M. forturtium*, а другий вид до *M. scrofulaceum* (ріст колоній з'являвся на 10-у добу і колонії мали оранжево-коричневий кольору).

6. Епізоотологічних:

– реагуючих на туберкулін тварин виявляли лише серед дійного стада (дійні і сухостійні корови), які утримуються у двох приміщеннях;

– якби на фермі циркулював збудник туберкульозу, реагуючі на туберкулін тварини були б виявлені і в інших вікових і статевих групах, зокрема серед телят, яких випоювали сирим молоком взятим безпосередньо після доїння корів;

– якби ферма була неблагополучною щодо туберкульозу, то це проявилося б клінічно (виснаження або інші, характерні для туберкульозу ознаками), а також патологоанатомічно (зміни, були б виявлені на забої).

Встановлені факти вказують на те, що господарство вільне від туберкульозу. Проте наявність алергічних реакцій, патологоанатомічні і патоморфологічні зміни у лімфатичних вузлах, виділення атипових мікобактерій та низка інших аргументів були підставою для подальшого

комплексного вивчення епізоотичної ситуації та ведення постійного контролю за перебігом епізоотичного процесу мікобактеріозу, спричиненого АТМБ з метою недопущення спалаху туберкульозу. Для цього було розроблено план заходів, який включав графіки алергічних досліджень симультанною пробою з використанням двох алергенів і, відповідно до їх результатів, проведення клінічних досліджень, патоморфологічних і бактеріологічних досліджень матеріалу, відібраного від тварин, які позитивно реагували на туберкулін, ААМ або обидва алергени. З метою встановлення природи алергічних реакцій на туберкулін та недопущення спалаху туберкульозу на молочнотоварній фермі, починаючи з 2018 року упродовж наступних років алергічну діагностику туберкульозу проводили симультанною пробою з використанням туберкуліну та ААМ.

У табл. 2 наведено результати алергічних досліджень поголів'я великої рогатої худоби на туберкульоз господарства протягом 2018–2023 років.

Таблиця 2.

Результати алергічного дослідження на туберкульоз симультанною пробою із використанням туберкуліну та ААМ поголів'я великої рогатої худоби господарства за період 2018–2023 рр.

Дата дослідження	Досліджено, голів	Виявлено реагуючих				Середня величина реакцій, мм	
		Всього	ТП	ААМ	ТП+ААМ	ТП	ААМ
06.2018 р.	330	132	10	39	83	3,4	3,9
12.2018 р.	341	95	12	56	27	3,6	4,9
06.2019 р.	396	106	6	18	82	3,1	4,0
10.2019 р.	405	102	10	58	34	3,0	3,8
03.2020 р.	408	104	3	52	49	3,1	4,3
10.2020 р.	446	108	3	60	45	3,1	3,9
04.2021 р.	369	99	7	66	26	3,0	4,0
10.2021 р.	395	55	2	17	36	2,9	3,8
04.2022 р.	420	106	6	48	52	3,7	4,4

10.2022 р.	450	60	0	44	16	4,1	4,1
04.2023 р.	450	98	3	78	17	3,1	3,8
10.2023 р.	450	54	2	26	26	3,9	4,2
Всього	4860	1119	64	562	493	3,3±0,4**	4,1±0,2*
Відсоток		100	5,72	50,22	44,02		

Примітки: ТП – туберкулін; **ААМ** – алерген атипових мікобактерій; **ТП+ААМ** – туберкулін + алерген атипових мікобактерій; ** – P≤0,05; * – P≤0,01.

З даних, наведених у табл. 2, видно, що за цей період проведено 4860 симультанних досліджень. При цьому було виявлено 1119 реакцій, з них суто на туберкулін 64, що становить 5,72% до загальної кількості позитивних реакцій, тільки на АММ – 562 (50,22%) і на обидва алергени – 493 (44,02%). Аналіз цих даних показує, що відношення кількості реагуючих на туберкулін тварин до кількості реагуючих на ААМ за період спостереження становить 1:8,8, тобто кількість реагуючих на ААМ тварин майже в 9 разів більша. Це ще раз підтверджує висновок, що реакції тварин на туберкулін у цьому господарстві протягом періоду спостережень мають парааллергічну природу.

За кожного алергічного дослідження тварин ми вимірювали товщину шкірної складки в реагуючих тварин не лише для точного обліку результатів, але також для виявлення відмінностей між інтенсивністю прояву алергічних реакцій тварин на один і другий алергени. Середньоарифметичне потовщення шкірної складки на туберкулін по стаду за весь період дослідження становило 3,3±0,4 мм), тоді як на ААМ крайні межі лежали в діапазоні 3,8–4,9 мм (в середньому за період дослідження 4,1±0,2 мм), тобто середньоарифметичне потовщення складки на ААМ було на 10,8% більшим, ніж на туберкулін. Таким чином, це ще один доказ того, що реакції на туберкулін мають парааллергічну природу, а реакції на ААМ віддзеркалюють наслідки імунної відповіді інфікованих тварин на проникнення та патогенний вплив АТМБ на організм тварин.

Зважаючи на те, що за кожного наступного дослідження у частини корів (біля 10%) реакції випадали, то можна стверджувати, що інфікованість стада АТМБ сягала однієї п’ятої досліджуваного поголів’я. Тобто інфікованість корів АТМБ сягала 20%, що ставить проблему контролю інфекції, спричиненої АТМБ, як одну із пріоритетних в системі забезпечення ветеринарного благополуччя молочнотоварної ферми.

Проводячи епізоотологічний аналіз вікової динаміки реакцій корів на обидва алергени нами виявлено певну вікову закономірність. Дані про вік тварин, які позитивно реагували на обидва алергени за алергічних досліджень на туберкульоз симультанною пробою протягом періоду спостереження, наведені в табл. 3. Принагідно відзначимо, що впродовж всього періоду спостережень реагуючих тварин серед телят і телиць парувального віку не було виявлено.

Таблиця 3.

Вікова динаміка алергічних реакції у великої рогатої худоби на туберкулін і алерген атипових мікобактерій за період 2018–2020 рр.

Дата дослідження	**Дослід-жено, голів**	**Вік тварин (**в роках**), які позитивно реагували на туберкулін чи ААМ або на обидва алергени, (**голів)								
		Всього	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**
06.2018 р.	330	132	3	16	41	39	15	9	7	2
12.2018 р.	341	95	8	22	27	22	8	7	0	1
06.2019 р.	396	106	2	6	25	29	20	15	5	4
10.2019 р.	405	102	8	19	24	22	22	3	2	2
03.2020 р.	408	104	7	9	20	30	18	13	4	3
10.2020 р.	446	108	6	10	25	28	17	13	4	5
04.2021 р.	369	99	3	13	21	26	16	13	5	2
10.2021 р.	395	55	1	4	14	16	11	6	3	0
04.2022 р.	420	106	6	9	26	27	19	14	3	2
10.2022 р.	450	60	2	6	15	18	10	5	2	2
04.2023 р.	450	98	4	13	21	26	16	11	4	3

10.2023 р.	450	54	1	4	13	15	12	7	2	0
ВСЬОГО	4860	1119	51	131	272	298	184	116	41	26
M±m										
Відсоток		100	4,6	11,7	24,3	26,6	16,4	10,4	3,7	2,3

Як видно з наведених у табл. 3 даних, випадки реагуючих тварин починають виявлятися у віці 2 роки і старше. Так, питома вага реагуючих тварин 2-річного віку становить 4,6%, 3-річного віку – 11,7%. Зростання кількості реагуючих тварин спостерігаємо і у 4-річному віці (24,3%). Найвищого показника кількості реагуючих тварин – 26,6% спостерігаємо у віці 5 років. А вже у віці 6 років питома вага реагуючих тварин знизилася до 16,4%. Із збільшенням віку тварин тенденція до зниження кількості реагуючих тварин різко зростає. Так, у 7-річному віці питома вага їх знизилась до 10,4%, у 8-річному віці – до 3,7% і у 9-річному – до 2,3%. Таку динаміку реагування тварин дійного стада можна пояснити таким чином. Інфікування тварин АТМБ, очевидно, відбувається вже із самого раннього постнатального періоду. Але інкубаційний період інфікованого організму тварин, як свідчать дані науковців, які займалися вивченням патогенезу мікобактеріозів у людей, триває понад 18 місяців [73]. Саме тому реагуючих тварин серед молодняка та нетелів не було виявлено. Зростання питомої ваги реагуючих тварин у віці 3–7 років може віддзеркалювати рівень реагування імунної системи тварин на тривале навантаження організму корів антигенами АТМБ з одного боку та переважаючою більшістю поголів'я корів цього віку у дійному стаді з другого боку. Адже найвища молочна продуктивність корів спостерігається у віці 4–6 років. Фізіологічне зниження молочної продуктивності, пов'язане із віком корів, або її зниження з інших причин є причиною вибраковки корів. Тому зрозуміло, що, починаючи із 6-річного віку, контингент корів з кожним роком стає все менш чисельним і, звісно, це залишає свій відбиток на віковій динаміці питомої ваги кількості позитивно реагуючих на алергени тварин. Якби віковий ценз дійних корів був би з

різних причин збільшений до 8–10-річного віку, як це було за часів колгоспного господарювання, то, без сумніву, питома вага реагуючих на обидва алергени була б зсунута у правий бік, тобто у бік 7–10 річних тварин.

Інфекційний процес за будь-якої інфекції починається із проникнення збудника в організм [9, 77]. Атипові мікобактерії за мікобактеріозу великої рогатої худоби можуть потрапляти в організм тварин кількома шляхами, зокрема аерогенно (вдихання повітря та пилу, що містить мікобактерії), аліментарно (вживання інфікованого АТМБ корму або води, випоювання інфікованого, але непастеризованого молока), контактно (через пошкоджену шкіру або слизові оболонки) [134, 163].

На розвиток і прояв інфекційного процесу за мікобактеріозу можуть впливати фактори, що сприяють накопиченню збудника в приміщенні (скупчення тварин на обмеженій території, несвоєчасність прибирання кормових столів від залишків корму, недостатня вентиляція приміщень, наявність пилу в повітрі приміщень, недотримання графіку профілактичних дезінфекцій). У досліджуваному господарстві тваринники дотримуються санітарно-гігієнічні норм утримання та догляду тварин. Проте зимово-стійлове утримання дійного стада корів передбачає їх утримання на глибокій незмінній підстилці, що, з одного боку, є добрим середовищем для розмноження сапрофітних мікроорганізмів, до яких відносяться АТМБ, а, з іншого боку, немає можливості застосувати ефективні дезінфектанти з метою зменшення популяції АТМБ. Таким чином, організм тварин упродовж стійлового періоду утримання постійно знаходиться під високим мікробним навантаженням сапрофітною та умовно-патогенною мікробіотою, у т.ч. й АТМБ, що, у свою чергу, веде до інфікування організму тварин і, звісно, до зростання кількості реагуючих тварин.

Наші припущення підтверджуються результатами, наведеними у табл. 2 і 3. Так, аналіз результатів алергічних досліджень корів за останні три роки показає, що кількість тварин, які дали позитивні реакції на обидва алергени, після зимово-стійлового утримання (ці дослідження ми проводили у квітні

кожного року) є значно вища, ніж та кількість реагуючих тварин, які були виявлені після літньо-вигульного утримання тварин, упродовж якого тварини перебували на свіжому повітрі (ці алергічні дослідження проводили у жовтні кожного року). Відношення кількості реагуючих тварин після літньо-вигульного утримання до кількості реагуючих тварин після стійлового утримання становить {(55+60+54) : (99+106+98)} = 169: 303 = 1 : 1,8. Тобто можна відзначити, що утримання тварин на свіжому повітрі впродовж 6 місяців майже вдвічі зменшує кількість реагуючих на обидва алергени тварин.

Це свідчить про те, що корми, підстилка, можливо, вода та інші абіотичні об'єкти тваринницьких приміщень є середовищем, у якому АТМБ розмножуються, збільшуючи свою популяцію, і звідси потрапляють в організм тварин, що дає підставу віднести захворювання, які спричиняються АТМБ, до сапронозів.

Епідемічний (епізоотичний) процес – це біологічне явище взаємодії популяції збудника інфекції із популяцією сприйнятливих людей (тварин), яке відбувається за участі рушійних сил (джерела збудника, механізму передачі та поширення, сприйнятливих організмів). Для епідемічного (епізоотичного) процесу характерна безперервність, завдяки якій забезпечується існування заразних хвороб, а, отже, і патогенних мікроорганізмів. В основі епідемічного (епізоотичного) процесу лежить біологічний паразитизм – взаємодія хвороботворного мікроорганізму із сприйнятливим організмом, яка відбувається під впливом як природних, так і соціально-економічних факторів [9, 12, 77, 201].

Виникнення і поширення заразних хвороб розпочинається із дії хвороботворного збудника, який викликає розвиток інфекційного процесу в організмі людини чи тварини. Зважаючи на це, ми розглянемо розвиток інфекційного процесу в організмі корів, інфікованих АТМБ.

Висновок до підрозділу 3.4. Комплексним дослідженням великої рогатої худоби на туберкульоз у благополучному щодо туберкульозу

господарстві Волинської області впродовж 2017–2020 років встановлено, що алергічні реакції на туберкулін мали парааллергічну природу, які виникли як результат мікобактеріозу в організмі корів, спричинений НТМБ. Інкубаційний період за інфікування НТМБ є тривалим, ніж і становить 18–26 місяців. Прояв парааллергічних реакцій має перманентний характер – у низки корів реакції випадали, а потім появлялися знову. Епізоотичнимй процес за мікобактеріозу корів характеризується відсутністю реагуючих серед тварин у віці до 18 міс., зростанням їх кількості до 7-річного віку.

3.5. Інфекційний процес за мікобактеріозу корів у конкретному стаді великої рогатої худоби

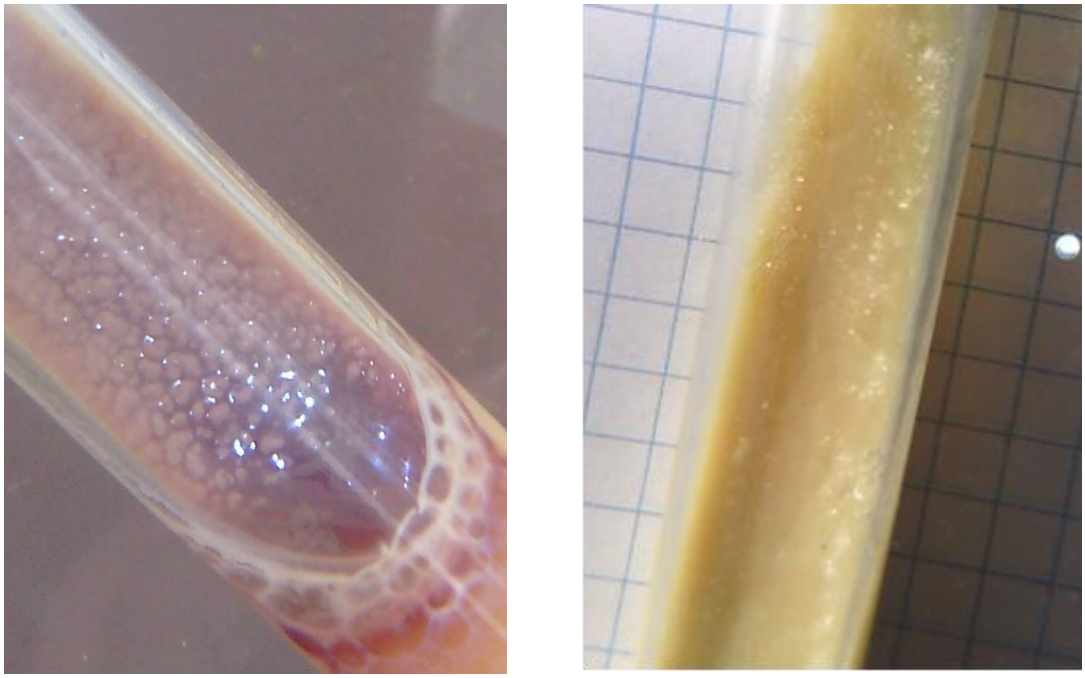
Мікобактеріози великої рогатої худоби, у тому числі і туберкульоз – інфекційні захворювання, що мають значне поширення в країнах світу із розвиненим скотарством [30, 118]. Контроль епізоотичного благополуччя стад здійснюють регулярними алергічними досліджень [18].

Низка вчених вважають, що однією із причин неспецифічних реакцій на туберкулін може бути латентний мікробізм, спричиний мікобактеріями людського і пташиного видів або АТМБ [52, 64].

Атипові мікобактерії, потрапивши в організм тварини, зазвичай, локалізуються на слизовій оболонці дихальних шляхів (за аерогенного способу потрапляння) або на слизовій оболонці органів травлення (за аліментарного способу). Далі мікобактерії вмикають притаманні їм механізми адгезії, імунної мімікрії та факторів інвазивності (агресини, ферменти інвазії, полісахариди), завдяки яким вони прикріплюються до епітеліальних клітин, проникають через міжклітинні простори, утворені внаслідок дії ферментів інвазії у підслизовий шар і, завдяки незавершеному фагоцитозу, у регіональні лімфатичні структури (підслизові лімфоїдні скупчення, пейєрові бляшки, солітарні фолікули, лімфатичні вузи) [45, 47, 59]. Інколи АТМБ можуть уражати печінку, селезінку та інші органи [127].

Імунна система інфікованих тварин реагує на проникнення АТМБ, але ця реакція зазвичай є недостатньою для повної елімінації збудника, що призводить до тривалого перебування мікобактерій в організмі, зокрема у фагоцитах [186, 201]. Завдяки незавершеному фагоцитозу АТМБ потрапляють у регіональні лімфатичні вузли, де і відбувається їх взаємодія із захисними механізмами організму на клітинному та органному рівнях [12].

Про те, що АТМБ потрапляють у лімфатичні вузли свідчать результати бактеріологічного дослідження – кожного разу із відібраних біоматеріалів ми виділяли *M. intracelulare, M. fortuitum* і *M. scrofulaceum* (див. рис. 3).



А Б

Рис. 3. Колонії мікобактерій на середовищі Левенштейна-Йєнсена, виділених із лімфовузлів корів, які позитивно реагували на ППД-туберкулін: А – *M. fortuitum* і Б – *M. scrofulaceum*.

Результати наших бактеріологічних досліджень були підтверджені в лабораторії діагностики туберкульозу ННЦ «ІЕКВМ» Національної академії аграрних наук України (м. Харків), де із надісланого нами матеріалу було виділено та ідентифіковано *M. fortuitum* і сапрофітні мікроорганізми роду *Nocardia*.

Ці результати підтверджують здатність АТМБ проникати в лімфатичні вузли, з одного боку, та полімікробну природу спричинюваних ними парааллергічних реакцій на туберкулін, з іншого боку.

Наявність мікобактерій нетуберкульозного комплексу у лімфатичних вузлах нами підтверджена не лише бактеріологічно, але й мікроскопічно (рис. 4).

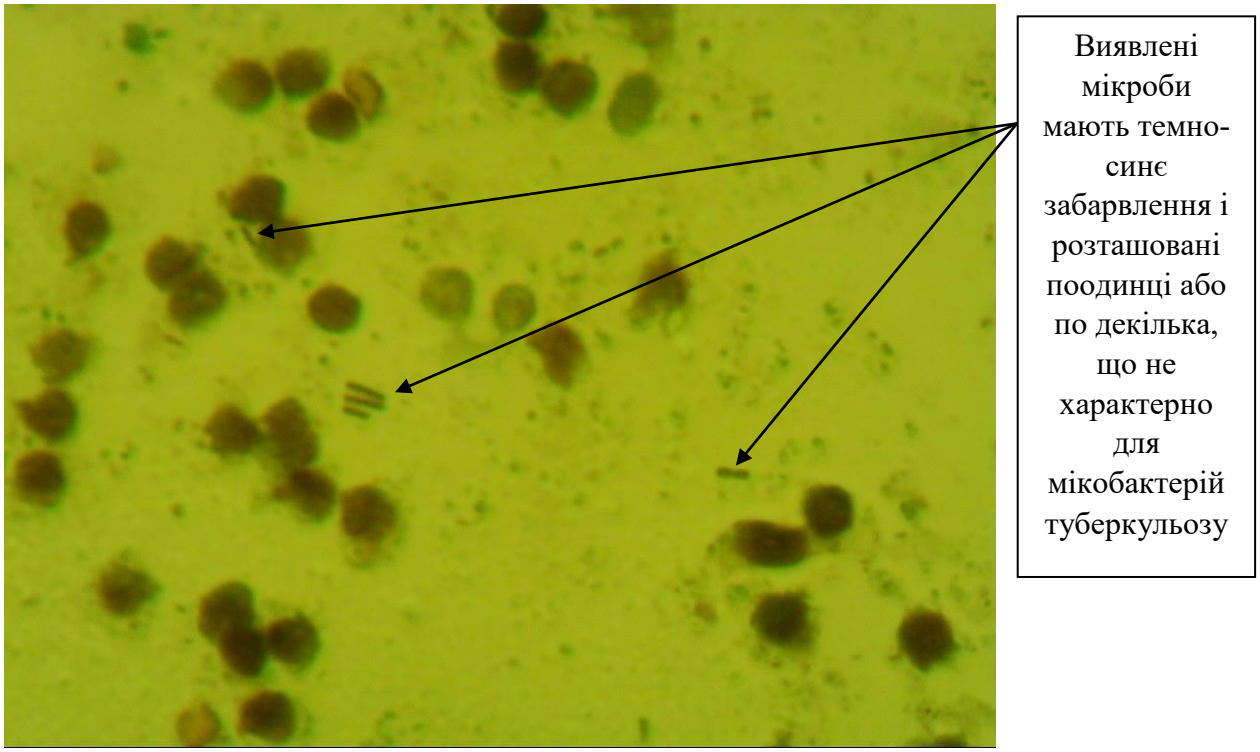


Рис. 4. Бактерії у мазку-відбитку із заглоткових лімфатичних вузлів (фарбування за Цілем-Нільсеном, збільшення 10×10)

Наведені дані вказують на присутність АТМБ у лімфатичних вузлах тих органів, через які мікобактерії потрапляють в організм. Проте, видимих патологічних змін при зовнішньому їх огляді виявити не вдається ні візуально, ні з допомогою пальпування. Це, з одного боку, є свідченням того, що змін, характерних для туберкульозу, у лімфатичних вузах, інфікованих АТМБ, немає. І це було підтверджено кожним патологоанатомічним дослідженням відібраних лімфатичних вузлів від тварин, які дали позитивні реакції на один або обидва алергени. Проте з іншого боку, стверджувати, що взагалі ніяких змін в інфікованих лімфатичних вузлах немає, не можна, не

провівши більш детального патологоанатомічного і гістологічного досліджень відібраних лімфовузлів. Для цього відібрані вузли в умовах лабораторії досліджували спочатку візуально, роблячи сагітальні розрізи на всю товщину вузла так, щоб він розділився на дві рівні половини і щоб завдяки такому розрізу можна було побачити стан паренхіми вузла і сфотографувати побачені зміни (див. рис. 5).

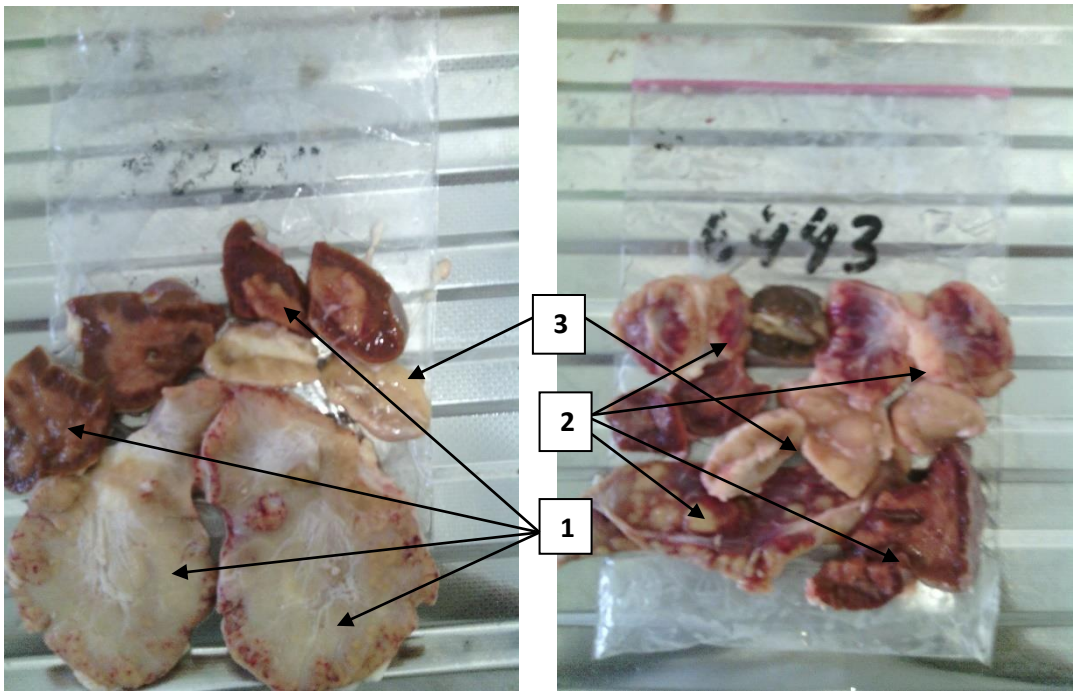


Рис. 5. Видимі патологоанатомічні зміни у лімфатичних вузлах, які можна виявити лише з допомогою сагітальних розрізів. Нативний препарат.

Примітка: 1 – переродження з повною атрофією паренхіми мозкового шару надвим'яних лімфовузлів і залишки паренхіми у корковому шарі; **2** – грануломатозні вогнища у заглоткових, піднижньощелепових та середостінних лімфовузлах; **3** – гіперплазія паренхіми мезентеріальних лімфовузлів.

Виявлені візуально зміни в інфікованих лімфатичних вузлах вказують на те, що ці патологоанатомічні зміни не є характерними для туберкульозу, але в той же час вони свідчать про наявність в організмі кожної забитої з діагностичною метою тварини інтенсивного інфекційного процесу, який

візуально можна виявити в кожному інфікованому лімфатичному вузлі за умови їх розрізу у сагітальній площині.

Для підтвердження інфекційної природи видимих патологоанатомічних змін, виявлених у лімфатичних вузлах, нами проведено гістоморфологічне дослідження цих вузлів. Отримані результати підтвердили наші припущення – видимі патологічні зміни є віддзеркаленням напруженої боротьби захисних сил організму на клітинному рівні в усіх інфікованих лімфатичних вузлах, що є неспростовним доказом існування активного інфекційного процесу на клітинно-органному рівні, спричиненого інфікуванням організму АТМБ.

Так, у гістозрізах із лімфатичних вузлів, зафарбованих гематоксилін еозином, ми жодного разу впродовж всього періоду досліджень не виявляли багатоядерних клітин, які є характерними для інфекційного процесу туберкульозу. Проте виявлені гістоморфологічні зміни, зокрема розростання епітеліоїдних клітин з утворенням епітеліоїдних тяжів (рис. 6; 1) і заміщення ними лімфоїдної тканини (рис. 6; 2) свідчать про активний інфекційний процес, що спричинений продуктами життєдіяльності атипових мікобактерій, в інфікованих лімфатичних вузлах.

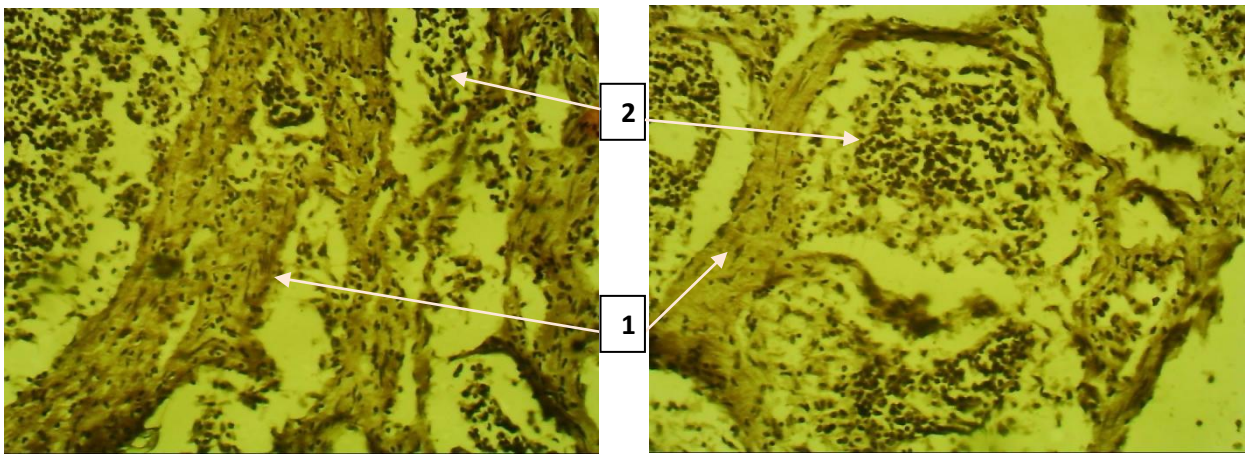


Рис. 6. Гістоморфологічні зміни в інфікованих надвим'яних лімфатичних вузлах реагуючих на туберкулін корів (фарбування гематоксилін-еозином, 10×20).

Примітка: 1 – розростання епітеліоїдних клітин з утворенням епітеліоїдних тяжів; **2** – залишки лімфоїдної тканини.

Низка українських науковців (Селіщева Н.В. та ін. 2005; Котляр О.В., 2014; Завгородній А.І. та ін., 2016; 2017; Бібен І.А. та ін., 2019) та зарубіжних вчених (Pavlik I. et al., 2005), які вивчали причини парааллергічних реакцій на туберкулін за планових алергічних досліджень великої рогатої худоби на туберкульоз, стверджують, що сенсибілізацію до туберкуліну у ВРХ можуть обумовлювати не тільки збудники туберкульозу, але й окремі види атипових мікобактерій [2, 12, 25, 30, 41, 55, 161].

Селіщева Н.В. та ін. (2005), вивчаючи природу реакцій на туберкулін у великої рогатої худоби в благополучних щодо туберкульозу господарствах Одеської області, встановили, що кількість тварин, які давали парааллергічні реакції на туберкулін сягала 50% [55].

Завгородній А.І. та ін. (2005) за результатами проведених бактеріологічних досліджень з метою визначення природи алергічних реакцій на туберкулін у ВРХ встановили, що неспецифічні реакції на туберкулін для ссавців та ААМ були обумовлені сенсибілізацією ВРХ мікроорганізмами із родів *Nocardia* і *Corynebacterium* та атиповими мікобактеріями виду *M. phlei*. У дослідах на морських свинках було встановлено, що ці мікроорганізми викликали нетривалу сенсибілізацію організму піддослідних тварин до туберкуліну для ссавців та ААМ [30].

Pavlik I. et al. (2005) провели оцінку результатів прижиттєвої та посмертної діагностики мікобактеріальних інфекцій у великої рогатої худоби та свиней за період 2000–2004 рік у Чехії, яка на той час була вільною від туберкульозу. Усього алергічно досліджено 2 419 889 голів великої рогатої худоби. Виявлено 123 (0,005%) позитивних реакції. Патологоанатомічних змін не виявлено в жодної з цих тварин. Із 188 досліджених лабораторними методами матеріалів у 40 (21,3%) виявлено мікобактерії, зокрема 26 ізолятів *Mycobacterium avium subsp. avium*, 11 ізолятів *M. a. hominissuis* і 3 ізоляти АТМБ.

При ветеринарно-санітарному огляді 22 312 580 м’ясотуш і внутрішніх органів свиней виявлено туберкульозні ураження у 49 312 (0,22%). У 757

(33,5%) із 2261 відібраних для бактеріологічного дослідження матеріалів виділено 203 ізоляти *M. avium subsp. avium*, 442 ізоляти M. *avium subsp. hominissuis* та 112 ізолятів АТМБ.

В обох видів тварин переважали представники комплексу *M. avium*. *M. avium subsp. avium* переважав у великої рогатої худоби, тоді як *M. avium subsp. hominissuis* – у свиней. Автори дослідження вважають, що основними джерелами *M. a. avium* і *M. a. hominissuis* є вільно живучі птахи та забруднене зовнішнє середовище (питна вода, корми та кормові добавки) [161].

Котляр О.В. (2014), ізолювавши та ідентифікувавши 69 польових культур, із яких 13 видів були віднесені до АТМБ, встановив, що в господарствах України серед поголів'я великої рогатої худоби найбільш поширені швидкоростучі атипові мікобактерії, частка яких складає 78,2 % від загальної кількості виділених культур. АТМБ не спричиняють туберкульозу у морських свинок, проте викликають підвищену чутливість сповільненого типу на туберкулін і на ААМ [41].

Завгородній А.І. та ін. (2016), досліджуючи сенсибілізуючі властивості АТМБ, ізольованих із біоматеріалу від великої рогатої худоби, встановили, що прояв алергічних реакцій на введення мікобактеріальних алергенів у морських свинок різнився в залежності від виду алергену, терміну після моменту сенсибілізації тварин, а також залежно від джерела виділення культури. Так, достовірної різниці між дослідними культурами АТМБ щодо сенсибілізуючих властивостей не встановлено. З'ясовано, що ізоляти з біоматеріалу від великої рогатої худоби мають більш виражені сенсибілізуючі властивості порівняно з культурами, ізольованими з об'єктів довкілля [3].

Завгородній А.І. та ін. (2018) довели, що псевдоалергічні реакції на мікобактеріальні алергени у великої рогатої худоби можуть бути обумовлені дикроцеліозною та ехінококозною інвазією, а також мікроміцетами роду *Aspergillus* виду *Aspergillus niger*. Автори вважають, що за діагностики туберкульозу алергічною пробою необхідно проводити гельмінтологічні

дослідження тварин щодо наявності в них паразитарних захворювань, оскільки антигени гельмінтів в організмі тварин призводять до хибно позитивних результатів за алергічного дослідження на туберкульоз [30].

Бібен І.А. та ін. (2019), вивчаючи низку ізолятів АТМБ (*Mycobacterium phlei; M. flavescens; M. vaccae; M. terra*), виділених із коров'ячого гною загальноприйнятими методами, встановили, що атипові мікобактерії є широко розповсюдженими непатогенними мікроорганізмами в навколишньому середовищі і тісно контактують з великою рогатою худобою, будучи частиною нормальної мікрофлори. Вони можуть бути ізольовані з об'єктів зовнішнього середовища і є контамінантами продукції тваринництва. В організмі тварин вони не спричиняють патологічних процесів, але при цьому мають на нього різноманітний вплив, зокрема сенсибілізують організм тварин до антигенів мікобактерій, а також стимулюють неспецифічну резистентність [2].

Усі вище наведені роботи стосувалися вивчення сенсибілізуючих властивостей атипових мікобактерій і тих видимих неозброєним оком змін, що спричиняються ними, тобто клінічних або патологоанатомічних змін. Але змін гістоморфологічного характеру ніхто не вивчав, зрештою ніхто з науковців й не ставив собі за мету вивчення взаємодії АТМБ із інфікованим ними організмом на клітинному і тканинному рівнях. Лише відсутність змін клінічного та патологоанатомічного характеру були підставою для висновку, що АТМБ, будучи однократно введеними в організм піддослідних тварин, не викликають розвитку інфекційного процесу, а тільки нетривалу сенсибілізацію, яка через певний час зникає. Проте в природніх умовах взаємодія НТМБ/АТМБ відбувається, зазвичай, постійно, а не обмежується одноразовим потраплянням їх в організм чи то тварини, чи людини. Первинні ворота потрапляння АТМБ мають свої особливості взаємодії, відмінні від парентерального уведення антигену мікобактерій за експериментального інфікування організму морських свинок. Проте навіть у випадку парентерального уведення мікобактерій дослідники не вивчали їх взаємодії

із організмом піддослідних тварин на клітинному чи тканинному, а тим паче на органному рівнях, а висновки робили за алергічною пробою, яка віддзеркалювала лише стан сенсибілізації, але не інфекційний процес як такий. Хоча з точки зору імунології сенсибілізація організму – це процес взаємодії імунної системи із антигенами мікроорганізму [12]. Вона може бути як активною, так і пасивною. За активної сенсибілізації в організмі утворюються антитіла або сенсибілізовані Т-ефектори. Коли в організм вводять специфічні до цього антигену антитіла або сенсибілізовані Т-ефектори, виникає пасивна сенсибілізація. У її основі лежать два послідовних процеси – активація антигенспецифічних лімфоцитів, їхня проліферація й утворення антитіл або сенсибілізованих Т-ефекторів і розподіл антитіл або Т-ефекторів в організмі [39]. Тобто в організмі відбувається комплекс захисних реакцій, які спрямовані на підтримання гомеостазу. Але якщо ця дія є постійною, як це ми спостерігаємо за природних умов, а не одноразовою, як це ми спостерігаємо за умов експерименту, то, як ми бачимо за результатами наших досліджень і досліджень науковців гуманної та ветеринарної медицини, тоді в організмі розвивається інфекційний процес, прояв якого визначається багатьма складовими, як з боку мікроорганізму, так і з боку макроорганізму. Ми не будемо акцентувати уваги на тому, які вектори взаємодії обох організмів є основними, які другорядними – це тема інших наукових досліджень. Ми констатуємо, що у природних умовах тривале, а нерідко й одноразове потрапляння мікобактерій в сприйнятливий організм спричиняє розвиток інфекційного процесу, який має назву мікобактеріоз.

Мікобактеріози, викликані атиповими мікобактеріями, можуть призводити до розвитку таких патологічних процесів: пневмонія (запалення легень, яке може супроводжуватися кашлем, задишкою, лихоманкою та схудненням), лімфаденіт (збільшення та болючість лімфатичних вузлів), мастит (запалення вимені, яке може призводити до зниження молочної продуктивності та зміни якості молока). Тяжкість патологічних реакцій залежить від вірулентності збудника, стану імунної системи та інших

факторів. За лабораторної діагностики мікобактеріозів у корів найчастіше виявляють лімфаденіти, але за умови посмертного дослідження [65].

На перебіг інфекційного процесу за мікобактеріозу корів впливає низка факторів, зокрема вид і вірулентність атипових мікобактерій, вік і стан тварин, умови годівлі, догляду та утримання тварин і своєчасне ветеринарне обстеження та ветеринарно-профілактичні обробки (дегельмінтизації, щеплення тощо).

Контроль інфекційного та епізоотичного процесів за мікобактеріозу корів ми проводили комплексно. Нерідко за чергового дослідження корів симультанною пробою спостерігалося випадання реакцій на один або обидва алергени. Цей факт свідчить про перманентність алергічних реакцій в інфікованих тварин – явище, яке може бути наслідком супресії імунологічних реакцій у результаті надмірного інфікування тварин АТМБ. Алергічні реакції випадають на певний період, а потвм проявляються знову [34, 117]. На нашу думку, алергічні реакції на обидва алергени є наслідком скритого інфекційного процесу в організмі корів, що спричиняється АТМБ.

Висновок до підрозділу 3.5. Етіопатогенез парааллергічних і псевдоалергічних реакцій на туберкулін у тварин благополучних щодо туберкульозу господарств потребує глибшого з'ясування, а методи диференціації специфічних реакцій від парааллергічних і псевдоалергічних – подальшого удосконалення. Слід враховувати, що в організмі тварин можуть одночасно перебувати *M. bovis,* АТМБ та інші види бактерій (нокардії, родококи та ін.). Помилкове трактування значення неспецифічних реакцій може призводити до невиправданого забою продуктивних тварин або сприяти поширенню туберкульозу. У таких випадках об'єктивним критерієм для прийняття виваженого рішення є лабораторна діагностика біоматеріалу від тварин, які дали позитивні реакції на той чи інший алерген. Для цього відбирають абіотичний матеріал (зразки продуктів харчування, кормів, води тощо) або біотичний матеріал від забитих з діагностичною метою тварин (шматочки тканин і органів, лімфатичні вузли тощо). Проведення

діагностичних забоїв на перше місце як метод комплексної діаностики виступає патологоанатомічне дослідження, яке у випадку туберкульозу за виявленими патологоанатомічними змінами дає можливість поставити остаточний діагноз. Проте за мікобактеріозу у тварин у більшості випадків потрібно проводити комплексне лабораторне дослідження.

3.6. Особливості лабораторної діагностики мікобактеріозів

3.6.1. Патологоанатомічна діагностика

Патологоанатомічний розтин тіла (аутопсія, секція, некропсія) – посмертна медична процедура, яка проводиться з метою встановлення причин, механізмів смерті пацієнта, остаточного діагнозу, уточнення та контролю достовірності і повноти прижиттєвої діагностики, своєчасності, адекватності та повноти наданої медичної допомоги, отримання даних про структуру смертності, патоморфоз хвороб під дією лікувальних, соціальних, екологічних та інших факторів [3].

Розтин (секція, аутопсія) трупів та вимушено забитих тварин становить головний науковий і практичний метод патологічної анатомії автопсії, служить основним джерелом для наукової розробки проблем патологічної анатомії і матеріалом для її викладання. В умовах практики розтин, поряд з клінічним обстеженням або й самостійно, дає змогу діагностувати більшість хвороб, але особливе значення має при діагностиці інфекційних хвороб [65].

Патологоанатомічну діагностику мікобактеріозів здійснювали шляхом післязабійного огляду туш та внутрішніх органів тварин, які були забиті на м’ясопереробних підприємствах. Після кожного планового алергічного дослідження на туберкульоз на діагностичний забій відбирали не менше 4 голів тварин, які дали позитивні реакції на один або обидва алергени. Забій проводили на 6–7-у добу після алергічного дослідження. Упродовж періоду спостереження (2021–2023 рр.) нами організовано і проведено 7 діагностичних забоїв тварин, які дали позитивні реакції на один або обидва

алергени. Патологоанатомічному дослідженню піддано. При цьому патологоанатомічних змін, характерних для туберкульозу, не виявлено в жодної із 31 тварини, що були відпаравлені на діагностичний забій.

Кількість проведених патологоанатомічних досліджень за діагностичних забоїв протягом періоду спостереження наведена в табл. 4.

Таблиця 4.

Реєстр діагностичних забоїв корів, які позитивно реагували на туберкулін або алерген атипові мікобактерії, проведених упродовж 2021–2023 рр.

№ пн	Дата забою	Кіль-кість тварин	Інвентарний номер тварин	Патзміни, характерні для туберкульозу
1	26.04.2021	4	5894, 4283, 5647, 794591	Не виявлено
2	03.11.2021	4	7837, 9772, 089896, 7894	Не виявлено
3	27.04.2022	4	9438, 794588, 9819, 944265	Не виявлено
4	02.11.2022	6	107890, 5587, 9373, 429894, 9408, 1721	Не виявлено
5	24.05.2023	5	5638, 7865, 6995, 9151, 1412	Не виявлено
6	02.11.2023	4	9184, 9432, 5640, 0380	Не виявлено
7	24.05.2024	4	3449, 9850, 4326, 1987	Не виявлено
Всього		**31**		

Для проведення комплексної лабораторної діагностики від забитих корів відбирали біологічний матеріал – лімфатичні вузли і шматочки інших паренхіматозних органів (за необхідності); для гістологічного дослідження матеріал фіксували у 10% розчині формаліну.

Зважаючи на те, що за усіх діагностичних забоїв нами було досліджено 31 м’ясотушу та паренхіматозні органи від них, ми зупинимося на характеристиці лише виявлених патологоанатомічних змін.

Усі реагуючі корови були заводської вгодованості. Ознак схуднення або виснаження не виявили в жодної тварини. Поверхневі лімфатичні вузли (передлопаткові, залопаткові, колінної складки, піднижньощелепні, надвим'яні) не збільшені. Ознак діареї також не виявлено.

При внутрішньому огляді органів і тканин патологоанатомічних змін, характерних для туберкульозу, не виявлено в жодної тварини.

Для лабораторного дослідження від кожної корови відібрали такі лімфатичні вузли – заглоткові, піднижньощелепні, середостінні, портальні, мезентеріальні, надвим'яні. Візуально в жодному із відібраних лімфатичних вузлів патологічних змін, характерних для туберкульозу, не виявлено.

З метою детальнішого вивчення патологоанатомічних змін у відібраних для дослідження лімфатичних вузлах у лабораторії проводили їх сагітальний розріз на дві половини і документували наявні зміни (див. рис. 7–9). Завдяки такому підходу в усіх лімфатичних вузлах було виявлено низку патологічних змін – гіперплазія, грануломатоз, атрофія лімфоїдної тканини, розростання епітеліоїдної тканини, крапчасті крововиливи в кірковій зоні та ін.

Виявлені патологоанатомічні зміни, а також відсутність хрусту, характерного для звапнених туберкульозних вузликів, при виконанні розрізу лімфатичного вузла, додатково вказували на відсутність змін туберкульозного характеру в них.

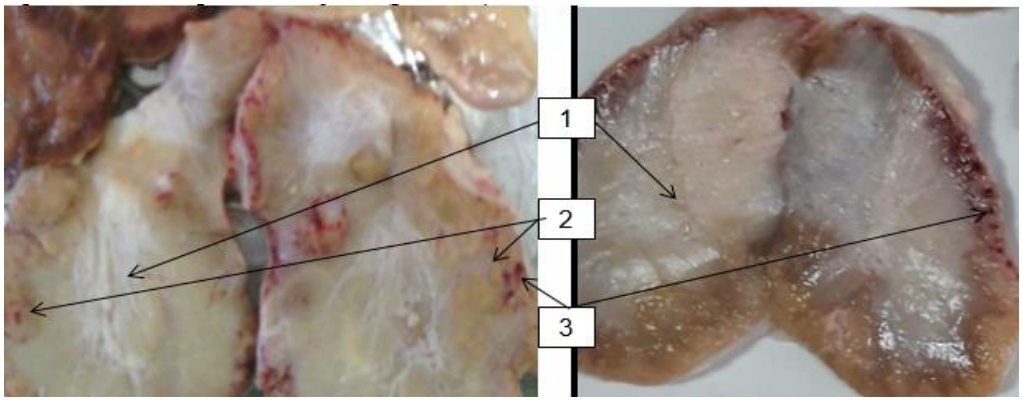
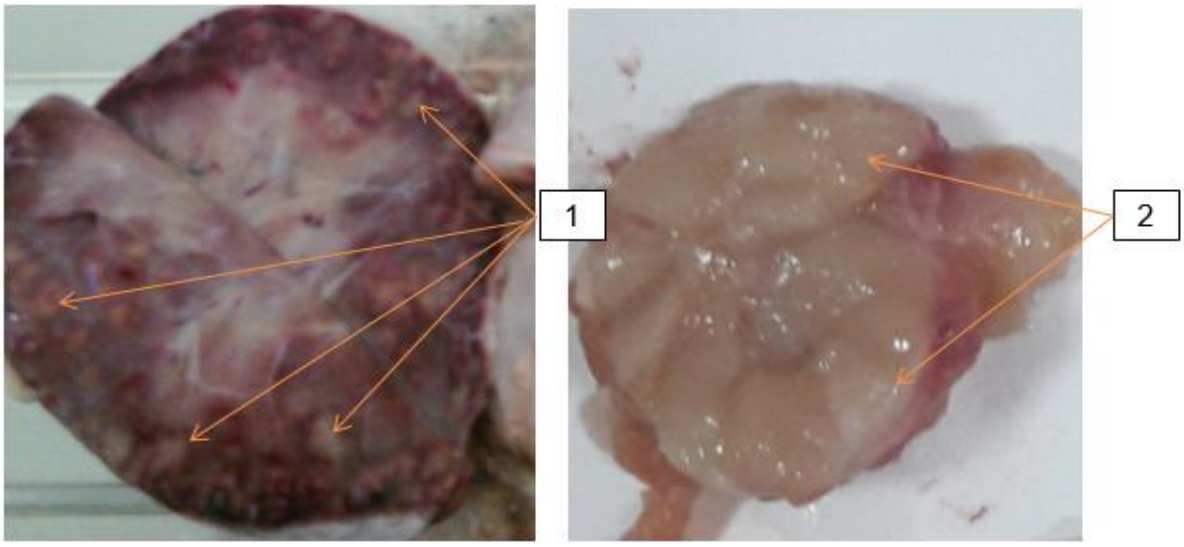


Рис. 7. Патологоанатомічні зміни у надвим'яних лімфовузлах. Нативний препарат.

Примітка: 1 – переродження з повною атрофією паренхіми мозкового шару; **2** – залишки паренхіми у кірковому шарі; **3** – крововиливи у кірковій зоні.



А **Б**

Рис. 8. Патологоанатомічні зміни у середостінному (А) і піднижньощелепному (Б) лімфовузлах. Нативний препарат.

Примітка: 1 – грануломатозні вогнища у середостінному лімфовузлі; **2** – гіперплазія паренхіми у піднижньощелепному лімфовузлі (виражена саловидність паренхіми).

З іншого боку, виявлені патологоанатомічні зміни, що добре помітні на представлених рисунках, підтверджують наявність інфекційного процесу в організмі реагуючих корів. Ці зміни локалізується в лімфатичних вузлах, регіональних до первинних місць проникнення АТМБ в організм тварин (слизові оболонки органів дихання та органів травлення), а також до органів, через які найактивніше виводяться з організму мікобактерії (молочна залоза).

До патологічних змін, які добре видно на розрізах вузлів, відмічаємо зміну кольору паренхіми (почервоніння або темно-сіре забарвлення), що свідчить про порушення гемодинаміки в паренхімі вузлів, саловидність як прояв гіперплазії лімфоїдної тканини, розростання сполучної тканини, що спричиняє заміну паренхіми вузла сполучною тканиною, що в кінцевому наслідку веде до атрофії лімфоїдної тканини, унаслідок чого лімфатичний вузол поступово втрачає свою фізіологічну функцію (рис. 7.1).

Гіперплазія лімфовузлів, яка характеризується розростанням лімфоїдної тканини (саловидність на розрізі), вказує на скриті запальні процеси в навколишніх тканинах, з яких вони фільтрують лімфу. Такі активні запальні процеси свідчать про потрапляння в ці тканини чужорідних білкових агентів – бактерій, грибків тощо, а у нашому випадку – АТМБ, які крім імунного запалення в місці проникнення призводять до гіперплазії регіональних лімфатичних вузлів, сенсибілізації до антигенів мікобактерій, що проявлялося у вигляді алергічних реакцій на ААМ, а також до антигенів інших видів мікобактерій, зокрема мікобактерій туберкульозного комплексу, що проявляється парааллергічними реакціями на туберкулін.

Аналізуючи прояв інфекційного процесу в лімфатичних вузлах залежно від їх локалізації, слід відзначити, що найчастіше патологічні зміни виявлялися в заглоткових, піднижньощелепних, середостінних, мезентеріальних і надвим'яних, рідко – у передлопаткових і залопаткових лімфовузлах чи колінної складки. Виявлена регіональність прояву інфекційного процесу в лімфатичних вузлах вказує на пріоритетність аерогенного (гіперплазія середостінних лімфовузлів – рис. 8.А) та аліментарного (гіперплазія заглоткових і піднижньощелепних та мезентеріальних лімфовузлів – рис. 8.Б) шляхів потрапляння АТМБ в організм.

Аналізуючи інтенсивність прояву патологічних змін у лімфатичних вузлах у часовому вимірі, ми виявили одну закономірність – з часом вираженість патологоанатомічних змін знижується. Так, патологоанатомічні зміни в лімфатичних вузлах у корів, забитих на перших діагностичних забоях (2017–2019 рр.), були яскравіше виражені (ці зміни були інтенсивніші, більші, важчі) (рис. 9.А), ніж ті, що виявлені у корів, забитих з діагностичною метою в наступні роки (2022–2023 рр.), коли кількість реагуючих тварин почала помітно знижуватися (рис. 9.Б).

А **Б**

Рис. 9. Патологоанатомічні зміни у лімфовузлах у корів при першому (2017 р.) діагностичному забої (А) і останньому (2023 р.) (Б). Нативний препарат.

Примітка: А – яскраво виражені грануломатоз і гіперплазія середостінних, піднижньощелепних і заглоткових лімфатичних вузлів за перших діагностичних забоїв реагуючих корів. **Б** – незначне заміщення паренхіми надвим'яного вузла рихлою сполучною тканиною.

Така динаміка патологоанатомічних змін у лімфатичних вузлах може свідчити про те, що на початкових стадіях епізоотичного процесу за мікобактеріозу великої рогатої худоби в стаді інфекційні процеси у тварин розвивалися тривало і неконтрольовано. Унаслідок цього патологічні реакції протягом тривалого періоду переважали над фізіологічними, що й супроводжувалося глибокими ураженнями окремих органів, зокрема лімфатичних вузлів, що мало виразніший прояв патологоанатомічних змін.

Крім лімфатичних вузлів у більшості забитих корів, особливо в перші два роки з початку наших спостережень, виявляли патологоанатомічні зміни в товстому відділі кишечнику. Ці зміни локалізувалися в початковому відділі ободової кишки і чимось нагадували паратуберкульозний ентерит. Зокрема з боку серозної оболонки уражені ділянки кишки (довжиною від 30 до 60 см) мали помітно виражене потовщення. З боку слизової оболонки вся уражена

ділянка кишки мала виражену складчастість. Остання нагадувала поверхню півкуль головного мозку (рис. 10.1).

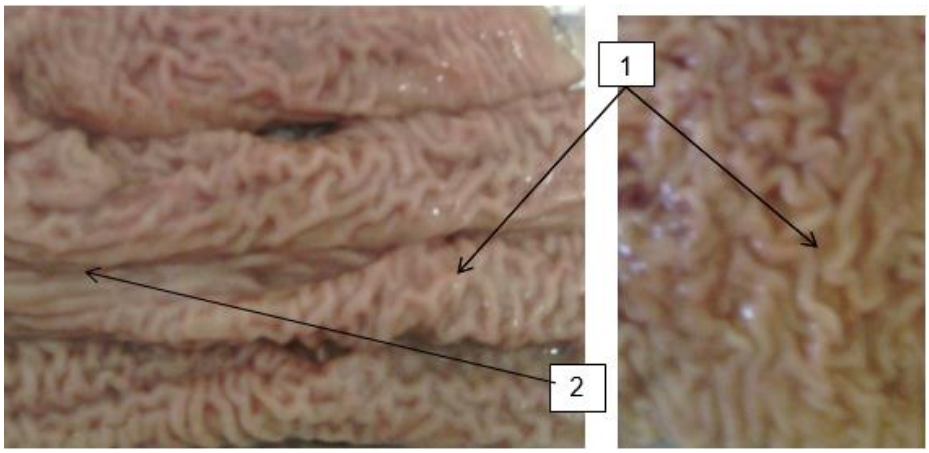


Рис. 10. Патологоанатомічні зміни слизової оболонки у проксимальному відділі товстої кишки.

Примітка: 1 – поперечна патологічна складчастість ободової кишки, спричинена інфекційним процесом; **2** – повздовжня фізіологічна складчастість ободової кишки.

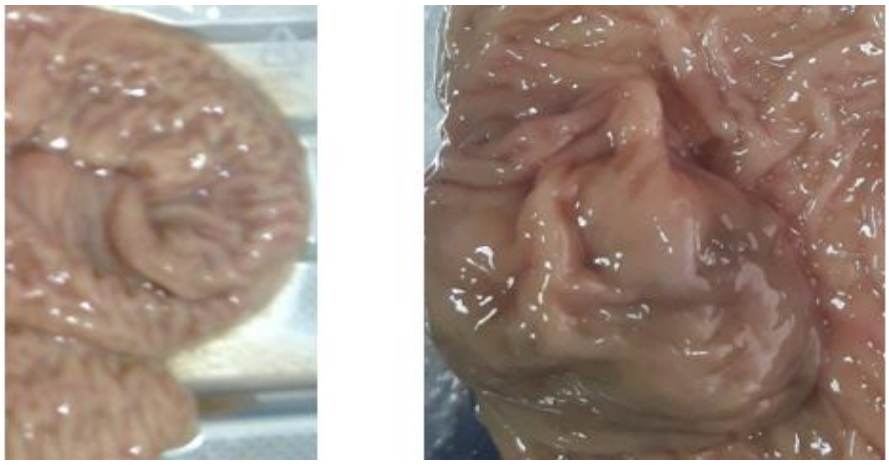
Візуально добре помітна підвищена складчастість слизової оболонки ободової кишки та її потовщення (рис. 10).

Патологоанатомічні зміни підслизового шару, виявлені в товстому відділі кишечнику свідчать про локальне проникнення АТМБ через слизову оболонку товстої кишки. Підслизовий шар кишечника багатий на лімфоїдні елементи у вигляді солітарних фолікулів та пейєрових бляшок, де і відбувається взаємодія між АТМБ та клітинними елементами імунної системи організму тварини, вказуючи тим самим на активний перебіг інфекційного процесу. З іншого боку це є свідченням того, що аліментарний шлях інфікування організму мікобактерій є одним із основних.

АТМБ, розмножуючись у підслизовому шарі кишечнику, забезпечують ***ентобіотичну*** (внутрішньоорганізменну) фазу існування своєї популяції. Звідси мікобактерії з допомогою незавершеного фагоцитозу потрапляють у мезентеріальні регіональні лімфатичні вузли (***ендогенне*** джерело мікобактеріозної інфекції) або, виділяючись із фекаліями з кишечника,

потрапляють у зовнішнє середовище, виступаючи при цьому як ***екзогенне*** джерело АТМБ для інших тварин.

У більшості забитих з діагностичною метою тварин окрім поперечної складчастості слизової оболонки товстого відділу кишечнику виявляли локальні патологоанатомічні зміни в ободовій кишці у вигляді дивертикулів (рис. 11). Ці дивертикули як місцевий прояв інфекційного процесу за мікобактеріозу, спричиненого НТМБ, добре помітні з боку серозної оболонки як місцеве потовщення стінки з темнішим кольором серозного покриву.



А **Б**

Рис. 11. Утворення дивертикулів у слизовій оболонці ободової кишки.

Примітка: А – дивертикул у стінці слизової оболонки ободової кишки; **Б** – вип’ячування слизової оболонки товстої кишки у просвіт кишечника.

Виявлені патологоанатомічні зміни в товстому відділі кишечника не характерні для патологічних змін за туберкульозного процесу. Проте вони свідчать про наявність локальних осередків інфекційного процесу різної інтенсивності в організмі позитивно реагуючих на туберкулін чи ААМ корів. У більшості випадків вони залишаються не поміченими навіть для спеціалістів, які проводять після забійну ветеринарно-санітарну експертизу туш та органів. Тварини із скритим перебігом мікобактеріозу є активним джерелом поширення АТМБ. Тривала персистенція АТМБ в організмі сприйнятливих тварин веде до вдосконалення існуючих та розкриття нових

факторів патогенності в персистуючих в організмі тварин АТМБ, що в кінцевому наслідку сприяє подальшій еволюції патогенності мікобактерій.

Наведені нами докази патогенетичної дії АТМБ на організм інфікованих тварин, що проявляється видимими патологоанатомічними змінами, ми підтвердили гістоморфологічними дослідженнями лімфатичних вузлів.

3.6.2. Гістоморфологічна діагностика

Комплексне вивчення епізоотичної ситуації в досліджуваному господарстві впродовж 2017–2023 рр. дало можливість з'ясувати, що стадо великої рогатої худоби молочнотоварної ферми вільне від збудника туберкульозу, а реакції корів на туберкулін мають парааллергічну природу. Виявлені патологоанатомічні зміни в реагуючих на туберкулін та ААМ корів, забитих з діагностичною метою, підтвердили наше припущення, що серед тварин дійного стада функціонує епізоотичний процес, спричинений інфікуванням організму корів АТМБ, які й спричинили латентний мікобактеріоз [3, 5].

Для підтвердження цього висновку, а також з метою глибшого розуміння інфекційного процесу, спричиненого НТМБ, ми намагалися детально вивчити гістоморфологічні зміни у лімфатичних вузлах, відібраних від кожної забитої з діагностичною метою тварини. Тут ми подаємо найбільш типові гістоморфологічні зміни, які були виявлені в лімфовузлах від корів, які позитивно реагували на один або обидва алергени (рис. 12–19).

У більшості випадків проведення діагностичних забоїв з досліджуваного нами господарства на забій відправляли тварин, яких вибракували за показниками господарської доцільності (тварина з якихось причин перегулює; тварина не доїться на дві чверті вимені; тварина схильна до ожиріння, що супроводжується нездатністю до запліднення та ін.), Лімфатичні вузли від таких тварин служили в наших дослідження як ***контрольні***. Вони були досліджені паралельно за тими самими показниками як лімфатичні вузли, що були відібрані від тварин, які дали

позитивні реакції, які можна назвати, ***дослідними***. На рис. 12 подана гістоморфологічна структура піднижньощелепового лімфатичного вузла, лімфовузла за фізіологічної норми, відібраного від контрольної тварини, тобто тварини, яка не реагувала на жоден алерген.

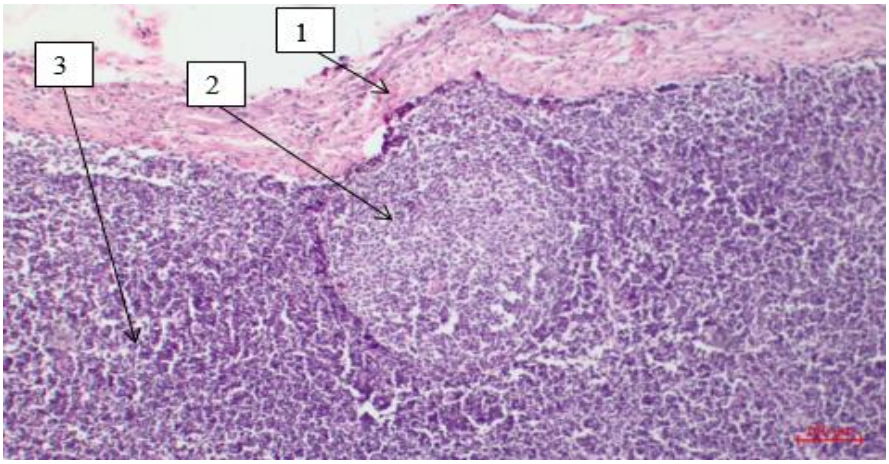


Рис. 12. Будова піднижньощелепового лімфатичного вузла за фізіологічної норми (гематоксилін-еозин; 10×20).

Примітка: 1 – капсула лімфатичного вузла; **2** – лімфатичний фолікул; **3** – кіркова зона.

Аналізуючи гістологічну картину, представлену на рис. 13 і 14, можна стверджувати, що фактори патогенності АТМБ справляють свій вплив на імунну систему організму. У лімфатичних фолікулах розвиток інфекційного процесу починається із формування первинних вузликів, до складу яких входять лімфоцити та складові ретикулярної тканини. Згодом під впливом факторів агресії мікобактерій тут відбувається деградація лімфоцитів, зокрема набухає їх цитоплазми, розвивається її еозинофілія, наступають зміни в ядрах (каріопікноз (зморщення), зростає базофілія). Все це в кінцевому наслідку веде до некрозу лімфоцитів.

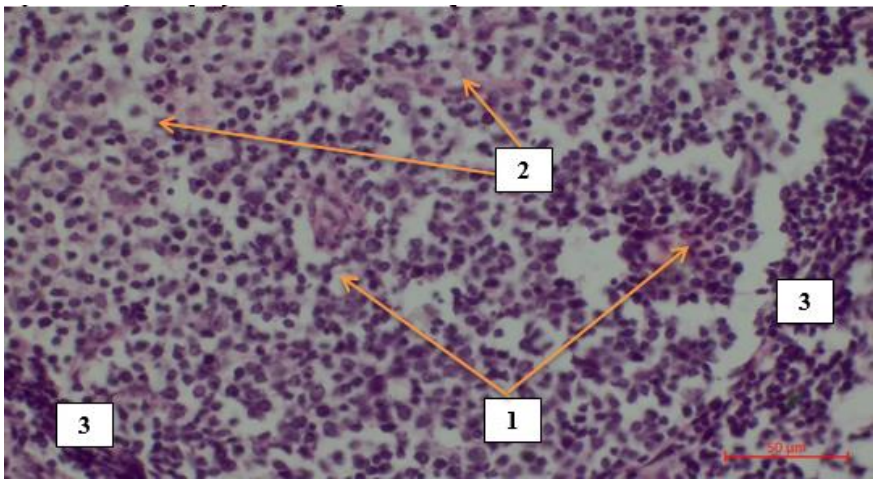


Рис. 13. Реактивні центри у лімфатичному фолікулі як результат реакції лімфоцитів на чужорідні антигени на ранніх стадіях інфікування (гематоксилін-еозин; 10×40).

Примітка: 1 – початкові стадії формування первинних вузликів із лімфоцитів; **2** – ретикулоцити під впливом екзотоксинів мікобактерій; **3** – периферія реактивного центру.

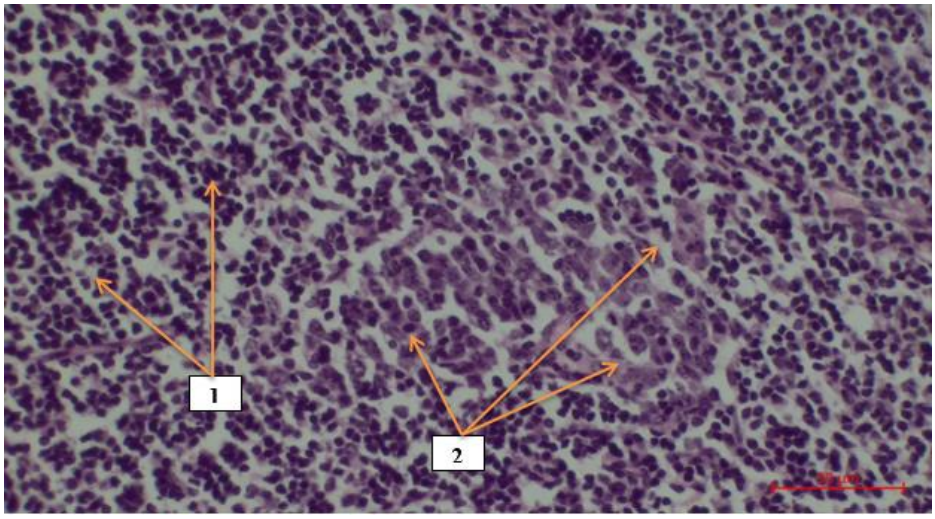


Рис. 14. Реактивні центри у лімфатичному фолікулі як результат реакції лімфоцитів на чужорідні антигени на ранніх стадіях інфікування (гематоксилін-еозин; 10×40).

Примітка: 1 – скупчення нормальних лімфоцитів; **2** – деградовані лімфоцити з вираженим каріопікнозом та каріорексисом під впливом екзотоксинів мікобактерій у процесі формування первинних вузликів.

Із збільшенням тривалості інфікування організму АТМБ їх вплив на клітинному і тканинному рівнях характеризується зростаючою альтерацією

лімфоїдних елементів як реактивних вузлів, так і всієї кіркової, зрештою і мозкової зон, що добре було видно за проведення патологоанатомічного дослідження лімфовузлів.

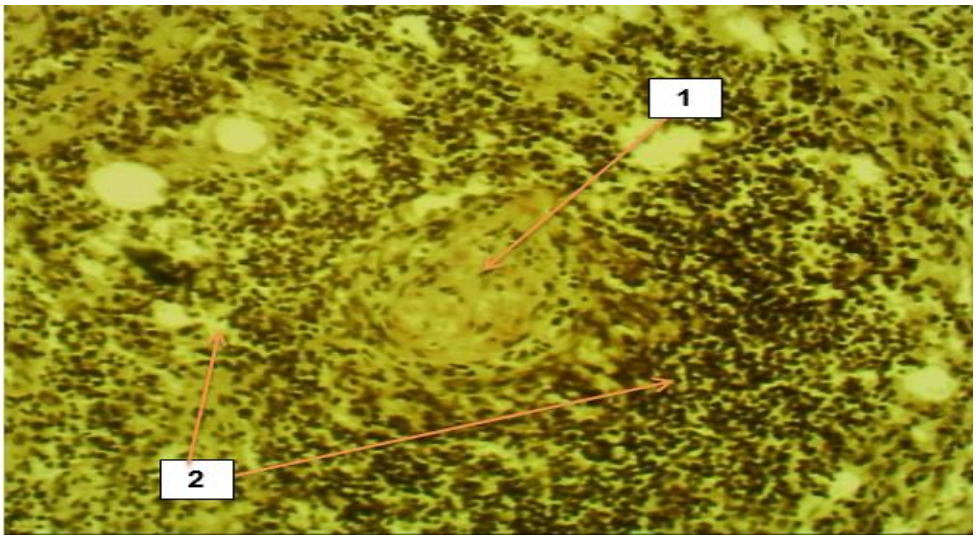


Рис. 15. Формування вузликів в інфікованих НТБМ заглоткових лімфатичних вузлах на пізніших стадіях інфекційного процесу (фарбування гематоксилін-еозином, 10×20)

Примітка: 1 – клітинний детрит у центрі вузлика; **2** – скупчення лімфоїдних елементів навколо детриту.

На пізніших стадіях інфекційного процесу на місці загибелі лімфоцитів формується клітинний детрит (рис. 15.1 і 16.1), утворюється виражений первинний вузлик, який оточений значним шаром лімфоцитів (рис. 15.2 і 16.2).

Подібні гістоморфологічні зміни виявляли в гістозрізах із надвим'яних лімфатичних вузлів (рис. 16). Тут добре видно утворення первинних вузликів із клітинним детритом у центрі (рис.16.1), незначне периферичне скупчення лімфоцитів (рис.16.2), утворення добре помітної капсули з епітеліоїдних елементів (рис.16.3). Звапнення цих капсул, як це буває при ураженні мікобактеріями туберкульозного комплексу (*M. bovis* або *M. tuberculosis*), ми не спостерігали.

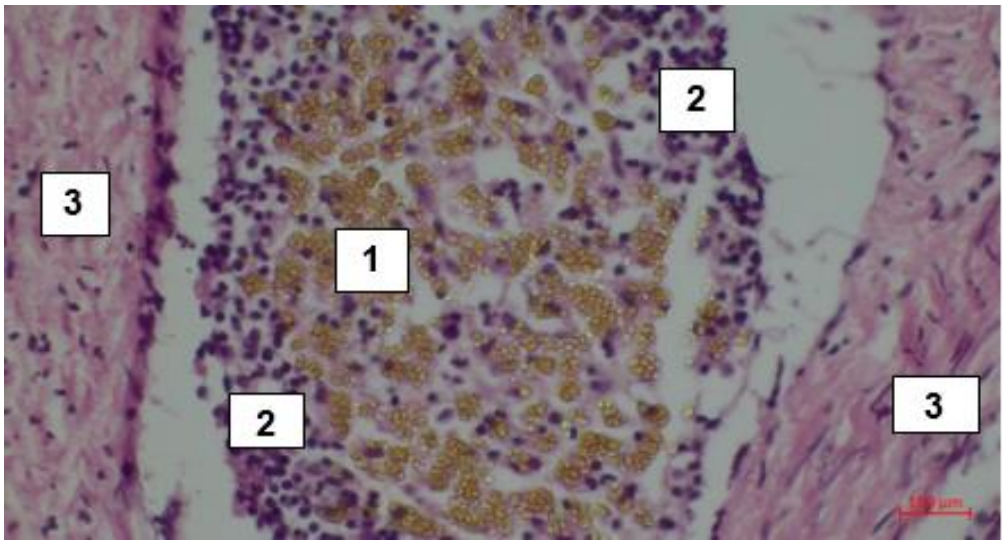


Рис. 16. Формування вузликів у надвим'яних лімфатичних вузлах, інфікованих АТМБ, на пізніших стадіях інфекційного процесу (гематоксилін-еозин; 10×40).

Примітка: 1 – клітинний детрит у центрі вузлика; **2** – скупчення лімфоїдних елементів навколо детриту; **3** – формування капсули із епітеліоїдних клітин.

Епітеліоїдні тяжі, з яких формуються сполучнотканинні капсули, зливаються між собою, витісняючи або заміщаючи при цьому первинні вузлики, які формуються в реактивних центрах, а згодом й самі лімфоїдні фолікули, унаслідок чого спричиняють атрофію як мозкової, так і кіркової зони, що добре видно на рис. 5.1.

Розростання епітеліоїдної тканини призводить до атрофії лімфоїдної тканини лімфовузлів (рис. 17.1). У старших корів (7–9-ти років) спостерігали значно вираженішу атрофію кіркового шару лімфовузлів порівняно з такою патологією в корів молодшого віку. Очевидно, триваліший вплив факторів агресії мікобактерій на лімфоїдну тканину вузлів спричиняє значнішу за глибиною і незворотністю змін атрофію кіркової зони.

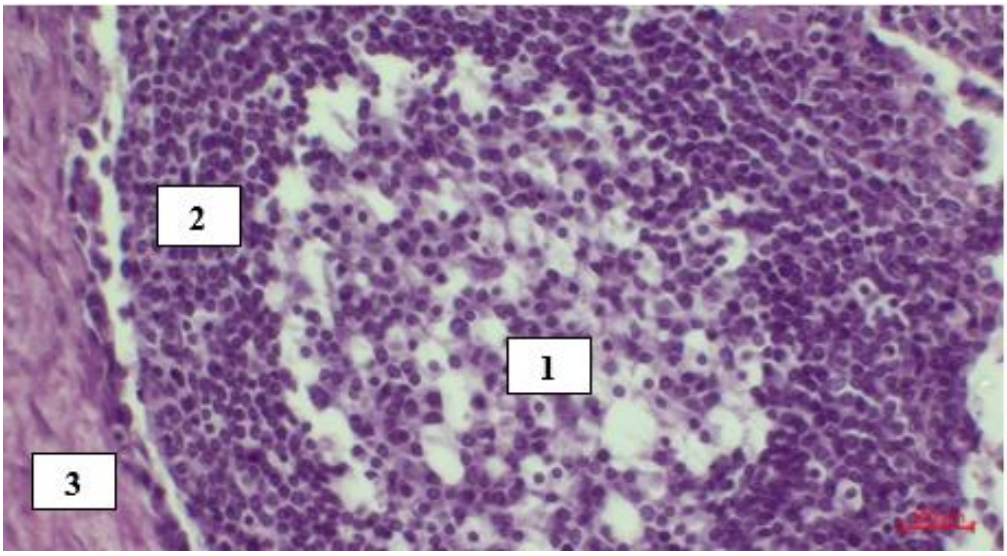


Рис. 17. Формування вузликів в надвим'яних лімфатичних вузлах, інфікованих атиповими мікобактеріями (гематоксилін-еозин; 10×40).

Примітка: 1 – некроз лімфоцитів у центрі вузлика, фрагментація ядер та конденсація хроматину, випадання цілих ділянок змертвілих клітин; **2** – зона лімфоцитів навколо детриту; **3** – капсула із епітеліоїдних клітин.

Гістоморфологічні зміни в лімфатичних вузлах свідчать про наявність і функціонування активного хоча й скритого інфекційного процесу в організмі корів. Він спричинений атиповими мікобактеріями. Їх ми виділяли та ідентифікували з усіх взятих для бактеріологічного дослідження лімфатичних вузлів. Проте видимі патанатомічні зміни ми виявляли лише за умови детального дослідження заглоткових, надвим'яних, середостінних, мезентеріальних, зрідка у піднажньощелепових і дуже рідко у вузлах колінної складки [55, 136].

Ці зміни як і крововиливи в кіркову зону вдається виявляти візуально за умови сагітального розрізу вузлів. Сформовані первинні вузлики патогенного впливу мікобактерій, які добре помітні при гістологічному дослідженні, є зовсім непомітними за візуального виявлення патологічних змін [7, 137, 158].

На нашу думку, первинні вузлики виникають як наслідок масованого і тривалого антигенного впливу на органи імунної системи, зокрема лімфатичні вузли, АТМБ. Клітинні реакції, що відбуваються при цьому в реактивних зонах, призводять до загибелі лімфоцитів і переродження їх в

епітеліоїдні клітини (рис. 17). Останні, формуючи епітеліоїдні тяжі, пронизують кірковий шар, витісняють лімфоїдну тканину, викликаючи атрофію останньої.

Було відмічено наявність гранульом у лімфатичних вузлах (рис. 8. А.1), Вони виникають як відповідь імунної системи на тривалий місцевий вплив токсинів НТМБ на організм. Це призводить до гранульоматозного запалення. В основі розвитку гранульом у лімфатичних вузлах лежить первинна периваскулярна інфільтрація CD4+ Т-лімфоцитами, які поступово (впродовж 2–3 тижнів) заміщуються макрофагами, а останні внаслідок їх активації цитокінами, збільшуються в розмірах, цитоплазма їх стає еозинофільною і вони поступово трансформуються в епітеліоїдні клітини. Деякі цитокіни, наприклад IFN-γ, впливаючи на трансформовані епітеліоїдні клітини, перетворюють їх на багатоядерні гігантські клітини [143].

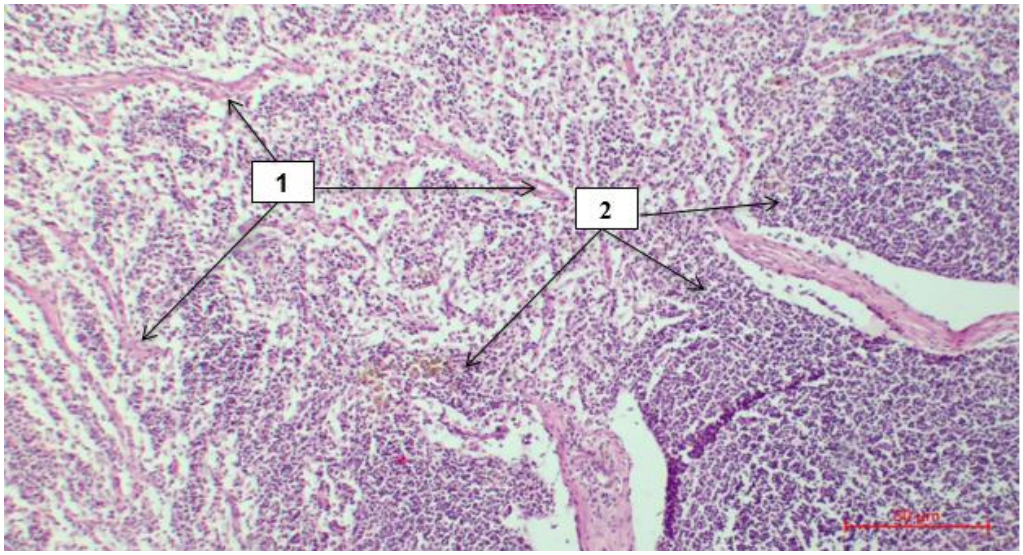


Рис. 18. Заміщення лімфоїдної тканини епітеліоїдними елементами в мезентеріальному лімфатичому вузлі, інфікованому АТМБ гематоксилін-еозин; (10×20).

Примітка: 1 – тяжі із епітеліоїдних клітин; **2** – залишки лімфоїдної тканини.

Осередки проникнення та розмноження мікобактерій призводять до накопичення епітеліоїдних клітин, у тому числі й гігантських. А ці

скупчення, у свою чергу, оточуються товстим валом лімфоцитів, унаслідок чого утворюються гранульоми (рис. 19).

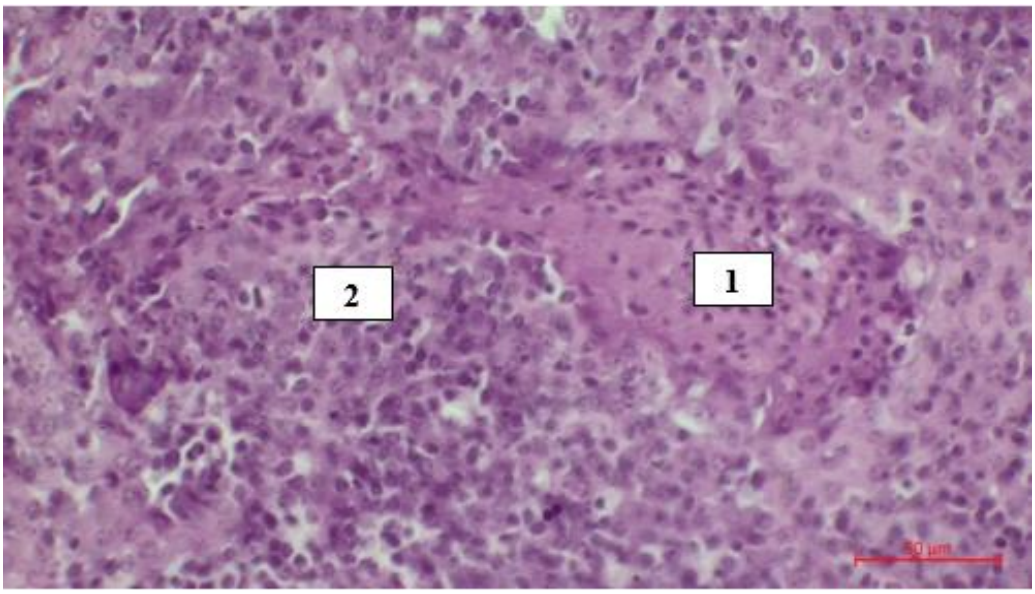


Рис. 19. Утворення гранульом (гематоксилін – еозин; 10×40)

Примітка: 1 – скупчення епітеліоїдних клітин, які оточені товстим валом лімфоцитів (**2**).

В основі механізму ушкодження тканин при багатьох захворюваннях аутоімунного характеру або таких, що спричинені неконтрольованими реакціями на бактерії-коменсали або АТМБ за їх постійного і в значних кількостях потрапляння в організм тварин (у людей запальні захворювання кишок) лежить Т-клітинно-опосердковане запалення [143].

У проведеному дослідженні джерелом потрапляння в органи і тканини організму корів АТБМ був хронічний локальний інтерстиціальний коліт, що добре видно на рис. 10 і 11.

Патоморфологічні зміни, представлені на рис. 13–19, виникають на клітинному і тканинному рівнях і, зазвичай, є незворотніми. На представлених рисунках відображені процеси формування первинних реактивних вузликів із лімфоцитів і ретикулярної тканини, деградацію лімфоцитів (набряк цитоплазми, її еозинофілія; зміни ядер, що ведуть до каріопікнозу (зморщення), а це, у свою чергу, до збільшення базифілії і каріорексису (фрагментація ядра), що завершується каріолізисом

(розплавленням) ядер і некрозом лімфоцитів. Уражена лімфоїдна тканина заміщається епітеліальною, а це, в свою чергу, веде до атрофії паренхіми лімфаьтичних овузлів.

Щодо сенсибілізації організму до антигенів АТБМ, то вона, очевидно, уже починається на стадії формування первинних вузликів у реактивних центрах лімфатичних вузлів і підсилюється кожною наступною порцією мікобактерій, які потрапляють в організм із зовнішнього середовища.

Зважаючи на це, видається дуже важливим підтвердити наше припущення багаторазовими бактеріологічними дослідженнями біологічного матеріалу, відібраного від тварин, які дали позитивні реакції на один або обидва алергени мікобактерій, щоб бути впевненими в правдивості наших суджень, стосовно етіопатогенезу парааллергічних реакцій у продуктивних тварин.

З іншого боку, дослідження абіотичних джерел атипових мікобактерій дасть можливість виявити найбільші біоризики інфікування тварин цими мікроорганізмами з тим, щоб в майбутньому вибудувати стратегічні напрямки та тактичні кроки щодо зведення нанівець проявів парааллергічних реакцій у продуктивних тварин.

З цих міркувань проведення бактеріологічного дослідження біоматеріалів, відібраних від тварин, які дали позитивні реакції на один або обидва алергени і були забиті з діагностичною метою, буде логічним доповненням комплексності наших досліджень і дасть змогу вияснити етіологічну роль окремих видів АТМБ у виникненні парааллергічних реакцій на туберкулін та буде вагомою основою для подальших наукових пошуків шляхів та засобів профілактики мікобактеріозів у продуктивних тварин, як одного із потенційних джерел НТМБ для населення.

3.6.3. Мікробіологічна діагностика мікобактеріозів

Мікробіологічна діагностика мікобактеріозів – групи інфекційних захворювань, що спричиняються мікобактеріями, найвідомішим з яких є

збудник туберкульозу, а найпоширенішими – атипові мікобактерії, має низку виняткових особливостей, що обумовлені специфікою будови та фізіології збудників. Вони роблять діагностику мікобактеріозів тривалішою і складнішою у виконанні [131, 136].

Мікробіологічне дослідження біоматеріалу (лімфатичні вузли, шматочки змінених ділянок паренхіматозних органів і товстого відділу кишківника), відібраного від тварин, які дали позитивні реакції на уведення алергенів (туберкуліну та ААМ) і були забиті з діагностичною метою, зводилося до наступних кроків:

1. Передпосівна обробка досліджуваного матеріалу.

2. Мікроскопія мікропрепаратів, виготовлених із матеріалу після його первинної обробки;

3. Висіви обробленого матеріалу на середовище Левенштейна-Йєнсена з наступною інкубацією посівів за 37° С.

4. Контроль росту посівів.

5. Ідентифікація ізолятів мікобактерій.

Передпосівну обробку досліджуваного матеріалу проводили трьома способами: за А.П. Алікаєвою, за А.А. Петровим і 10% розчином тринатрійфосфату. На перших чотирьох діагностичних забоях передпосівну обробку матеріалу проводили лише за методом А.П. Алікаєвої. Це вже за наступних досліджень, коли достеменно було доведено, що реакції на туберкулін мають параалергічну природу, тобто вони є наслідком інфекційного процесу, спричиненого АТМБ, ми почали застосовувати паралельно передпосівну обробку матеріалу іншими двома методами як більш щадними стосовно атипових нетуберкульозних мікобактерій з тим, щоб виявнити, які види АТМБ найчастіше спричиняють інфекційний процес і сенсибілізують організм інфікованих тварин.

З метою дати порівняльну оцінку ефективності трьох загально прийнятих методів передпосівної обробки матеріалів нами було проведено відповідний дослід. Умовами досліду були однотипність біологічного

матеріалу, як основи для передпосівної обробки, та суспензії трьох різних видів мікобактерій, які були однакові за концентрацією мікробної маси та умовами її приготування.

Свіжовідібрані лімфатичні вузли (передлопаткові, залопаткові та колінної складки) від клінічно здорових тварин, які за алергічного дослідження на туберкульоз симультанною пробою не дали позитивних реакцій (контрольні тварини, див р. 3.), були використані для виготовлення гомогенату, що служив у досліді як біологічний матеріал.

Як тест-культури використали 2-мільярдні суспензії таких видів мікобактерій, як *M. bovis* (дослід №1), *M. fortuitum* (дослід №2), *M. scrofulaceum* (дослід №3). У контрольному досліді до гомогенату додавали 0,85 % розчин натрію хлориду в такій самій кількості, як і взяті в дослід 2-мільярдні суспензії тест-культури мікобактерій.

Співвідношення маси гомогенату до суспензії тест-культур становило 9:1.

Кожний вид дослідного гомогенату піддавали передпосівній обробці трьома вище описаними способами:

- за А. Алікаєвою,
- за М. Петровим і
- ТНФ [60, 68].

Оброблені відповідними методами дослідні та контрольні суспензії в дозі 0,25 мл наносили на поверхню середовища Левенштейна-Єнсена в чашках Петрі, старанно витирали з допомогою одноразових шпателів і ставили на інкубацію при 37 °С.

Результати проведених дослідів показані у табл. 5 і 6.

Таблиця 5.

Результати мікроскопічного дослідження гомогенатів лімфатичних вузлів, змішаних із 2-мільярдними суспензіями тест-культур мікобактерій туберкульозного і нетуберкульозного комплексу за різних методів передпосівної обробки матеріалу

Метод обробки матеріалу	**Виявлено типові кислотостійкі мікобактерії у мікропрепаратах, виготовлених із :**							
	Гомогенату лімфатичних вузлів + 2-мільярдна суспензія культури							
	Дослід №1		Дослід №2		Дослід №3		Дослід №4	
	M. bovis		*M. fortuitum*		*M. scrofulaceum*		Фізрозчин	
	Ц-Н	ЛМ	Ц-Н	ЛМ	Ц-Н	ЛМ	Ц-Н	ЛМ
За Алікаєвою	КС+	ЛС+	КС+	ЛС+	КС+	ЛС+	–	–
За Петровим	ЛС+	ЛС+	ЛС+	ЛС+	ЛС+	ЛС+	–	–
ТНФ	ЛС+	ЛС+	ЛС+	ЛС+	ЛС+	ЛС+	–	–

Примітка: **Ц-Н** – фарбування мікропрепаратів за Цілем-Нільсеном; **ЛМ** – фарбування мікропрепаратів аураміном О; **КС+** – виявлено яскраво-червоні кислотостійкі палички; **ЛС+** – виявлено характерне люмінесцентне свічення тонких паличок.

Із даних, наведених даних табл. 5, видно, що внесена кількість туберкульозних паличок у гомогенати лімфатичних вузлів є досить високою (теоретично це становить 0,2 млрд мікробних тіл на 1 $см^3$ гомогенату), і за будь-якої передпосівної обробки матеріалу із трьох, що ми випробовували, дає можливість виявляти мікобактерії в кожному полі зору як методом світлової мікроскопії (фарбування за Цілем-Нільсеном), так і методом люмінесцентної мікроскопії (фарбування аураміном О).

Кількісну оцінку ефективності методів передпосівної обробки гомогенатів за допомогою світлової мікроскопії за Цілем-Нільсеном дати неможливо, бо більшість виявлених кислотостійких мікобактерій знаходяться не ізольовано, а у виді більших чи менших конгломератів, що

являють собою згруповані мікобактерії. Тому навіть збільшення мікрофотографій того чи іншого поля зору за допомогою спеціальних програм не дає такої можливості.

Очевидно, це пов'язано з тим, що мікобактерії всіх трьох видів у своїй клітинній стінці містять високий вміст воско- і жироподібних речовин, які, маючи сильно виражені гідрофобні властивості, у середовищі з високим вмістом води, тримаються купи, тобто утворюють більші або менші за розміром конгломерати. Це лежить в основі корд-фактору – явища, характерного для мікобактерій туберкульозного комплексу. І чим вищий вміст гідрофобних субстанцій (восків, міколевих кислот тощо) у клітинній стінці мікобактерій, тим більше мікобактерій об'єднуються в такі конгломерати. А тому кількісна оцінка, яку ми намагалися провести, застосовуючи мікроскопічний метод (в обох варіантах), виявилася невдалою і далекою до об'єктивності. Виявлення в мазках мікобактерій свідчить про їх наявність. Але це не дає відповіді на питання – живі ці мікобактерії чи неживі і яка їх реальна кількість у досліджуваному матеріалі.

Тому відповідь на питання про ефективність того чи іншого методу передпосівної обробки може дати лише бактеріологічний метод з використанням таких живильних середовищ, які забезпечують ріст і розмноження як мікобактерій туберкульозного, так і нетуберкульозного комплексу, тобто НТМБ.

Дещо іншу картину спостерігаємо за оцінки впливу деконтамінантів, які передбачає той чи інший метод передпосівної обробки гомогенатів на кількість мікобактерій, що вижили під їх впливом (див. табл. 6).

У цій таблиці ми не акцентували уваги на швидкості росту тест-культур, тобто не вказували, на яку добу від моменту посіву з'являлися перші колонії, бо це не було метою досліду. Важливим було, скільки колоній появилося на засіяних чашках, тобто скільки бактерій за обробки тим чи іншим методом залишилися життєздатними і утворили колонії.

Таблиця 6.

Результати мікробіологічного дослідження гомогенатів лімфатичних вузлів, змішаних із 2-мільярдними суспензіями тест-культур мікобактерій туберкульозного і нетуберкульозного комплексу за різних методів передпосівної обробки матеріалу

Метод обробки матеріалу	**Характер росту та кількісні показники росту на середовищі Левенштейна-Йєнсена**			
	Гомогенат лімфатичних вузлів + 2-мільярдна суспензія культури			
	Дослід №1	Дослід №2	Дослід №3	Дослід №4
	M. bovis	*M. fortuitum*	*M. scrofulaceum*	Фізрозчин
За Алікаєвою	Рхк+; КК +2	Рхк–; КК +1	Рхк–; КК +1	Рхк–
За Петровим	Рхк+; КК +3	Рхк+; КК +2	Рхк+; КК +2	Рхк–
ТНФ	Рхк+; КК +4	Рхк+; КК +3	Рхк+; КК +4	Рхк–

Примітка: **Рхк+** – є ріст характерних колоній ; **Рхк–** – ріст характерних колоній відсутній; **КК** – кількість колоній; цифри від +**1 до +4** – вказують на середню кількість колоній, виявлених у засіяній пробірці із середовищем Левенштейна-Йєнсена; **1** – до 10 колоній; **2** – до 20 колоній; **3** – до 50 колоній; **4** – більше 50 колоній або суцільний газон.

Із даних наведених у табл. 6, бачимо, що ріст характерних колоній виявлено в усіх дослідних чашках.

Як свідчать результати табл. 6, передпосівна обробка гомогенату сульфатною кислотою (за А. Алікаєвою) виявилася найбільш жорсткою, як відносно повільно зростаючих (*M. bovis, M. scrofulaceum*), так і швидко зростаючих (*M. fortuitum*). Так, у гомогенатах усіх трьох дослідів спостерігали ріст характерних для цього виду колоній, але їх кількість на поверхні середовища є нижчою (до 20 колоній – для *M. bovis* і до 10 колоній – для *M. fortuitum* і для *M. scrofulaceum*) у порівнянні із такими за підготовки гомогенатів за М. Петровим (до 30 колоній – для *M. bovis* і до 20 колоній – для *M. fortuitum* і для *M. scrofulaceum*) чи ТНФ (до 40 колоній – для

M. bovis, до 30 колоній – для *M. fortuitum* і до 30 колоній – для *M. scrofulaceum*).

Цей факт можна пояснити значно вищим вмістом аліфатичних радикалів із високим рівнем атомів вуглецю в мікобактеріях туберкульозного комплексу (*M. bovis*), що надає їм вищої гідрофобності, а, отже, і стійкості до негативного впливу сульфатної кислоти і лугу, як сильних деконтамінантів. 10% розчин натрію фосфату виявився найбільш щадним деконтамінантом, відносно всіх трьох взятих у дослід видів мікоактерій, що підтверджує результати дослідів, отриманих іншими науковцями [10, 169].

Отримавши такі результати, у наступних мікробіологічних дослідженнях біологічних та абіотичних об’єктів з метою виділення АТМБ матеріалів ми переважно використовували обробку 10 % розчином ТНФ, як найбільш щадним методом передпосівної обробки.

Мікроскопія мікропрепаратів, виготовлених із матеріалу після його первинної обробки, зводилася до фарбування за методом Ціль-Нільсена (світова мікроскопія) і оброки спиртовим розчином аураміну О (люмінесцентна мікроскопія) (рис. 20 і 21). Особливості фарбування, знебарвлення та промивки мікропрепаратів за обох методів фарбування описані в багатьох методиках та наукових працях, а тому ми на них зупинятися не будемо. Відзначимо, що АТМБ у мікропрепаратах за світлової мікроскопії давали часто мінливі результати, особливо це стосувалося мікропрепаратів виготовлених із культур на середовищі Левенштейна-Йєнсена. Це до певної міри можна пояснити неможливістю приготування однотипних серій середовища, адже для кожної з них завжди брали нову партію курячих яєць, які за поживними властивостями (вмістом каротиноїдів, фосфоліпілів, лецитину тощо) різнилися між собою.

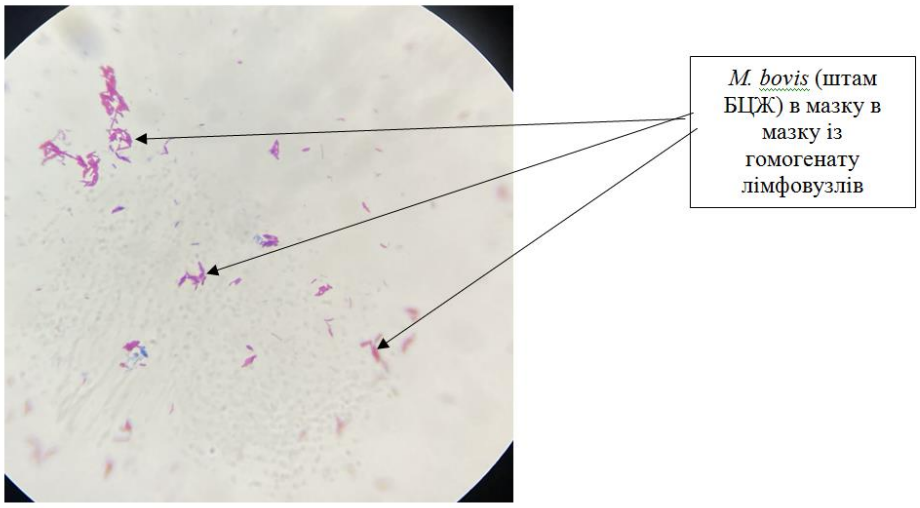


Рис. 20. Мікобактерії в мазках із гомогенату лімфатичних вузлів після передпосівної обробки (фарбування за Цілем-Нільсеном, збільш. 10×100).

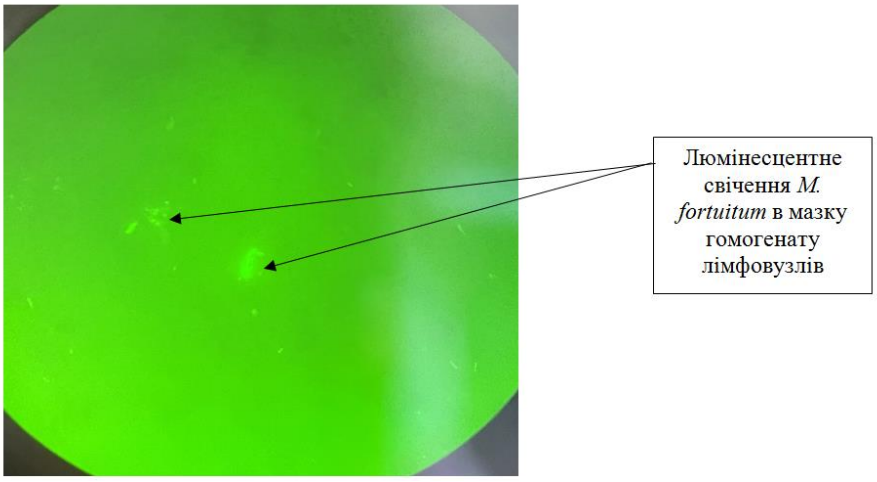


Рис. 21. Мікобактерії в мазках із гомогенату лімфатичних вузлів після передпосівної обробки (фарбування аураміном О, збільш. 10×100).

Як видно із рис. 20 і 21, мікобактерії як туберкульозного комплексу (*M. bovis*), так і нетуберкульозного (*M. fortuitum*) у мікропрепаратах із пороговою концентрацією мікробної маси в досліджуваному матеріалі добре виявляються за допомогою обох методів мікроскопії – світлової та люмінесцентної. Це є підставою для підтвердження того, що мікроскопічний метод у мікробіологічній діагностиці туберкульозу та інших мікобактеріозів, що спричиняються НТМБ, за добре відпрацьованої методики підготовки та

фарбування мікропрепаратів і достатнього професійного досвіду лаборантів є ефективним засобом доказової бази лабораторної діагностики цих інфекцій.

З іншого боку, зважаючи на лабільність тинкторіальних властивостей мікобактерій, комплексне застосування обох методів мікроскопії має більше шансів на виявлення НТМБ, особливо у матеріалах із абіотичних об'єктів. Такий підхід нами був застосований упродовж усього періоду досліджень.

Культуральний метод у мікробіологічній діагностиці мікобактеріозів є «золотим» стандартом [68]. Кожний матеріал, відібраний від тварин, забитих з діагностичною метою, піддавали передпосівній обробці за методом А.П. Алікаєвої і висівали на середовище Левенштейна-Йєнсена. У табл. 7 наведено результати виділення ізолятів мікобактерій за період досліду.

Таблиця 7.

Результати культурального дослідження біоматеріалів, відібраних від тварин, які дали позитивні реакції на один або обидва алергени

№ нп	Дата дослідження	Кількість ізолятів мікобактерій виділених із груп лімфовузлів					
		Заглоткових	Піднижньощелепних	Середостінних	Брижейкових	Надвим'яних	Всього
1	02.05.–03.06.2021	3	4	2	3	2	14
2	10.11.–11.12.2021	2	2	1	2	1	8
3	04.05.–06.06.2022	3	2	3	2	2	12
4	09.11.–10.12.2022	2	1	1	2	2	8
5	31.05.–01.06.2023	3	3	2	3	3	14
6	08.11.–09.12.2023	1	1	1	2	1	6
7	29.05.–29.06.2024	2	2	2	2	2	10

M±m	2,3±0,4**	2,1±0,5*	1,7±0,4*	2,3±0,4**	1,9±0,3*	10,3±1,3**
Всього	16	15	12	16	13	72
Відсоток	22,2	20,8	16,7	22,2	18,1	100
Коефіцієнт кореляції	–	0,77	0,23	0,47	0,64	–

Примітка: * - p<0,09; ** - p <0,095

З наведених у табл. 7 даних видно, що від 31 забитої з діагностичною метою тварини виділено 72 ізоляти мікобактерій, з них із заглоткових лімфатичних вузлів 16 (M±m = 2,3±0,4), що становить 22,2% до всієї кількості ізолятів, із піднижньощелепних – 15 (M±m = 2,1±0,5; 20,8%), середостінних – 12 (M±m = 1,7±0,4; 16,7%), брижових – 16 (M±m = 2,3±0,4; 22,2%) і надвим'яних – 13 (M±m = 1,9±0,3; 18,1%). Ці дані вказують на те, що інфікування тварин мікобактеріями проходило, головним чином, аліментарно, бо найбільшу кількість ізолятів виділено із заглоткових, піднижньощелепних і брижових лімфатичних вузлів – 47, що становить 65,2%, тоді як із середостінних лімфатичних вузлів – лише 12 культур мікобактерій. Отримані дані свідчать про те, що головним фактором передачі мікобактерій є корми і вода. Ці спостереження підтверджуються коефіцієнтом кореляції між кількістю виділених культур мікобактерій із заглоткових та піднижньощелепних є досить високим і становить 0,77. Це свідчить про те, що вхідними воротами для мікобактерій є слизова оболонка ротової порожнини. В той же час коефіцієнт кореляції між кількістю ідентифікованих НТМБ із піднижньощелепних та середостінних в тричі менший і становить 0,23, що є свідченням превалювання аліментарного шляху потрапляння НТМБ в організм тварин над аерогенним. Це припущення підтверджується іншим коефіцієнтом кореляції – між кількістю ізолятів НТМБ, виділених із середостінних та брижових лімфатичних вузлів, який становить 0,47. Найвищий коефіцієнт кореляції встановлено між кількістю ізолятів НТМБ, виділених із заглоткових та брижових лімфатичних вузлів – 1,00, який свідчить про те, що основними вхідними воротами для

НТМБ є слизові оболонки харчо-травного тракту, починаючи із ротової порожнини і закінчуючи товстим відділом кишечника.

Дуже важливим показником, що свідчить про можливість виділення мікобактерій не тільки через травний тракт, але й з молоком, є показник кількості ізолятів культур мікобактерій, виділених із надвим'яних лімфатичних вузлів, який становить 18,1%, тобто майже 1/5 від усіх ізолятів. Ці дані побічно вказують на те, що молоко від реагуючих на один або обидва алергени тварин є потенційним джерелом збудників мікобактеріозів.

І ще одна, але вже епізоотологічна деталь, на яку варто звернути увагу, аналізуючи дані табл. 7, – це сезонна динаміка кількості культур мікобактерій, виділених з біоматеріалів, відібраних у різні сезони. Так, із біоматеріалів, відібраних у листопаді, кількість ізолятів мікобактерій є нижчою – 22 культури (8+8+6), ніж кількість культур, ізольованих з біоматеріалів, які були відібрані в червні – 40 (14+12+14). Ці дані підтверджують наші епізоотологічні спостереження, зроблені на основі результатів алергічних досліджень стада за допомогою симультанної проби. Адже і в цьому випадку, як і у випадку із сезонною динамікою ізолятів мікобактерій, спостерігаємо подібну картину – кількість культур, виділених від реагуючих тварин після літньо-вигульного утримання, є значно меншою, ніж кількість ізолятів, виділених від тварин після їх стійлового утримання, і співвідноситься як 1 до 1,8 (22 : 40).

Коефіцієнт кореляції між кількістю виділених культур мікобактерій із заглоткових та піднижньощелепних є досить високим і становить 0,77. Це свідчить про те, що вхідними воротами для мікобактерій є слизова оболонка ротової порожнини. В той же час коефіцієнт кореляції між кількістю ідентифікованих НТМБ із піднижньощелепних та середостінних в тричі менший і становить 0,23, що є свідченням превалювання аліментарного шляху потрапляння НТМБ в організм тварин над аерогенним. Це припущення підтверджується іншим коефіцієнтом кореляції – між кількістю ізолятів НТМБ, виділених із середостінних та брижових лімфатичних вузлів,

який становить 0,47. Найвищий коефіцієнт кореляції встановлено між кількістю ізолятів НТМБ, виділених із заглоткових та брижових лімфатичних вузлів – 1,00, який свідчить про те, що основними вхідними воротами для НТМБ є слизові оболонки харчо-травного тракту, починаючи із ротової порожнини і закінчуючи товстим відділом кишечника.

З цього можна зробити висновок, що за літньо-вигульного утримання тварин відбувається оздоровлення організму тварин від мікобактерій. Можна сказати й по-іншому – протягом літнього періоду інфікування організму корів різко зменшується, що пов'язано із утриманням тварин на свіжому повітрі, де мікробне навантаження на організм значно менше ніж при утриманні у приміщенні.

Проведення ідентифікації ізолятів культур мікобактерій в умовах діагностичної лабораторії було чи не найвідповідальнішим і найбільш кропітким етапом нашого дослідження. Для цього в процесі нашого тривалого досліду використовували такі методи як мікроскопічний, що давав можливість вивчати морфологічні ознаки і тинкторіальні властивості ізолятів, культуральний, за допомогою якого ми характеризували особливості росту (швидкість проростання, форма колоній, пігментоутворення, ріст за різних температур). Крім цього, в ізолятів були вивчені біохімічні та окисно-відновні властивості. Усе це в комплексі дало можливість провести їх остаточну ідентифікацію, не використовуючи молекулярно-генетичних методів, яких у діагностичній лабораторії на час проведення дослідів не було.

Ідентифікацію виділених атипових мікобактерій проводили за низкою показників, які умовно можна об'єднати у дві групи досліджень. Перша група включала такі властивості АТМБ, як швидкість росту, утворення пігменту, каталазно-пероксидазна активність, термостабільність каталази; друга – вивчення морфологічних ознак і тинкторіальних властивостей, здатність рости на середовищі Левенштейна-Йєнсена із додаванням 5% натрію хлориду та натрію саліцилату (500 мкг/мл), гідроліз твіну-80 та ін.

Посіви інкубували в темних термостатах, а за необхідності – на світлі. Після двох діб і далі щоденно відмічали наявність і особливості росту.

Ріст швидкоростучих АТМБ відмічали вже на 2–5-у добу. Колонії таких мікобактерій не були забарвлені і, як правило, мали R-форму. Морфологічно – це короткі кислотостійкі палички, які розташовувалися хаотично, що вказувало на відсутність у них корд-фактору. Такі культури попередньо відносили до *M. fortuitum* – нерухомі, дрібні (1–3×0,2–0,4 мкм), зрідка довгі кислотостійкі палички.

На 5–10-у добу відмічали ріст непігментних атипових мікобактерій. Вони мали вигляд напівпрозорих гладких S-колоній. Серед непігментних форм найчастіше зустрічаються *M. intracellularae, M. avium* і *M. xenopi*. Для їх ідентифікації має значення розмір колоній за оптимальних умов росту – це, зазвичай, дрібні колонії.

На 10–15 добу відмічали ріст АТМБ, що за класифікацією Раньйона відносяться до фотохромогенних. Вони росли при температурі 25 °С і 37 °С у вигляді колоній S- і R-форм кремового (у темряві) і жовтого (на світлі) кольору, який з часом переходить у коричневий (рис. 22).

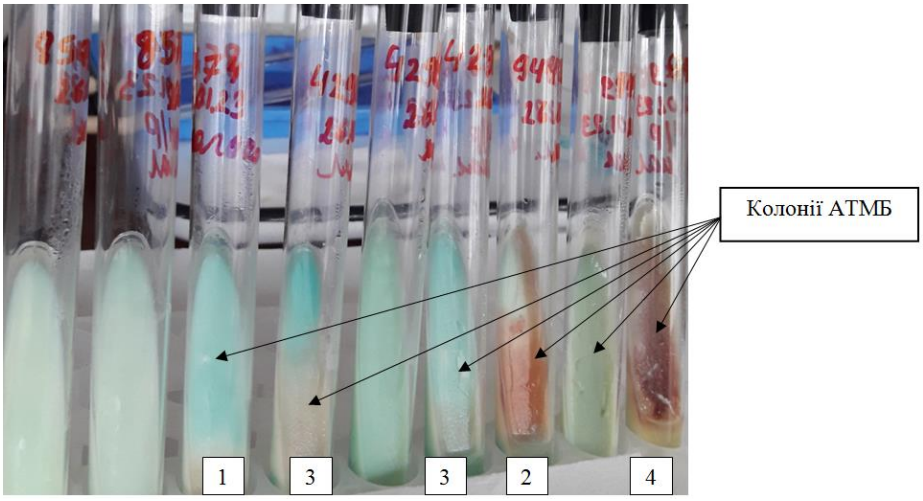


Рис. 22. Ріст АТМБ на середовищі Левенштейна-Йєнсена за 37°С на 20-у добу після посіву.

Примітка: **1** – колонія *M. fortuitum;* **2** – колонія *M. scrofulaceum;* **3** – колонія *M. intracellularae;* **4** – колонія *M. spp.*

За результатами вивчення морфологічно-тинкторіальних властивостей ізолятів АТМБ ми змогли побудувати диференційну таблицю первинної ідентифікації культур атипових мікобактерій (табл. 8).

Таблиця 8.

Диференційна таблиця первинної ідентифікації культур атипових мікобактерій, виділених із лімфатичних вузлів тварин, які дали позитивні реакції на один або обидва алергени

Види мікобактерій	Морфологічні ознаки	Культуральні властивості		
	Форма і колір бактерій (за Цілем-Нільсеном)	Виявлення росту, доба	Форма і колір колоній	Поверхня колоній
M. fortuitum	Короткі, яскраво-червоні	3–5-а	R і S, кремовий	Частіше нерівна
M. intracellularae	Короткі, тонкі, фіолетово-рожеві	5–10-а	R і S, кремовий	Частіше гладка
M. scrofulaceum	Округлі, блідо-бузкові	15–20-а	S, жовто-гарячі	Гладка
M. spp.	Поліморфні булавоподібні. Блідо-бузкові	9–10-а	Темно-коричневі	Матова

Для мікобактерій властива висока мінливість як за морфологічними ознаками, так і за тинкторіальними властивостями [10, 13, 75]. Форма, розміри та угруповання мікробних клітин змінюється залежно від методу фарбування, середовища вирощування, стадії росту та інших фактрів як безпосереднього, так і віддаленого впливу. Так, у мікропрепаратах, забарвлених за Цілем-Нільсеном, АТМБ мали відмінні не лише морфологічні ознаки (поліморфні за розмірами і формою палички), але й тинкторіальні властивості (колір був від яскраво-червоного до світло-бузкового) (рис. 23).

Ізоляти АТМБ добре росли на середовищі Левенштейна-Йєнсена з додаванням 500 мкг/мл натрію саліцилату, а також на середовищі, що містило 5% NaCl. Колонії фотохромогенних мікобактерій вже були помітні на 10-у добу.

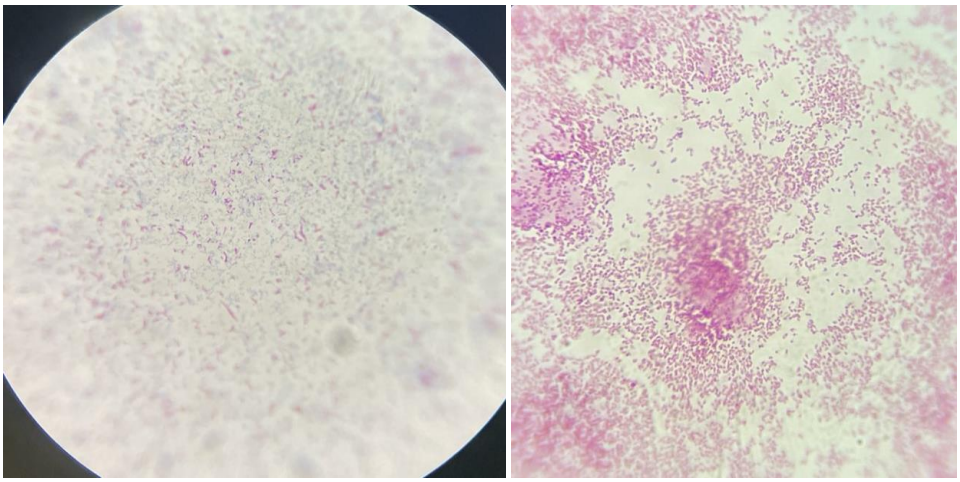


Рис. 23. Поліморфність АТМБ у мікропрепаратах із культур (фарбування за Цілем-Нільсеном, збільш. 10×100).

Ріст кожного виду із виділених нами атипових мікобактерій на середовищі Левенштейна-Йєнсена мав свої особливості. Так, штами *M. fortuitum* росли пишним газоном, у вигляді зморшкуватих R-колоній кремового або жовтого кольору. Вони часто поглинали барвник середовища і мали зеленкуватий відтінок, дещо припіднятий центр, чим нагадували цвітну капусту.

Ізоляти *M. intracellularae* характеризувалися середньою швидкістю росту – видимі колонії були добре помітні вже на 9–10-у добу, але ріст з'являвся дещо раніше. Вони спочатку були безбарвні, а згодом набирали кремового кольору. У той же час поверхня колоній спочатку була гладкою, блискучою, а з часом ставала матовою.

Для ізолятів *M. scrofulaceum* характерним є ріст за 37°С та 25°С, утворення жовтогарячого пігменту.

Температурний діапазон росту атипових мікобактерій на середовищі Левенштейна-Йєнсена дуже різний. Так, *M. fortuitum* та *M. intracellularae* добре росли за 37 °С та при високих температурах (45°С), тоді як *M. scrofulaceum,* не росла за 45°С, але колонії були добре помітні за 37°С та 25°С (табл. 9).

Таблиця 9.

Культуральні відмінності між ізолятами АТМБ за показниками швидкості зростання і температурним діапазоном (n=72)

Ознака	*M. scrofulaceum*	*M. fortuitum*	*M. intracellularae*
Швидкість росту, доба	15–21	2–5	5–10
Ріст при температурі 25° С	+	–	–
Ріст при температурі 37° С	+	+	+
Ріст при температурі 45° С	–	+	+

Примітка: «+» – наявність ознаки, «-» – відсутність ознаки, «±» – варіабельність ознаки.

Важливою ознакою для ідентифікації колоній атипових мікобактерій від туберкульозних є утворення пігменту на світлі та в темряві. Для нетуберкульозних мікобактерій ці властивості є типовими. При культивуванні штамів відзначали утворення пігменту на світлі та в темряві лише у *M. scrofulaceum* (табл. 10).

Таблиця 10.

Культуральні відмінності ізолятів за їх здатністю до пігментоутворення (n=72)

Ознака	*M. scrofulaceum*	*M. fortuitum*	*M. intracellularae*
Утворення пігменту на світлі	+	–	–
Утворення пігменту у темряві	+	–	–
Ніацинова проба	–	–	–

Примітка: «+» – наявність ознаки, «-» – відсутність ознаки.

Для виділених атипових мікобактерій, крім вказаних особливостей (швидкості росту, пігментоутворення, форми та розмірів клітин і морфології колоній, температурного діапазону), характерними були негативна ніацинова проба.

Важливим показником ідентифікації АТМБ є дослідження окисно-відновних ферментів, зокрема каталазної і пероксидазної активності виділених штамів. Каталаза та пероксидаза – це ферменти, які беруть участь в окисно-відновних процесах мікробної клітини. Більшість АТМБ володіє високою каталазною активністю. В АТМБ каталаза термостабільна, а у вірулентних штамів мікобактерій легко та швидко руйнується при нагріванні до температури 65–68°С.

Наявність та активність тих чи інших ферментних систем у мікобактерій свідчить про вірулентні властивості мікобактерій, їх стійкість до антибактеріальних препаратів, а також є маркером ідентифікації ізолятів. Проте є й інші фактори, які слід враховувати. Наприклад, умови культивування *M. fortuitum* можуть впливати на її здатність продукувати каталазу та пероксидазу. Деякі штами *M. fortuitum* можуть втрачати здатність продукувати ці ферменти протягом тривалого культивування.

Результати наших досліджень окисно-відновних ферментів ізолятів АТМБ наведені у табл. 11.

Таблиця 11.

Ідентифікація мікобактерій за активністю окисно-відновних ферментів

Мікобактерії	**Каталаза**	**Термостабільність каталази**	**Пероксидаза**
M. fortuitum	+	+	±
M. intracellularae	+	+	-
M. scrofulaceum	+	+	-

Примітка: «+» – наявність ознаки, «-» – відсутність ознаки, «±» – варіабельність ознаки.

З наведених у табл. 11 даних, можна відзначити високу каталазну активність, виражену термостабільність каталази та мінливу пероксидазну активність виділених ізолятів АТМБ. Так, усі виділені нами культури мікобактерій дали позитивну реакцію на каталазу, яка із збільшенням

тривалості культивування збільшувалася, тоді як пероксидазну активність проявили лише окремі ізоляти *M. fortuitum*. Практично всі ізоляти мікобактерій проявили високу каталазну активність. Дослідження термолабільності каталази показали, що в більшості досліджених ізолятів АТМБ критичною для цього ферменту є температура 70 °С.

Одним із визначальних тестів для диференціальної діагностики *M. tuberculosis complex* та атипових мікобактерій є ріст на середовищі з 5% NaCl. Серед нетуберкульозних мікобактерій на середовищі Левенштейна-Йєнсена з додаванням 5% NaCl ростуть усі мікобактерії IV групи та деякі представники III та II груп за класифікацією Реньйона. Для приготування такого середовища до сольової основи середовища Левенштейна-Йєнсена додавали 5 г NaCl на 100 мл сольової основи (5%). Отриманий розчин стерилізували при температурі 121°С 20 хв., а після цього до сольової основи додавали яєчну масу і проводили згортання середовища відповідно до інструкції з приготування середовища Левенштейна-Єнсена.

Ще одним показником для біохімічної ідентифікації мікобактерій є їх здатність гідролізувати твін-80.

На підставі проведеного дослідження можна стверджувати, що серед атипових мікобактерій, які дали ріст на середовищі з 5% NaCl, були лише ізоляти *M. fortuitum.*

Ріст мікобактерій на середовищі із саліцилатом натрію (СС) є видовою ознакою для атипових мікобактерій. СС – це селективне середовище, яке містить 500 мкг/мл саліцилату натрію і використовується для пригнічення росту деяких видів нетуберкульозних мікобактерій. Із первинно ідентифікованих нами трьох видів НТМБ на СС проростали лише ізоляти *M. fortuitum*. І лише по 2 ізоляти, які були ідентифіковані нами як *M. intracellularae* та *M. scrofulaceum,* виявили незначний, але помітний ріст у вигляді дрібних, повільно зростаючих колоній, тоді як всі інші ізоляти цих двох видів НТМБ не зростали на СС.

Гідроліз твіну-80 є актуально для ідентифікації мікобактерій всередині II та III груп за Раньйоном. Принцип цього тесту полягає в ензимному гідролізі твіну-80, при якому відбувається звільнення нейтрального червоного і забарвлення стає рожевим. Ідентифіковані нами ізоляти *M. fortuitum, M. intracellularae* та *M. scrofulaceum* не гідролізували твіну-80.

Чутливості ідентифікованих культур мікобактерій до антибіотиків не визначали, бо це не входило до теми наших досліджень.

Для прийняття рішення щодо пастеризації сирого молока, яким випоювали новонароджених телят, нами було проведено бактеріологічне дослідження 24 зразків молока (26.04.–28.05.2021 року), відібраного від шести корів, які дали позитивні реакції на один або обидва алергени. Зразки молока були відібрані до початку доїння, після стандартної антисептичної обробки дійок, яка проводиться при кожному доїнні корів і зводиться до одномоментного занурення кожної дійки вимені в робочий розчин «Кенопуру» (виробник Бельгія), після цього здоюють перші порції молока в спеціальну посудину із ситечком (для виявлення можливих ознак скритого маститу) і перед тим, як надіти на дійку доїльний стакан, дійку витирають стерильною серветкою. Зразки молока відбирали зразу ж після витирання дійки в стерильні пластикові флакони (V=50 ml) із ковпачком, який щільно закручується, (на кожну дійку брали окремий флакон); об’єм відібраної порції молока з однієї дійки становив 20±2 мл; один зразок молока від корови – це 4 флакони із відібраним з кожної дійки молоком.

Передпосівну обробку молока проводили 10% розчином ТНФ протягом 24 год за 37 °С.

Ідентифікацію виділених культур проводили за стандартною процедурою з врахуванням терміну появи культур на середовищі Левенштейна-Єнсена, пігментоутворення, форми і кольору колоній, морфологічними ознаками і тинкторіальними властивостями мікобактерій, їх біохімічними та окисно-відновними властивостями.

Результати дослідження молока наведені у табл. 12.

Таблиця 12.

Ідентифікація ізолятів АТМБ із зразків молока від корів, які дали позитивні реакції на один або обидва алергени за алергічного дослідження на туберкульоз, за фізіолого-біохімічними та тинкторіально-морфологічними ознаками (n=6)

Показник / ознака	Властивості ізолятів із зразків молока від корів за інвентарним № :					
	3453; 0/4; 8 р.	**9869; 5/5; 6 р.**	**4283; 7/4; 8 р.**	**4588; 6/4; 7 р.**	**7888; 3/6; 5 р.**	**5841; 5/7; 4 р.**
Швидкість росту, доба	16-а	2-а	15-а	7-а	2-а	3-я
Утворення пігменту у темряві	+	–	+	–	–	–
Утворення пігменту на світлі	+	–	+	–	–	–
Каталаза	+	+	+	+	+	+
Пероксидаза	–	±	–	–	±	±
Термостабільність каталази	+	+	+	+	+	+
Ріст на середовищі із 5% NaCl	–	+	–	–	+	+
Ріст на середовищі із натрію саліцилатом	+	+	+	+	+	+
Гідроліз твін-80	–	–	–	–	–	–
Ріст за 25 °С	+	–	+	–	–	–
Ріст за 37 °С	+	+	+	+	+	+
Ріст за 45 °С	–	+	–	+	+	+
Тинкторіально-морфологічні властивості*	Округлі, блідо-бузкові	Короткі, яскраво-червоні	Округлі, блідо-бузкові	Короткі, фіолетово-рожеві	Короткі, яскраво-червоні	Короткі, яскраво-червоні
Культура ідентифікована, як	*M. scrofu-laceum*	*M. for-tuitum*	*M.scro-fulaceum*	*M.intra-cellularae*	*M. for-tuitum*	*M. for-tuitum*

Примітка: «**3453; 0/4; 8 р.**» – перша цифра – це інвентарний номер корови; **0/4** – розмір алергічної реакції на туберкулін/ААМ; **8 р**. – вік корови; «+» – наявність властивості/ознаки; «–» – відсутність властивості/ознаки; «±» – ознака мінлива; ***** – мікропрепарати із культур фарбували за Цілем-Нільсеном.

Із даних, наведених у табл. 12, видно, що із молока корів, які позитивно реагували на алергени мікобактерій туберкульозного і нетуберкульозного комплексу, виділено та ідентифіковано три види НТМБ, зокрема *M. fortuitum, M. scrofulaceum* і *M. intracellularae.* Ці результати були підставою для того, щоб заборонити випоювати новонародженим телятам сире молоко. За нашою рекомендацією дирекція господарства закупила пастеризатор молока і з тих пір телятам випоюють лише пастеризоване молоко.

Це, на нашу думку, принесло свої позитивні результати – уже через два роки після запровадження напування телят пастеризованим молоком кількість реагуючих тварин скоротилася вдвоє, а кількість тварин, які давали реакції на туберкулін звелася до одиничних випадків. Зрештою, як було відмічено в результатах патологоанатомічних і гістоморфологічних досліджень (див. гл. 3.6.1.), прояв патоморфологічних змін у лімфатичних вузлах був значно меншим порівняно із змінами, які спостерігалися в лімфатичних вузлах, відібраних на початку наших спостережень. Це є неспростовним свідченням згасання патологічних реакцій імунної системи інфікованих тварин на антигени мікробних клітин НТМБ.

З іншого боку, ці результати свідчать про те, що інфікування тварин відбувалося вже від самого народження телят, бо телята, споживаючи непастеризоване молоко, інфікувалися НТМБ, які виділялися із молоком. Пастеризація молока дала можливість уже на ранньому етапі онтогенезу запобігти інфікуванню організму телят і тим самим ефективно впливати на прояв як інфекційного, так епізоотичного процесів за мікобактеріозу корів на молочнотоварній фермі.

Отримані нами результати узгоджуються із результатами, отриманими Franco M. et al. (2013), які довели, що елімінація мікобактерій з організму корів відбувається головно через молочну залозу, тобто із молоком.

Насамкінець, підбиваючи підсумки проведеної роботи, потрібно відзначити який вид мікобактерій був превалюючим упродовж періоду

дослідження. Зведені дані про види ідентифікованих нами мікобактерій за весь період спостереження наведено у табл. 13.

Таблиця 13.

Видовий склад ізолятів АТМБ, виділених із молока та лімфатичних вузлів від корів, які позитивно реагували на один або обидва алергени, впродовж періоду спостереження (2021–2023 рр.)

Дата алергічного дослідження	Дата бактеріологічного дослідження	Вид матеріалу	Кількість	Виділено та ідентифіковано ізолятів виду			
				M. scrofu-laceum	*M. fortu-itum*	*M. intrace-llularae*	*Всього*
20–23.04. 2021	26.04.–28.05. 2021	Молоко	24	3	5	1	9
20–23.04. 2021	03.05.–03.06. 2021	Л/вузли	40	4	8	2	14
26–29.10. 2021	10.11.–11.12. 2021	Л/вузли	40	3	4	1	8
18–21.04. 2022	04.05.–06.06. 2022	Л/вузли	40	4	6	2	12
18–21.10. 2022	09.11.–10.12. 2022	Л/вузли	60	3	3	2	8
17–20.05. 2023	31.05.–01.06. 2023	Л/вузли	50	5	7	2	14
24–27.10. 2023	08.11.–09.12. 2023	Л/вузли	40	2	3	1	6
18–21.04. 2024	29.05.–29.06. 2024	Л/вузли	40	3	5	2	10
Всього			**334**	**27**	**41**	**13**	**81**
Відсоток				**33,3**	**50,6**	**16,1**	**100**

Аналізуючи результати досліджень, що наведені у табл. 13, можна відзначити, що із 334 досліджених біоматеріалів було виділено та ідентифіковано 81 культуру НТМБ, з яких 41 культуру віднесено до виду *M. fortuitum*, 27 – до виду *M. scrofulaceum* і 13 культур – до *M. intracellularae*. Отже, найбільша питома вага серед ідентифікованих мікобактерій за період дослідження припадає на швидкоростучий вид *M. fortuitum* – 50,6%, а найменша (16,1%) – на *M. intracellularae*. Аналіз епідеміологічних особливостей мікобактеріозів (див. гл. 3.1.) показує, що в етіопатогенезі мікобактеріозів швидкоростучі НТМБ займають превалююче положення, що може бути віддзеркаленням потрапляння в раціон населення продуктів тваринного походження, обсімінених *M. fortuitum.*

Аналізуючи часову динаміку виділення НТМБ із лімфатичних вузлів реагуючих корів можна відзначити, що кількість ізолятів ідентифікованих за два дослідження впродовж року становила в межах 20±2 культур, що свідчить про постійну циркуляцію цих бактерій серед популяцій стада, так і, очевидно, в об’єктах довкілля ферми.

Отримані нами результати підтверджують актуальність вивчення екології найбільш поширених НТМБ у середовищі продуктивних тварин як потенційних джерел збудників мікобактеріозів людини.

Висновок до підрозділу 3.6. Об’єктивне з’ясування природи реакцій на туберкулін за планових алергічних досліджень великої рогатої худоби можливе за умови проведення комплексного дослідження, яке включало відбір реагуючих тварин на діагностичний забій, патологоанатомічне дослідження туш і органів забитих тварин, відбір біоматеріалу (лімфатичних вузлів та окремих органів) для патанатомічного, гістоморфологічного та бактеріологічного досліджень. Лише завдяки такому підходу вдалося виявити характерні патологоанатмічні та гістоморфологфчні зміни у лімфатичних вузлах корів, які дали позитивні реакції на один або обидва алергени. Цим неспростовно підтверджено наявність у тварин інфекційного процесу. Завдяки комплексному застосуванню мікросокопічного,

культурального та низки реакцій біохімічного методу вдалося виділити та ідентифікувати такі види мікобактерій як *M. fortuitum, M. scrofulaceum* та *M. intracellularae*. Таким чином встановлено, що АТМБ в організмі тварин спричиняють зміни в органах імунної системи на клітинному і тканинному рівнях і спричиняють хронічний скрито протікаючий інфекційний процес, а серед поголів'я великої рогатої худоби ферми доведено функціонування епізоотичного процесу мікобактеріозу.

3.7. Узагальнення отриманих результатів

Проведеним епідеміологічним аналізом просторово-часових особливостей напруженості епідемічної ситуації щодо мікобактеріозів, що спричиняються нетуберкульозними мікобактеріями, в Україні та країнах різних континентів світу за період 2000–2023 рр. встановлено, що мікобактеріальні інфекції набули значного поширення. Зокрема в Україні мікобактеріози людей в 94% випадків перебігають у формі легеневої інфекції, часто формують мікст-інфекції з туберкульозом. При цьому майже у 80% випадків етіотропним фактором є *M. avium complex* [46, 55].

За період спостереження (2000–2023 рр.) у більшості аналізованих країн спостерігалося зростання захворюваності населення на хвороби легень, спричинені нетуберкульозними мікобактеріями (НТМБ-ХЛ), зокрема в Південній Кореї у 8 разів; у США щорічно на 8%; у Квінсленді (Австралія) у 2,3 рази – з 11,1 pcm у 2001 році до 25,88 pcm у 2016 році [133, 109, 185, 188]. Наведені дані вказують на те, що навіть у розвинених та економічно сильних країнах світу мікобактеріози людини набувають все більшого медико-соціального значення.

До особливостей мікобактеріозів можна віднести переважаюче інфікування пацієнтів швидкоростучими мікобактеріями, зростання ризику інфікування людей нетуберкульозними мікобактеріями із збільшенням віку, поширенням мікобактеріозів легень серед мігрантів порівняно із місцевим населенням, більшу захворюваність на мікобактеріози серед чоловіків, ніж

серед жінок, впливом шкідливих звичок (психогенні стреси, тютюнопаління, зловживання алкоголем, гіподинамічний спосіб життя тощо) [21, 73, 103, 105, 116, 118, 148].

В доступних літературних джерелах ми не знайшли робіт, які б свідчили про вплив пори року на прояв інтенсивності та екстенсивності епідемічного процесу за мікобактеріозу. Проте, у роботах низки науковців знаходимо дані, що вказують на вплив природно-географічних факторів на захворюваність населення мікобактеріозами. Зокрема повідомляється, що мікобактеріози більш поширені у країнах із теплим кліматом та високою вологістю (субтропііки та тропіки) [202 , 208].

Вивчення етіопатогенезу мікобактеріозів людини було встановлено, що найчастіше із зразків біоматеріалів виділяли комплекс *M. avium* (87,3%), комплекс *M. abscessus* (5,5%) і *M. kansasii* (3,9%), %) [116]. Аналіз наукових даних свідчить про політропність патогенної дії мікобактерій на тканини і органи інфікованого організму, що, у свою чергу, вказує на наявність у нетуберкульозних мікобактерій широкого спектру факторів агресії [167]. Ці спостереження є підставою вважати, що еволюція низки найпоширеніших видів нетуберкульозних мікобактерій йде у бік завершених патогенів.

Аналізуючи особливості інфекційного та епідемічного процесів мікобактеріозів у різних країнах світу, можна припустити, що еволюція патогенності нетуберкульозних мікобактерій йшла одночасно на всіх континентах, а формування основних механізмів етіопатогенезу мікобактеріозів здійснювалося на тлі взаємодії мікобактерій та макроорганізмів. При цьому визначальним з боку мікроорганізмів було формування та реалізація факторів патогенності, а з боку макроорганізмів вдосконалення багатовекторного механізму специфічного захисту щодо цих факторів патогенності мікобактерій. Така динамічна взаємодія хвороботворного мікроорганізму із захисними механізмами макроорганізму на тілі мінливих чинників довкілля, у свою чергу, призводить до особливого прояву не лише інфекційного процесу на індивідуальному рівні, але й

особливостей епідемічного процесу цієї інфекції, різнобічне вивчення якого розкриє деталі його рушійних сил і буде підґрунтям для розробки засобів ефективної профілактики цієї інфекційної патології [4, 7].

Проведений нами епідеміологічний аналіз прояву мікобактеріозів у країнах світу та в Україні свідчить, що еволюція цих взаємовідносин між мікобактеріями та сприйнятливими організмами на тлі постійного чи перманентного впливу стресово-напруженої політико-соціальної та антропо-екологічної ситуації розвивається в бік зростання вірулентних властивостей мікобактерій. Це, в свою чергу, веде до зміни способу існування низки видів мікобактерій – від сапрофітного до паразитичного, збільшуючи тим самим популяцію істинних патогенів [5, 6].

Епізоотологічним аналізом просторово-часової напруженості епізоотичної ситуації щодо мікобактеріозів тварин, що спричиняються атиповими мікобактеріями, в Україні та низці країн різних континентів світу за період 2000–2023 рр. встановлено, що мікобактеріальні інфекції проявляються постійно і мають значне поширення як у географічному, так і у видовому розрізах [5, 27, 41, 208].

В Україні мікобактеріози найчастіше реєструють у великої рогатої худоби, у якої вони перебігають у латентній безсимптомній формі і виявляються симультанною пробою за алергічної діагностики туберкульозу з використанням ППД-туберкуліну та ААМ, з додатковим посмертним бактеріологічним та гістоморфологічним дослідженням біоматеріалу від реагуючих тварин. Щорічно в Україні реєструють 250±30 молочнотоварних ферм, де виявляють реагуючих на ААМ тварин, а також тварин, які мають парааллергічні реакції на ППД-туберкулін, що свідчить про циркуляцію атипових мікобактрій у стадах корів України. Серед ізольованих збудників мікобактеріозів тварин в Україні ідентифікували *M. smegmatis, M. scrofulaceum, M. fortuitum, M. avium, M. phlei, M. vaccae* та низку інших, зокрема *M. gordone, M. terrae, M. xenopi, M. peregrinum, M. flavenscens, M. diernhoferi, M. thamnpheos* [15, 18, 19, 37].

На території молочнотоварних ферм багатьох країн світу значне поширення мають атипові мікобактерії, оскільки їх виділяють як із абіотичних об'єктів довкілля, так і з організму корів. При цьому атипові мікобактерії ідентифікують у молоці як клінічно здорових корів, так і у молоці корів, які позитивно реагують на ААМ і на туберкулін, що свідчить про їх не просто транзиторний спосіб перебування в організмі тварин, але й активне розмноження в ньому з усіма можливими проявами цієї форми взаємодії, що характерна для латентно перебігаючого інфекційного процесу, а не лише простої сенсибілізації [91, 92, 93, 98, 115, 130, 134, 150, 168, 179].

Мікобактеріози мають значне поширення в популяціях диких як теплокровних, так і холоднокровних тварин, а також птиці і риб. При цьому клінічний прояв цієї інфекції спостерігається в усіх країнах, де проводилися комплексні (клінічні, патологоанатомічні, бактеріологічні, гістоморфологічні та молекулярно-генетичні) дослідження біоматеріалів [81, 85, 95, 122, 125, 162, 177]. При цьому найчастіше ідентифікували такі види мікобактерій, як *M. ulcerans, M. gordonae, M. avium, M. fortuitum* – у тварин [41, 161, 195]; *M. avium subsp. avium, M. avium subsp. hominissuis, M. genavense* – у птиці [172, 178, 198]; *M. marinum, M. fortuitum і M. chelonae* – у риб [124, 125] та багато видів мікобактерій, яких не вдалося ідентифікувати [177].

Ці факти є свідченням того, що мікобактеріози – явище, яке має значне поширення як у дикій фауні, так і серед гуртів продуктивних тварин у різних країнах світу, і потребує глибшого вивчення як інфекційного, так і епізоотичного процесів.

Таким чином, мікобактеріози, які спричиняються бактеріями нетуберкульозного комплексу, – важлива проблема не лише гуманної, але й ветеринарної медицини.

З цієї точки зору мікобактеріози тварин повинні стати в центрі уваги ветеринарної науки і ветеринарної практики. Адже парааллергічні реакції на туберкулін у великої рогатої худоби, як одного із основних засобів зажиттєвої діагностики туберкульозу в популяціях продуктивних тварин,

явище дуже часте за діагностики туберкульозу як в нашій країні, так і за кордоном [4, 15, 18].

Аналізуючи дані наукової періодики з питань діагностики та профілактики туберкульозу та мікобактеріозів великої рогатої худоби в Україні за 2000–2023 рр., можна відзначити, що кожного року в країні реєструють по 250±30 молокотоварних господарств, в яких виявляють корів, які дають парааллергічні реакції. З точки зору епізоотології це дуже високе значення, що свідчить про значну напруженість епізоотичної ситуації щодо мікобактеріозів серед продуктивних тварин, зокрема великої рогатої худоби в Україні [22, 26].

Із наукових публікацій, що стосуються поширення нетуберкульозних мікобактерій на території молочнотоварних ферм, видно, що ці бактерії присутні в гноєві, кормах, і воді. Інфікування великої рогатої худоби нетуберкульозними мікобактеріями відбувається в основному аліментарно через споживання інфікованої води та кормів та аерогенно [2, 108].

Нашими дослідженнями з вивчення природи реакцій на туберкулін за планових алергічних досліджень великої рогатої худоби на одній із молочнотоварних ферм Волині встановлено, що вони мали парааллергічну природу і були спричинені інфікуванням тварин атиповими мікобактеріями. При цьому комплексним дослідженням біоматеріалів від корів, які позитивно реагували на один або обидва алергени (туберкулін або ААМ), було встановлено функціонування інфекційного та епізоотичного процесів серед поголів'я великої рогатої худоби, яке спричинене мікобактеріями таких видів як *M. fortuitum, M. scrofulaceum* і *M. intracellularae,* що основні патологічні зміни локалізовані у лімфатичних вузлах, а елімінація мікобактерій з організму корів відбувається через молочну залозу, тобто із молоком [4, 6, 22, 27, 98].

Комплексне застосування мікроскопічного, культурального та біохімічного методів під час бактеріологічного дослідження біологічного матеріалу від забитих з діагностичною метою корів, які дали позитивні

реакції на один чи обидва алергени, дозволило нам ідентифікувати всі (81 культура) виділені ізоляти мікобактерій і, таким чином, встановити які види мікобактерій є збудниками інфекційного процесу за мікобактеріозу корів.

Отримані нами дані свідчить про те, що атипові мікобактерії в організмі тварин активно розмножуються (ентобіотична фаза переживання мікобактерій в організмі інфікованої тварини), спричиняючи зміни в органах імунної системи на клітинному і тканинному рівнях, і є прямим доказом хронічного скрито протікаючого інфекційного процесу, а не просто сенсибілізації. При цьому інфіковані тварини виступають не лише як третя ланка епізоотичного ланцюга, але й як перша ланка, тобто як активне джерело збудника мікобактеріальної інфекції.

Вивчення особливостей епізоотичного процесу мікобактеріозу серед поголів'я корів молочнотоварної ферми розкрило низку закономірностей, що стосуються як всіх трьох ланок цього процесу, так і факторів, що впливають на його прояв. Це дало змогу розробити низку заходів, спрямованих на підвищення ефективності контролю цього процесу, що в кінцевому наслідку суттєво зменшило кількість реагуючих тварин на обидва алергени – туберкулін та алерген атипових мікобактерій.

Вивчення екології збудників мікобактеріозу продуктивних тварин на фермі дозволить розробити додаткові заходи, реалізація яких зведе нанівець прояв парааллергічних реакцій на туберкулін та алергічних реакцій на ААМ, які на теперішній час є основними критеріями оцінки епізоотичного статусу та ветеринарного благополуччя молочнотоварної ферми щодо мікобактеріозів, спричинених атиповими мікобактеріями. Розробка системи заходів ефективного контролю мікобактеріозів серед стад продуктивних тварин – запорука профілактики інфікування населення нетуберкульозними мікобактеріями через продукти харчування тваринного походження.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі на підставі результатів моніторингу епідемічної та епізоотичної ситуації щодо мікобактеріозів людини і тварин у різних країнах світу та в Україні, а також результатів комплексного дослідження причин алергічних реакцій великої рогатої худоби на туберкулін в одному із благополучних щодо туберкульозу господарств, яке включало застосування алергічного, клінічного, патологоанатомічного, гістоморфологічного та бактеріологічного методів діагностики, встановлено функціонування клінічно скритого, хронічно перебігаючого інфекційного процесу мікобактеріозу корів в окремо взятому стаді великої рогатої худоби. Виявлені біоризики інфікування населення через продукти харчування тваринного походження підтверджують, тим самим, основні постулати концепції «Єдиного здоров'я», згідно якої досягнення оптимальних результатів щодо здоров'я населення можна досягти завдяки спільному, трансдисциплінарному підході. Такий підхід до контролю за станом здоров'я населення повинен функціонувати на місцевому, регіональному, національному та глобальному рівнях, визнаючи взаємозв'язок між людьми, тваринами, рослинами та їхнім спільним місцем «проживання».

1. Встановлено, що мікобактеріози людей в Україні мають значне поширення, у 94 % випадків перебігають у легеневій формі, часто формуючи мікст-інфекції з туберкульозом, а тому важко діагностуються. Найчастіше етіологічним чинником мікобактеріозів виступає *M. avium complex*. У більшості аналізованих країн світу (Японія, Південна Корея, Іран, Туреччина, Пакистан, Саудівська Аравія, Єгипет, Оман, Кувейт, Китай, Франція, Великобританія, Італія, Греція, Чехія, Польща, США, Канада, Бразилія, Австралія та низка країн Африки) за період спостереження (2000–2023 рр.) відмічено зростання захворюваності населення, спричинені нетуберкульозними мікобактеріями. Зокрема у Південній Кореї захворюваність населення зросла у 8 разів; у США вона щорічно зростала на

8 %; у Квінсленді (Австралія) у 2,3 рази – з 11,1 pcm у 2001 році до 25,88 pcmm у 2016 році. Епідеміологічними особливостями мікобактеріозів є: переважне інфікування пацієнтів швидкоростучими мікобактеріям***и;*** зростання ризику інфікування мікобактеріями із збільшенням віку.

2. Ретроспективним епізоотологічним аналізом встановлено, що у більшості аналізованих країн світу мікобактеріози мають значне поширення серед продуктивних і непродуктивних (домашніх і диких) тварин, іхтіофауни морських і річкових водойм. Найчастіше як збудники інфекції виступають такі види нетуберкульозних мікобактерій як *Mycobacterium avium complex*, *M. abscessus complex*, *M. kansasii*, *M. fortuitum* та низка інших.

В Україні вивченню мікобактеріозів тварин практично не надається належної уваги, а вивчення атипових мікобактерій проводиться лише через призму діагностики туберкульозу великої рогатої худоби.

3. Встановлено функціонування клінічно скритого, хронічно перебігаючого інфекційного процесу мікобактеріозу корів, етіопатогенетичними факторами якого були НТМБ таких видів як *M. fortuitum*, *M. scrofulaceum* і *M. intracellularae*. Потрапляючи в організм сприйнятливих тварин, НТМБ спричиняють патологічні зміни, зокрема: в регіонарних лімфатичних вузлах на клітинному та тканинному рівнях шляхом формування первинних вузликів у кірковій зоні; вогнища некрозу лімфоцитів у центрі вузликів; фрагментацію ядер та конденсацією хроматину; випадання цілих ділянок змертвілих клітин і на основі цього утворенням клітинного детриту; навколо останнього формується зона лімфоцитів, які згодом перетворюються в епітеліоїдні клітини, які формуючи епітеліальні тяжі, приводять до незворотної атрофії лімфоїдної тканини вузів.

Доведено, що алергічні реакції на туберкулін мали параалергічну природу, їх виникнення є наслідком інфекційного процесу, спричиненого НТМБ в організмі корів. Інкубаційний період за інфікування організму великої рогатої худоби НТМБ є значно тривалішим, ніж за інфікування *M. bovis*, і становить 18–26 місяців.

Патологоанатомічні та гістоморфологічні зміни в надвим'яних лімфатичних вузлах свідчать про елімінацію НТМБ через молочну залозу, а виділення трьох видів НТМБ із зразків молока є підставою розглядати коров'яче молоко, отримане від інфікованих НТМБ, як фактор у механізмі передачі збудника інфекції.

4. Доведено, що основними факторами передачі збудника є корми, вода і повітря, а шляхами передачі – аліментарний та аерогенний. НТМБ відносяться до умовно-патогенних мікроорганізмів, а за природою джерела збудника інфекції до сапронозів. Деякі НТМБ (*M. avium complex*, *M. abscessus complex*, *M. kansasii*, *M. fortuitum* та ін.) завдяки наявності факторів агресивності еволюціонують у бік завершених патогенів. Кожний випадок встановлення мікобактеріозу в популяціях продуктивних тварин слід розглядати як потенційне джерело НТМБ, що становлять біоризики для здоров'я людей у харчовому ланцюзі.

5. Виділено та ідентифіковано з біоматеріалів корів, які позитивно реагували на один або обидва алергени, 263 культур НТМБ. З даних культур – 123 (47%) віднесено до виду *M. fortuitum*, 94 культури (36%) – до виду *M. scrofulaceum* і 46 культури (17%) – до *M. intracellularae.* Превалюючим серед ідентифікованих мікобактерій є швидкоростучий вид *M. fortuitum,* на долю якого припадає 47%. Аналіз епідеміологічних особливостей мікобактеріозів людини показує, що в етіопатогенезі мікобактеріозів переважають швидкоростучі НТМБ, до яких відноситься і *M. fortuitum.* Результати наших бактеріологічних досліджень підтверджують ймовірність потрапляння *M. fortuitum* у раціон людей із продуктами харчування тваринного походження, а тому останні слід розглядати як потенційні біоризики для здоров'я людей.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. На основі результатів бактеріологічних досліджень молока від корів, які дали позитивні реакції на обидва алергени, на ім’я директора господарства було написано практичні рекомендації, якими зобов’язано встановити мобільний електричний пастеризатор для пастеризації молока, яке буде використовуватися для випоювання новонароджених телят.

2. Встановлення пастеризатора мало позитивний вплив на прояв епізоотичного процесу мікобактеріозу корів – кількість реагуючих тварин за планових алергічних досліджень у наступні роки знизилася вдвічі, що створило об’єктивні передумови для оздоровлення дійного стада.

3. Матеріали дисертаційної роботи використовуються у навчальних програмах при викладанні дисципліни «Епізоотологія та інфекційні хвороби сільськогосподарських тварин» на факультетах ветеринарної медицини Національного університету біоресурсів і природокористування, Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Ґжицького, Поліського національного університету, а також при викладанні дисципліни «Медична мікробіологія, вірусологія та імунологія» на медичному факультеті і при викладанні дисципліни «Мікробіологія з основами вірусології» на факультеті біології та лісового господарства Волинського національного університету імені Лесі Українки.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Асоціація виробників молока. 2023. URL: www.avm-ua.org (дата звернення 1.07.2023).

2. Бібен І. А., Сосницька А. О., Удовицький Є. В., Зажарський В. В. Імунобіологічні властивості польових культур атипових мікобактерій. *Науково-технічний бюлетень Державного науково-дослідного контрольного інституту ветеринарних препаратів та кормових добавок і Інституту біології тварин.* 2019. №20(2). С. 174–182.

3. Благодаров В. М., Черв'як П. І., Галахін К. О., Стеченко Л. О. Патологічна анатомія (Загальнопатологічні процеси). К.: Генеза, 1997. 512 с.

4. Бойко П. К., Бойко О. П, Ничик С. А., Ситнік В. А., Мазур В. М. Формування інфікованості великої рогатої худоби атиповими мікобактеріями в окремо взятому стаді. *Ветеринарна біотехнологія.* 2020. №36. С. 9–21.

5. Бойко П. К., Ничик С. А., Бойко О. П., Мандигра Ю. М., Шевчук В. М. Особливості інфекційного та епізоотичного процесу за мікобактеріозу великої рогатої худои, спрочиненого атиповими кислотостійкими мікобактеріями. *Ветеринарна біотехнологія*. 2020. №37. С. 7–19.

6. Бойко П. К., Ничик С. А., Бойко О. П., Титюк О. В., Шевчук В. М. Мікобактеріози великої рогатої худоби – спонтанна інфекція в окремому господарстві чи складна епідеміологічна проблема? *Ветеринарна біотехнологія*. 2021. №39. С. 18–28.

7. Бойко П., Шевчук В., Степанюк Я., Бойко О., Соловей Л., Панівська О. Мікобактеріози великої рогатої худоби: патоморфологічні зміни в органах периферичної імунної системи. Медикоепідеміологічне значення. *Нотатки сучасної біології.* 2023. № 1(5). С 37–44.

8. Варенюк І. М., Дзержинський М. Е. Методи цито-гістологічної діагностики:навчальний посібник. Київ: Інтерсервіс, 2019. 256 с.

9. Васильченко А. А., Вернер О. М., Гирін В. М. Епідеміологія. Київ : Здоров'я, 1993. 464 с.

10. Вахнюк Т. В. Техніка гістологічних досліджень: навч. посіб. Київ: ВСВ Медицина, 2018. 256 с.

11. Вейсфеллер Ю. К. Біологія та мінливість туберкульозу та атипові мікобактерії: підр. Будапешт: Вид-во Академії наук Угорщини, 1975. 334 с.

12. Вершигора О. Ю., Пастер Є. У. Імунологія: новч. посіб. – Київ: ВПЦ «Київський університет», 2011. 911 с.

13. Виноград Н. О., Василишин З. П., Козак Л. П. Загальна епідеміологія: навч. посіб. 4-е вид. випр. Київ: ВСВ «Медицина», 2017. 200 с.

14. Вуль С. М. Про роль деяких атипових мікобактерій в патології людини. *Проблеми туберкульозу*. 1980. № 9. С. 66–70.

15. Глебенюк В. В., Теліженко К. В. Видова належність мікобактерій, виділених від тварин у Дніпропетровської області. *Науково-технічний бюлетень НДЦ біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК*. 2015. №3(1). С. 61–64.

16. Горальський Л. П., Хомич В. Т., Кононський О. І. Основи гістологічної техніки і морфофункціональні методи досліджень у нормі та при патології: навч. посіб. Видання друге. Житомир: «Полісся», 2011, 288 с.

17. Горжеєв В. М., Кассіч Ю. Я., Завгородній А. І., Павленко М. С., Кассіч В. Ю. Здобутки в боротьбі з туберкульозом великої рогатої худоби в господарствах України. *Вет. Медицина*. 2004. №84. С. 268–271

18. Дяченко Г. М., Кравченко Н. О., Романенко В. П. Досягнення і проблеми у діагностиці туберкульозу сільськогосподарських тварин. *Сільськогосподарська мікробіологія: Міжвід. темат. наук. зб.* 2006. №3. С. 81–92.

19. Дяченко Г., Кравченко Н., Романенко В. Проблема діагностики туберкульозу сільськогосподарських тварин в сучасних умовах. *Ветеринарна медицина України*. 2006. №2. С. 5–7.

20. Журило О. А., Барбова А. І., Сладкова Л. М. *Mycobacterium avium* є збудником мікобактеріозу людини. *Український пульмонологічний журнал.* 2020. №1. С. 50–58.

21. Журило О. А., Барбова А. І., Трофімова П. С., Мироненко С. В. Вивчення видової різноманітності нетуберкульозних мікобактерій в областях України з використанням класичного бактеріологічного методу і сучасного генетичного ДНК-стрипового GenoType Mycobacterium CM/AS (Hain Lifescience, Німеччина*). Укр. пульмонол. журн*. 2019. №(1.). С. 27–30.

22. Завгородній А. І. Атипові мікобактерії у великої рогатої худоби в зоні лісостепу і степу Української ССР. *Ветеринарна медицина*. 1987. №6. С. 68–81.

23. Завгородній А. І. Види мікобактерій та їх епізоотологічне значення для великої рогатої худоби. *Ветеринарна медицина*. 2000. №6. С. 108–113.

24. Завгородній А. І., Калашник Н. В., Белушко В. В. Виді атипових мікобактерій виділених від великої рогатої худоби та птиці. *Ветеринарна медицина.* 2017. №103. С. 116–122.

25. Завгородній А. І. Наукове забезпечення протитуберкульозних заходів в Україні. *Ветеринарна медицина України.* 2013. №10(212). С. 15–16.

26. Завгородній А. І., Білушко В. В., Загребельний В. О. Вивчення сенсибілізуючих властивостей атипових мікобактерій, ізольованих із біоматеріалу від великої рогатої худоби та з об'єктів довкілля. *Вет. медицина: Міжвід. темат. наук. зб.* 2016. №102. С. 84–87.

27. Завгородній А. І., Котляр О. В. Вивчення культурально-морфологічних, біохімічних і біологічних властивостей атипових мікобактерій, виділених від великої рогатої худоби в господарствах України. *Ветеринарна медицина*. 2014. №98. С. 124–127.

28. Завгородній А. І., Палій А. П., Загребельний В. О., Репін М. В. Ультраструктурні зміни атипових мікобактерій після дії «Хлорантоїну». *Ветеринарна медицина*. 2012. №96. С. 107–110.

29. Завгородній А. І., Палій А. П., Калашник М. В. Ефективність дезінфекції залежно від якості проведення механічного очищення. *Ветеринарна медицина України*. 2012. №5. 8–10.

30. Завгородній А. І., Позмогова С. А., Білушко В. В., Калашник М. В., Коваленко І. В. З'ясування причин неспецифічних реакцій на туберкулін у ВРХ. *Ветеринарна медицина: міжвід. темат. наук. зб.* 2005. №85. С. 973–976.

31. Завгородній А.І., Білушко В.В. Калашник М.В. Позмогова С.А. Калашник Н.В. Псевдоалергічні реакції на туберкулін у великої рогатої худоби. *Ветеринарна біотехнологія*. 2018. №32(2). С. 176–184.

32. Імунологія: підручник / за ред.: А. Ю. Вершигора, Є. У. Пастер, Д. В. Колибо та ін.; передм. С. Комісаренка; за заг. ред. Є. У. Пастер. Київ: Вища школа, 2005. 599 с.

33. Імунопрофілактика інфекційних хвороб : навчально-методичний посібник / за ред.: Л. І. Чернишова, Ф. І. Лапій, А. П. Волоха та ін... 3-тє вид, переробл. і допов Київ: ВСВ «Медицина», 2022. 336 с.

34. Інструкція з профілактики та боротьби з туберкульозом тварин. Наказ Державного комітету ветеринарної медицини України 03.09.2009. N 316. 21 с. URL: https://zakononline.com.ua/documents/show/295827___295892 (дата звернення 01.08.2023).

35. Казмірчук В. Є., Ковальчук Л. В. Клінічна імунологія та алергологія: навч. посіб. Вінниця: Нова книга, 2006. 528 с.

36. Кассіч Ю. Я., Завгородній А. І., Кассіч В. Ю. Симультанна аллергічна проба при діагностиці туберкульозу [Корови, що утримуються в селянських господарствах різних галузей України] *Ветеринария*. 2004. №8. С. 16–18.

37. Кассіч В. Ю. Мікобактерії та їх диференціація. *Ветеринарна медицина.* 2013. №2(32). С. 106–109.

38. Кассіч В. Ю. Моніторинг виділення культур мікобактерій в Україні. *Вет. медицина*: *міжвід. темат. наук. зб*. 2003. № 82. С. 265–268.

39. Кассіч В. Ю., Фотіна Т. І., Березовський А. В., Фотіна Г. А., Камбур М. Д., Кассіч О. В. Дезінфекція виробничих приміщень неблагополучних

щодо туберкульозу господарств з використанням препарату «Бровадез-Плюс». *Вісник Сумського національного університету.* 2010. №8. С. 42–44.

40. Клінічна імунологія та алергологія: навч. посіб. / за ред.: В. В. Чоп'як, Г. О. Потьомкіна, А. М. Гаврилюк, Х. О. Ліщук-Якимович, Р. Р. Головин. Київ : ВСВ «Медицина», 2017. 224 с.

41. Котляр О. В. Вивчення патогенних і сенсибілізуючих властивостей атипових мікобактерій виділених від великої рогатої худоби. *Ветеринарна медицина*. 2014. №99. С. 76–82.

42. Лабораторна діагностика туберкульозу тварин : практ. посіб. / за ред.: О. А. Ткаченко, М. В. Білан, В. В. Зажарський, Л.О. Ковальова. Дніпропетровськ : Вид-во «Свідлер А.Л.», 2010. 208 с.

43. Лапач С. Н., Чубенко А. В., Бабич П. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. Киев : Морион, 2001. 319 с.

44. Левченко В. І., Судаков М. О., Мельник Й. Л. Клінічна діагностика хвороб тварин: навч. посіб. Київ: Урожай, 1995. 368 с.

45. Люта В. А., Кононов О. В. Мікробіологія з технікою мікробіологічних досліджень, вірусологія та імунологія: навч. посіб. Київ: ВСВ «Медицина», 2017. 576 с.

46. Манченко В. М., Троценко З. Р., Павленко М. С. Настанова по діагностиці туберкульозу тварин та птиці : навч. посіб. Київ: Урожай, 1994. 39 с.

47. Медична мікробіологія, вірусологія та імунологія: підручник для студ. вищих мед. навч. закладів: підручник / за ред.: В. П. Широкобокова. 3-тє вид., оновл. та допов. Вінниця: Нова Книга, 2021. 920 с.

48. Медична мікробіологія. Посібник з мікробних інфекцій: патогенез, імунітет, лабораторна діагностика та контроль : пер. 19-го англ. вид. : у 2 т. Т.1. / за ред. Майкла Р. Барера, Вілла Ірвінга, Ендрю Свонна, Нелюн Перри ; наук. ред. пер. Сергій Климюк, Валерій Мінухін, Сергій Похил. Київ: ВСВ «Медицина», 2020. 434 с.

49. Мельник В. М. Проблеми епідеміології та профілактики туберкульозу. *Медичні вісті.* 1997. №1. С. 10–13.

50. Наказ МОЗ України №182 від 13.04.2007 р. «Клінічний протокол діагностики та лікування опортуністичних інфекцій і загальних симптомів у ВІЛ-інфікованих дорослих та підлітків». URL: https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v0182282-07#Text (дата звернення 01.09.2023).

51. Новожилова І. О. Результати клінічного спостережень за хворобами, які виділяють не туберкульозні мікобактерії. *Український пульмонологічний журнал.* 2003. №4. С. 30–31.

52. Олексюк І. І., Левківський Д. М. Латентний мікробізм та його роль в епізоотології туберкульозу великої рогатої худоби. *Наук. вісник Львівського НУВМтаБТ ім. С.З. Ґжицького.* 2009. №2 (41/1). С. 225–229.

53. Палій А. П., Стегній Б. Т., Гужвинська С. О., Синиця О. В. Дезинфікуючі препарати при низьких температурах. *Ветеринарна медицина.* 2017. №103. С. 60–63.

54. Петренко В. І., Норейко С. Б., Бондаренко Я. В., Галан І. О., Стополянський О. В. Сучасний погляд на механізм виникнення та розвиток латентної туберкульозної інфекції. Огляд літератури. *Туберкульоз. Легеневі хвороби. ВІЛ-інфекції.* 2022. № 3. С. 60–67.

55. Практична мікробіологія: навчальний посібник : навч. посіб. / за заг. ред. В. П. Широбокова, С. І. Климнюка. Вінниця : Нова Книга, 2018. 576 с.

56. Селіщева Н. В., Нечваль Н. П., Федорова В. М. Вивчення природи реакцій на туберкулін у великої рогатої худоби в благополучних щодо туберкульозу господарствах Одеської області. *Вет. медицина: Міжвід. темат. наук. зб.* 2005. №85. С. 973–976.

57. Селіщева Н., Динаміка епізоотичного процесу при мікобактеріальних інфекціях великої рогатої худоби в господарствах Причорномор'я. *Ветеринарна медицина України.* 2006. № 12. С. 12–14.

58. Скрипник А. В. Молекулярно-генетична диференціація мікобактерій, виділених в Україні, та їх філогенетичні взаємозв'язки : автореф. дис. …канд..вет.наук : 16.00.03. Харків, 2007. 19 с.

59. Сосницький А. І. Короленко Л. С., Пузаков С. П. Заселення *Mycobacterium avium* иммунореактивніх структур при экспериментальній инфекції іммунорезистентного організма. *Зб. наук. пр. Харківської державної зооветеринарної академії*. 2009. №2(2). С. 319–323.

60. Стегній Б. Т., Завгородній А. І., Палій А. П., Мандигра Ю. М. Туберкулоцидна активність деяких біотехнологічних дезінфекційних препаратів. *Вісник аграрної науки*. 2015. № 4. С. 31– 33.

61. Ткаченко О. А., Білан М. В., Зажарський В. В., Ковальова Л. О. Лабораторна діагностика туберкульозу тварин: практ. посіб. Дніпропетровськ: Свідлер А.Л., 2010. 208 с.

62. Ткаченко О. А., Білан М. В., Зажарський В. В., Усеєва Н. Г., Ковальова Л. О., Таран Ю. М., Давиденко П. О. Закономірності поліморфізму та мінливості *M. bovis* швидкорослих та повільнорослих штамів. *Вісник Дніпропетровського державного аграрного університету. Дніпропетровський ДАУ.* 2009. № 1. С. 94–99.

63. Тодоріко Л. Д., Шевченко О. С. Сучасні аспекти легеневого мікобактеріозу (аналітичний огляд). *Актуальна інфектологія*. 2016. №4(13). С. 13–21.

64. Туберкульоз: підручник / за ред. О. К. Асмолова. Одеса: Одес. держ. мед. ун-т, 2002. 276 с.

65. Турко І. Б., Куляба О. В., Семанюк В. І. Циркуляції атипових мікобактерій в зовнішньому середовищі та організмі тварин, як причина позитивних алергічних реакцій. *Науковий вісник ЛНУВМБТ імені С.З. Ґжицького.* 2010. № 3(45/1). С. 274–280.

66. Урбанович П. П., Потоцький М. К., Гевкан І. І., Зон Г. А., Борисевич Б. В. та ін. Патологічна анатомія тварин : навч. посіб. Київ: Ветінформ, 2008. 896 с.

67. Фещенко Ю. И. Туберкульоз: новий погляд на стару проблему. *Тижневик Аптека*. 2000. №13. 9 с.

68. Фещенко Ю. І. Епідеміологічна ситуація щодо туберкульозу в Україні на сучасному етапі. *Журн. АМН України.* 1998. № 1. С. 104–117.

69. Фещенко Ю. І., Журило О. А., Барбова А. І. Лабораторна діагностика туберкульозної інфекції : навч. посіб. Київ : ВСВ «Медицина», 2019. 304 с.

70. Фотіна, Г. А., Березовський, А. В. Визначення бактерицидних властивостей дезінфікуючого препарату «Бровадез-плюс. *Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини: збірник наукових праць Харківської державної зооветеринарної академії.* 2007. №15 (40). С. 91–95.

71. Черкасский Б. Л. Глобальна епідеміологія: посібн. Москва: Практична медицина, 2008. 447 с.

72. Шаповалова О. В., Позмогова С. А., Завгородній А. І. Молекулярні технології дослідження мікобактерій. *Annals of Mechnikov Institute.* 2023. №1. С. 9–20.

73. Шевченко О. С., Тодоріко Л. Д., Потейко П. И., Погорелова О. А. Питання діагностики та лікування нетуберкульозних мікобактеріозів. *Східноєвропейський журнал внутрішньої та сімейної медицини*. 2019. №1. С. 36–53.

74. Шляхов Є. Н. Практична епідеміологія: посібн. Кишинів: Картя модавеняске, 1974. 509 с.

75. Щербина О. К. Загальні закономірності епізоотичного процесу. Київ: УАСГН, 1959. 59 с.

76. Яворська Г. В. Морфолого-культуральні особливості мультирезистентних штамів *Mycobacterium tuberculosis*. *Вісник Львівського університету: Сер.: біологічна.* 2004. №38. С. 165–170.

77. Яворська Г. В., Сибірна Р. І. Морфолого-культурні та фізіолого-біохімічні властивості атипових мікобактерій. *Мікробіологічний журнал*. 2009. №4. С. 27–34.

78. Ярчук Б. М., Вербицький П. І., Литвин В. П., Корнієнко Л. Є., Домбровський О. Б., Тирсін Р. В., Корнієнко Л. М. Загальна епізоотологія: навч. посіб. Біла Церква: БЦДАУ, 2002. 656 с.

79. Adjemian J., Daniel-Wayman S., Ricotta E., Prevots D. R. Epidemiology of Nontuberculous Mycobacteriosis. *Semin Respir Crit Care Med*. 2018 №39(3). P. 325–335. URL: https://doi.org/10.1055/s-0038-1651491 (дата звернення 05.10.2023).

80. Alffenaar J. W., Märtson A. G., Heysell S. K., Cho J. G., Patanwala A., Burch G., Kim H. Y., Sturkenboom M. G. G., Byrne A., Marriott, D., Sandaradura, I., Tiberi, S., Sintchencko, V., Srivastava, S., Peloquin, C.A. Therapeutic Drug Monitoring in Non-Tuberculosis Mycobacteria Infections. *Clin Pharmacokinet*. 2021. №60(6). P. 711–725. URL: https://doi.org/10.1007/s40262-021-01000-6 (дата звернення 08.10.2023).

81. Aliyu G., Samer S., El-Kamar, Abimiku A., Brown C., Tracy K., Hungerford L., Blattner W. Prevalence of non-tuberculous mycobacterial infections among tuberculosis suspects in Nigeria. *PloS one*. 2013. №8. P. 631–640. URL: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0063170 (дата звернення 10.10.2023).

82. Ambrosioni J., Lew D., Garbino J. Nocardiosis: updated clinical review and experience at a tertiary center. *Infection*. 2010 №38(2). P. 89–97. URL: https://doi.org/10.1007/s15010-009-9193-9 (дата звернення 20.10.2023).

83. Armstrong D. T., Eisemann E., Parrish N. A. Brief Update on Mycobacterial Taxonomy, 2020 to 2022. *Journal of Clinical Microbiology*. 2023. №61(4). P. e0033122. URL: https://doi.org/10.1128/jcm.00331-22 (дата звернення 20.10.2023).

84. Asaava L. L., Githui W. A., Mwangi M., Mwangi E., Juma E., Moraa R., Halakhe A., Gicheru M. M. Isolation, identification and associated risk factors of non-tuberculous mycobacteria infection in humans and dromedary camels in Samburu County, Kenya. *Zoonoses Public Health*. 2020. №67. P. 713–731. URL: https://doi.org/10.1111/zph.12754 (дата звернення 25.10.2023).

85. Aubry A., Mougari F., Reibel F., Cambau E. *Mycobacterium marinum*. *Microbiol Spectr*. 2017. №5(2). URL: https://doi.org/10.1128/microbiolspec.tnmi7-0038-2016 (дата звернення 28.10.2023).

86. Aydin F., Ulger M., Emekdaş G., Aslan G., Günal S. Isolation and identification of mycobacterium bovis and non-tuberculous mycobacteria in raw milk samples in Mersin province. *Mikrobiyol Bul*. 2012. №46. P. 283–289. URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22639317/ (дата звернення 28.10.2023).

87. Bai A., Weaver M., Bao F., Chan E. D., Bai X. *Saccharomyces boulardii* produces a factor that inhibits *Mycobacterium intracellulare* burden in human macrophages. *Advances in Microbiology*. 2016. №6(13). P. 965–975. URL: doi: 10.4236/aim.2016.613091 (дата звернення 29.10.2023).

88. Banks J., Hunter A. M., Campbell I. A., Jenkins P. A., Smith A. P. Pulmonary infection with *Mycobacterium kansasii* in Wales, 1970-9: review of treatment and response. *Thorax*. 1983. №38(4). P. 271–274. URL: https://doi.org/10.1136/thx.38.4.271 (дата звернення 01.11.2023).

89. Ben I. K., Boschiroli M. L., Soussi F., Cherif N., Benzarti M., Boukadida J. Isolation and molecular characterization of *Mycobacterium bovis* from raw milk in Tunisia. *Afr Health Sci*. 2011. №11. P. 2–5. URL: https://www.ajol.info/index.php/ahs/article/view/70032 (дата звернення 03.11.2023).

90. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology Ninth Edition / J.G. Holt, N.R. Kneg, P.H. Sneath. Williams and Wilkins. 1994. URL: https://www.biodiversitylibrary.org/item/41848#page/5/mode/1up (дата звернення 05.11.2023).

91. Blanc P., Dutronc H., Peuchant O., Dauchy F. A., Cazanave C., Neau D., Wirth G., Pellegrin J. L., Morlat P., Mercié P., Tunon-de-Lara J. M., Doutre M. S., Pélissier P., Dupon M. Nontuberculous Mycobacterial Infections in a French Hospital: A 12-Year Retrospective Study. *PLoS One*. 2016. №11(12).

P. e0168290. URL: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0168290 (дата звернення 09.11.2023).

92. Bolaños C. A., Paula C. L., Guerra S. T., Franco M. M., Ribeiro M. G. Diagnosis of mycobacteria in bovine milk: an overview. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*. 2017. №59. P. e40. URL: https://doi.org/10.1590/S1678-9946201759040 (дата звернення 12.11.2023).

93. Bolaños C. A., Franco M. M., Filho A. M., Ikuta C. Y., Burbano-Rosero E. M., Neto J. S., Heinemann M. B., Motta R. G., de Paula C. L., de Morais A. B., Guerra S. T., Alves A. C., Listoni F. J., Márcio Garcia Ribeiro M. G. Nontuberculous mycobacteria in milk from positive cows in the intradermal comparative cervical tuberculin test: implications for human tuberculosis infections. *Rev Inst Med Trop São Paulo*. 2018. №60. P. e6. URL: https://doi.org/10.1590/S1678-9946201860006 (дата звернення 15.11.2023).

94. Brode S. K., Daley C. L., Marras T. K. The epidemiologic relationship between tuberculosis and non-tuberculous mycobacterial disease: a systematic review. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2014. №18(11). P. 1370–1377. URL: https://doi.org/10.5588/ijtld.14.0120 (дата звернення 15.11.2023).

95. Bruczyńska M., Didkowska A., Brzezińska S., Anusz K. *Mycobacterium avium* Subspecies paratuberculosis in Asymptomatic Zoo Herbivores in Poland. *Animals*. 2023. №13. P. 1022–1031. URL: https://doi.org/10.3390/ani13061022 (дата звернення 24.11.2023).

96. Bryant J. M., Grogono D. M., Rodriguez-Rincon D., Everall I. et al. Emergence and spread of a human-transmissible multidrug-resistant nontuberculous mycobacterium. *Science.* 2016. №354(6313). P. 751-757. URL: https://www.science.org/doi/10.1126/science.aaf8156 (дата звернення 24.11.2023).

97. Buijtels P. C., van der Sande M. A., de Graaff C. S., Parkinson S., Verbrugh H. A., Petit P. L. and van Soolingen D. Nontuberculous mycobacteria, Zambia. *Emerging infectious diseases.* 2009. №15(2). P. 242–249. URL: https://doi.org/10.3201/eid1502.080006 (дата звернення 30.11.2023).

98. Busol V., Boiko P., Bednarski M., Shevchuk V., Mazur V. Pathomorphological changes in the organs of the peripheral immune system in mycobacteriosis of cattle. *Ukrainian Journal of Veterinary Sciences*. 2023. №14(2). P. 9–17. URL: https://doi.org/10.31548/veterinary2.2023.09 (дата звернення 01.12.2023).

99. Carneiro M. D., Nunes L. S., David S. M., Dias C. F., Barth A. L., Unis G. Nontuberculous mycobacterial lung disease in a high tuberculosis incidence setting in Brazil. *J. Braz. Pneumol*. 2018. №44(2). P. 106–111. URL: https://doi.org/10.1590/S1806-37562017000000213 (дата звернення 09.12.2023).

100. Chan E. D., Iseman M. D. Underlying host risk factors for non-tuberculous mycobacterial lung disease. *Semin Respir Crit Care Med*. 2013. №34(1). P. 110–123. URL: https://dx.doi.org/10.1055/s-0033-1333573 (дата звернення 10.12.2023).

101. Chang C., Wang L. Y., Liao C. Y., Huang S. P. Identification of nontuberculous mycobacteria existing in tap water by pcr-restriction fragment length polymorphism. *Appl Environ Microbiol*. 2002. №68(6). P. 3159–3161. URL: https://doi.org/10.1128/AEM.68.6.3159-3161.2002 (дата звернення 16.12.2023).

102. Dahl V. N., Floe A., Wejse Ch. Nontuberculous mycobacterial infections in a Danish region between 2011 and 2021: evaluation of trends in diagnostic codes. *Infectious diseases (London, England)*. 2023. №55(6). P. 439–443. URL: https://doi.org/10.1080/23744235.2023.2194411 (дата звернення 20.12.2023).

103. Daley C. L. Pulmonary non-tuberculous mycobacterial infections. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* 2010. №14(6). P. 665–671. URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20487602/ (дата звернення 16.02.2024).

104. Daley C. L., Griffith D. E. Pulmonary non-tuberculous mycobacterial infections. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2010. №14(6). P. 665–671. URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20487602/ (дата звернення 29.12.2023).

105. Davies B. S., Roberts C. H., Kaul S., Klein J. L., Milburn H. J. Non-tuberculous slow-growing mycobacterial pulmonary infections in non-HIV-infected patients in south London. *Scand. J. Infect. Dis.* 2012. №44(11). P. 815–819. URL: https://doi.org/10.3109/00365548.2012.694469 (дата звернення 05.01.2024).

106. Dionisio D., Tortoli E., Simonetti M. T., di Lollo S., Meli M., Farese A., Fontana R., Sterrantino G., Leoncini F. Micobatteriosi intestinali in AIDS. Clinica e terapia delle infezioni da *Mycobacterium avium, Mycobacterium kansasii, Mycobacterium genavense* [Intestinal mycobacterial infections in AIDS. Clinical course and treatment of infections caused by *Mycobacterium avium, Mycobacterium kansasii, Mycobacterium genavense*]. *Recenti Prog Med.* 1994. №85(11). P. 526–536. Italian. URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7855386/ (дата звернення 10.01.2024).

107. Dolmans R. A., Boel C. H., Lacle M. M., Kusters J. G. Clinical Manifestations, Treatment, and Diagnosis of Tropheryma whipplei Infections. *Clin Microbiol Rev*. 2017. №30(2). P. 529–555. URL: https://doi.org/10.1128/cmr.00033-16 (дата звернення 16.01.2024).

108. Falkinham J. O. 3rd, Norton C. D., Le Chevallier M. W. Factors influencing numbers of *Mycobacterium avium, Mycobacterium intracellulare*, and other Mycobacteria in drinking water distribution systems. *Appl Environ Microbiol*. 2001. №67(3). P. 1225–1231. URL: https://doi.org/10.1128/AEM.67.3.1225-1231.2001 (дата звернення 14.02.2024).

109. Falkinham J. O. 3rd. Ecology of nontuberculous mycobacteria–where do human infections come from? *Semin Respir Crit Care Med*. 2013. №34(1). P. 95–102. URL: https://dx.doi.org/10.1055/s-0033-1333568 (дата звернення 28.01.2024).

110. Falkinham J. O. 3rd. Nontuberculous mycobacteria in the environment. *Tuberculosis (Edinb).* 2022. №137. P. 102267. URL: https://doi.org/10.1016/j.tube.2022.102267 (дата звернення 04.02.2024).

111. Falkinham J. O. Environmental sources of nontuberculous mycobacteria. *Clin Chest Med*. 2015. №36(1). P. 35–41. URL: https://doi.org/10.1016/j.ccm.2014.10.003 (дата звернення 07.02.2024).

112. Falkinham J. O. III. Nontuberculous mycobacteria in the environment. *Clin Chest Med.* 2002. №23. P. 529–551. URL: https://doi.org/10.1016/S0272-5231(02)00014-X (дата звернення 07.02.2024).

113. Falkinham J. O. Surrounded by mycobacteria: nontuberculous mycobacteria in the human environment. *J Appl Microbiol*. 2009. №107(2). P. 356–367. URL: https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2009.04161.x (дата звернення 20.02.2024).

114. Feazel L. M., Baumgartner L. K., Peterson K. L., Frank D. N., Harris J. K., Pace N. R. Opportunistic pathogens enriched in showerhead biofilms. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2009. №106(38). P. 16393–16399. URL: http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0908446106 (дата звернення 20.02.2024).

115. Franco M. M., Paes A. C., Ribeiro M. G., Pantoja J. C., Santos A. C., Miyata M., et al. Occurrence of mycobacteria in bovine milk samples from both individual and collective bulk tanks at farms and informal markets in the southeast region of Sao Paulo, Brazil. *BMC Vet Res*. 2013. №9. P. 85–95. URL: https://doi.org/10.1186/1746-6148-9-85 (дата звернення 27.02.2024).

116. Furuuchi K., Morimoto K., Yoshiyama T., Tanaka Y., Fujiwara K., Okumura M., Izumi K., Shiraishi Y., Mitarai S, Ogata H., Kurashima A., Yoshimori K., Ohta K., Goto H., Sasaki Y. Interrelational changes in the epidemiology and clinical features of nontuberculous mycobacterial pulmonary disease and tuberculosis in a referral hospital in Japan. *Respir Med.* 2019. №152. P. 74–80. URL: https://doi.org/10.1016/j.rmed.2019.05.001 (дата звернення 01.03.2024).

117. Golab J., Jakobisiak M., Lasek W., Stoklosa N. Immunologia. Warszawa: Wydawnictwo Naukowe, 2007. 511 s.

118. Gopalaswamy R., Shanmugam S., Mondal R., Subbian S. Of tuberculosis and non-tuberculous mycobacterial infections - a comparative analysis

of epidemiology, diagnosis and treatment. *J Biomed Sci.* 2020. №27(74). P. 1–17. URL: https://doi.org/10.1186/s12929-020-00667-6 (дата звернення 09.03.2024).

119. Gross J. E., Caceres S., Poch K., Hasan N. A., Jia F., Epperson L. E., Lipner E., Vang C., Honda J. R., Strand M., Calado Nogueira de Moura V., Daley C. L., Strong M., Davidson R. M., Nick J. A. Investigating Nontuberculous Mycobacteria Transmission at the Colorado Adult Cystic Fibrosis Program. *Am J Respir Crit Care Med.* 2022. №205(9). P. 1064–1074. URL: https://doi.org/10.1164/rccm.202108-1911OC (дата звернення 15.03.2024).

120. Heifets L. Mycobacterial infections caused by nontubercilous mycobacteria. *Semin. Respir. Crit. Care Med.* 2004. №25(3). P. 283–295. URL: https://www.thieme-connect.de/products/ejournals/abstract/10.1055/s-2004-829501 (дата звернення 16.03.2024).

121. Hejlícek K., Treml F. Epizootologie a patogeneze aviární mykobakteriózy holuba domacího (Columba livia f. domestica) [Epizootiology and pathogenesis of avian mycobacteriosis in domestic pigeons (Columba livia f. domestica)]. Czech. *Vet Med (Praha).* 1994. №39(10). P. 615–624. URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7992471/ (дата звернення 17.03.2024).

122. Hoop R. K., Böttger E. C., Ossent P., Salfinger M. Mycobacteriosis due to *Mycobacterium genavense* in six pet birds. *J Clin Microbiol*. 1993. №31(4). P. 990–993. URL: https://doi.org/10.1128/jcm.31.4.990-993.1993 (дата звернення 20.03.2024).

123. Horsburgh C. R. Jr. *Mycobacterium avium complex* infection in the acquired immunodeficiency syndrome. *N Engl J Med.* 1991. №324. P. 1332–1338. URL: https://www.nejm.org/doi/pdf/10.1056/NEJM199105093241906 (дата звернення 25.03.2024).

124. Hung N. D., Dong H., Senapin S., Pimsannil K., Thompson K., Shinn A., Soontara C., Sirimanapong W., Chatchaipun S., Rodkhum C. Insight into characteristics and pathogenicity of five rapidly growing non-tuberculous Mycobacterium species isolated from the Siamese fighting fish, *Betta splendens.*

Aquaculture. 2023. №575. P. 739822. URL: https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2023.739822 (дата звернення 29.03.2024).

125. Hussein F., Kaayem S., & Nagham Al-g. *Mycobacterium marinum* (mycobacteriosis) in human and animals. 2016. URL: https://www.researchgate.net/publication/318403406_MYCOBACTERIUM_MARINUM_MYCOBACTERIOSIS_IN_HUMAN_AND_ANIMALS (дата звернення 29.03.2024).

126. Iseman M. Medical management of pulmonary disease caused by *Mycobacterium avium complex. Clin. Chest Med.* 2003. №23. P. 633–641. URL: https://doi.org/10.1016/S0272-5231(02)00023-0 (дата звернення 01.04.2024).

127. Jamal F., Hammer M. Nontuberculous Mycobacterial Infections. *Radiol Clin North Am.* 2022. №60(3). P. 399–408. URL: https://doi.org/10.1016/j.rcl.2022.01.012 (дата звернення 06.04.2024).

128. Jing H., Tan W., Deng Y., Gao D., Li L., Lu Z., Graviss E. A., Ma X. Diagnostic delay of pulmonary nontuberculous mycobacterial infection in China. *Multidiscip. Respir. Med.* 2014. №9. P. 48. URL: https://doi.org/10.1186/2049-6958-9-48 (дата звернення 09.04.2024).

129. Kahla I. B., Henry M., Boukadida J., Drancourt M. Pyrosequencing assay for rapid identification of *Mycobacterium tuberculosis* complex species. *BMC Research Notes*. 2011. №4. P. 423–430. URL: https://doi.org/10.1186/1756-0500-4-423 (дата звернення 11.04.2024).

130. Kazwala R. R., Daborn C. J., Kusiluka L. J., Jiwa S. F., Sharp J. M., Kambarage D. M. Isolation of Mycobacterium species from raw milk of pastoral cattle of the southern highlands of Tanzania. *Trop Anim Health Prod.* 1998. №30. P. 233–239. URL: https://doi.org/10.1023/A:1005075112393 (дата звернення 12.04.2024).

131. Kestle D. G., Abbott G. H., Kubica G. P. Differential Identification of Mycobacteria II. Subgroups of Groups II and III (Runyon) with Different Clinical Significance. *American Review of Respiratory Disease.* 1967. №95(6). P. 1041–

1052. URL: https://www.atsjournals.org/doi/abs/10.1164/arrd.1967.95.6.1041 (дата звернення 16.04.2024).

132. Khatter S., Singh U. B., Arora J., Rana T., Seth P. Mycobacterial infections in human immuno-deficiency virus seropositive patients: role of non-tuberculous mycobacteria. *Indian J Tuberc*. 2008. №55(1). P. 28–33. URL: https://popline.org/node/200748 (дата звернення 16.04.2024).

133. Ko R. E., Moon S. M., Ahn S., Jhun B. W., Jeon. K., Kwon O. J., Huh H. J., Ki C. S., Lee N. Y., Koh W. J. Changing Epidemiology of Nontuberculous Mycobacterial Lung Diseases in a Tertiary Referral Hospital in Korea between 2001 and 2015. *J. Korean Med. Sci*. 2018. №33(8). P. e65. URL: https://doi.org/10.3346/jkms.2018.33.e65 (дата звернення 20.04.2024).

134. Koehne G., Maddux R., Britt J. Rapidly growing mycobacteria associated with bovine mastitis. *Am. J. Vet. Res.* 1981. №42. P. 1238–1239. URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7023300/ (дата звернення 25.04.2024).

135. Krajewska-Wedzina M., Radulski Ł., Waters W.R., Didkowska A., Zabost A., Augustynowicz-Kopec E., Brzezinska S., Weiner M. *Mycobacterium bovis* Transmission between Cattle and a Farmer in Central Poland. *Pathogens*. 2022. №11. P. 1170–1181. URL: https://doi.org/10.3390/pathogens11101170 (дата звернення 26.04.2024).

136. Kumar V., Abbas A. K., Aster, J. K. Basics of pathology according to Robinson: translation of the 10th English edition: in 2 volumes; Kyiv: VSV "Medicine", 2019. 240.

137. Kurtjak B. M., Shevchuk V. M., Suchomlin K. B., Vishchur O. I., Solovei L. M., Romanovich M. S., Rudenko O. P. Peculiarities of epizootological surveillance and control of mycobacteriosis in productive animals in the conditions of dairy farms of Ukraine. Biol Tvarin. 2024; №26(1). P. 17–23. URL: https://doi.org/10.15407/animbiol26.01.01 (дата звернення 16.02.2024)

138. Kwon Y. S., Koh W. J., Daley C.L. Treatment of *Mycobacterium avium* Complex Pulmonary Disease. *Tuberc Respir Dis (Seoul)*. 2019. №82(1). P. 15–26. URL: https://doi.org/10.4046/trd.2018.0060 (дата звернення 27.04.2024).

139. Leite C. Q., Anno I. S., Leite S. R., Roxo E., Morlock G. P., Cooksey R. C. Isolation and identification of mycobacteria from livestock specimens and milk obtained in Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 2003. №98. P. 319–323. URL: https://doi.org/10.1590/S0074-02762003000300005 (дата звернення 30.04.2024).

140. Lipman M., Cleverley J., Fardon T., Musaddaq B., Peckham D., van der Laan R., Whitaker P., White J. Current and future management of non-tuberculous mycobacterial pulmonary disease (NTM-PD) in the UK. *BMJ Open Respir. Res*. 2020. №7. P. e000591. URL: https://bmjopenrespres.bmj.com/content/7/1/e000591 (дата звернення 01.05.2024).

141. Lipner E. M., Knox D., French J., Rudman J., Strong M., Crooks J. L. A Geospatial Epidemiologic Analysis of Nontuberculous Mycobacterial Infection: An Ecological Study in Colorado. *Ann Am Thorac Soc*. 2017. №14(10). P. 1523–1532. URL: https://doi.org/10.1513/AnnalsATS.201701-081OC (дата звернення 02.05.2024).

142. Marras T. K., Campitelli M.A., Lu H., Chung H., Brode S. K., Marchand-Austin A., Winthrop K. L., Gershon A. S., Kwong J. C., Jamieson F. B. Pulmonary Nontuberculous Mycobacteria-Associated Deaths, Ontario, Canada, 2001–2013. *Emerg Infect Dis*. 2017. №23(3). P. 468–476. URL: https://doi.org/10.3201/eid2303.161927 (дата звернення 03.05.2024).

143. McGeady S. J., Murphey S. A. Disseminated *Mycobacterium kansasii* infection. *Clin Immunol Immunopathol*. 1981. №20(1). C. 87–98. URL: https://doi.org/10.1016/0090-1229(81)90165-3 (дата звернення 01.04.2024).

144. Meehan C. J., Barco R. A., Loh Y. E., Cogneau S., Rigouts L. Reconstituting the genus Mycobacterium. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2021. №71(9). P. 004922. URL: https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004922 (дата звернення 05.05.2024).

145. Meissner G., Schmiedel A. Mycobacterien und mycobacterielle Krankheit-en. *Jena*. 1967. 269 p.

146. Mercaldo R. A., Marshall J. E., Cangelosi G. A., Donohue M., Falkinham J. O., Fierer N. Environmental risk of nontuberculous mycobacterial infection: Strategies for advancing methodology. *Tuberculosis*. 2023. №139. P. 102305. URL: https://doi.org/10.1016/j.tube.2023.102305 (дата звернення 05.03.2024).

147. Merritt R. W., Walker E. D., Small P. L., Wallace J. R., Johnson P. D., Benbow M. E. Ecology and transmission of Buruli ulcer disease: a systematic review. *PLoS Negl Trop Dis*. 2010. №4(12). P. e911. URL: https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0000911 (дата звернення 18.03.2024).

148. Modrá H., Ulmann V., Caha J., Hübelová D,, Konečný O., Svobodová J., Weston R. T., Pavlík I. Socio-Economic and Environmental Factors Related to Spatial Differences in Human Non-Tuberculous Mycobacterial Diseases in the Czech Republic. *Int J Environ Res Public Health*. 2019. №16(20). P. 3969. URL: https://doi.org/10.3390/ijerph16203969 (дата звернення 01.06.2024).

149. Montero E., Rojo-Solis C., Castro N., Fernández M., Perez V., Corpa J., Ortega J. Clinical and Pathological Findings Associated with Mycobacteriosis in Captive Syngnathids. *Animals*. 2022. №12. P. 3259. URL: https://doi.org/10.3390/ani12233259 (дата звернення 01.07.2024).

150. Morais D. H., Vaz Rodrigues M., Ávila R. Silva R. J. Visceral mycobacteriosis in amphibians from Brazilian Caatinga Region. *Diseases of Aquatic Organisms*. 2021. №145. P. 139–144. URL: https://doi.org/10.3354/dao03604 (дата звернення 01.08.2024).

151. *Mycobacterium tuberculosis* variant microti. *NCBI*. URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&id=1806 (дата звернення 06.06.2024).

152. O'Brien C. R., Handasyde K. A., Hibble J., Lavender C. J., Legione A. R., McCowan C., Globan M., Mitchell A. T., McCracken H. E., Johnson P. D., Fyfe J. A. Clinical, microbiological and pathological findings of *Mycobacterium ulcerans* infection in three Australian Possum species. *PLoS Negl Trop Dis*. 2014.

№8(1). P. e2666 URL: https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002666 (дата звернення 01.06.2024).

153. Oda G., Winters M. A., Pacheco S. M., Sikka M. K., Bleasdale S. C., Dunn B., Boswell E., Winters B., Bumsted A., Frisch J., Holodniy M. Clusters of nontuberculous mycobacteria linked to water sources at three Veterans Affairs Medical Centers. *Infect. Control Hosp. Epidemiol*. 2020. №41. P. 320–330. URL: https://doi.org/10.1017/ice.2019.342 (дата звернення 13.06.2024).

154. Ojo O. T., Odeyemi A. O. Non-Mycobacteria Tuberculosis in Africa: A Literature Review. *Ethiop J Health Sci*. 2023. №33(5). P. 913–918. URL: https://www.ajol.info/index.php/ejhs/article/view/255820 (дата звернення 01.06.2024).

155. Okoi C., Anderson S., Antonio M., Mulwa S., Gehre F, Adetifa I. Non-tuberculous Mycobacteria isolated from Pulmonary samples in sub-Saharan Africa. A Systematic Review and Meta Analyses. *Sci Rep.* 2017. №7(1). P. 1200–1202. URL: https://doi.org/10.1038/s41598-017-12175-z (дата звернення 01.06.2024).

156. Orgeur M., Brosch R. Evolution of virulence in the *Mycobacterium tuberculosis complex. Curr Opin Microbiol*. 2018. №41 P. 68–75. URL: https://doi.org/10.1016/j.mib.2017.11.021 (дата звернення 01.03.2024).

157. Panagiotou M., Papaioannou A. I., Kostikas K., Paraskeua M., Velentza, E., Kanellopoulou M., Filaditaki V., Karagiannidis N. The epidemiology of pulmonary nontuberculous mycobacteria: data from a general hospital in Athens, Greece, 2007–2013. *Pulm Med*. 2014. №10. P. 894976. URL: http://dx.doi.org/10.1155/2014/894976 (дата звернення 01.02.2024).

158. Panivska O., Shevchuk V. Mycobacteriosis of productive animals in the conditions of dairy farms. Věda aperspektivy. 2024. № 6(37). P. 265–276.

159. Pardo R. B., Langoni H., Mendonça L. J., Chi K. D. Isolation of *Mycobacterium spp*. in milk from cows suspected or positive to tuberculosis. *Braz J Vet Res Anim Sci*. 2001. №38. P. 284–287. URL: https://doi.org/10.1590/S1413-95962001000600007 (дата звернення 01.06.2024).

160. Paul G., Duben-Engelkirk Janet L. Laboratory diagnosis of infectious diseases: essentials of diagnostic microbiology. 1 ed. Lippincott: Williams & Wilkins, 2008. 754 p. URL: https://search.worldcat.org/title/Laboratory-diagnosis-of-infectious-diseases-:-essentials-of-diagnostic-microbiology/oclc/130565929 (дата звернення 20.01.2024).

161. Pavlik I., Maltova L., Dvorska L. Mycobacterial infections in cattle and pigs caused by *Mycobacterium avium complex* members and atypical mycobacteria in the Czech Republic during 2000-2004. *Veterinarni Medicina*. 2005. №50. P. 281–290. URL: https://www.agriculturejournals.cz/pdfs/vet/2005/07/01.pdf (дата звернення 04.01.2024).

162. Pavlik I., Ulmann V., Weston R. T. Clinical Relevance and Environmental Prevalence of *Mycobacterium fortuitum* Group Members. Comment on Mugetti et al. Gene Sequencing and Phylogenetic Analysis: Powerful Tools for an Improved Diagnosis of Fish Mycobacteriosis Caused by *Mycobacterium fortuitum* Group Members. *Microorganisms* 2021, *9*, 797. Microorganisms. 2021. №9(11). P. 2345. URL: https://doi.org/10.3390/microorganisms9112345 (дата звернення 01.06.2024).

163. Pawsat G., Hoggard N., Duvall A., Flatland, B. Bilateral Cubital Lymphoma and Mycobacteriosis in a Salmon-Crested Cockatoo (*Cacatua moluccensis*). *J Avian Med Surg*. 2023. №36(4). P. 406–413. URL: https://doi.org/10.1647/22-00006 (дата звернення 04.03.2024).

164. Peterson K. J. *Mycobacterium fortuitum* as a cause of bovine mastitis: Tuberculin sensitivity following experimental infections. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1965. №147. P. 1600. URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/5884059/ (дата звернення 02.02.2024).

165. Prevots D. R., Loddenkemper R., Sotgiu G., Migliori G. B. Nontuberculous mycobacterial pulmonary disease: an increasing burden with substantial costs. *Eur Respir J.* 2017. №49(4). P. 1700374.. URL: (дата звернення 01.06.2024).

166. Prevots D. R., Shaw P. A., Strickland D., Jackson L. A., Raebel M. A., Blosky M. A., Montes de Oca R., Shea Y. R., Seitz A. E., Holland S. M., Olivier K.N. Nontuberculous mycobacterial lung disease prevalence at four integrated health care delivery systems. *Am J Respir Crit Care Med*. 2010 Oct 1;182(7):970-6. URL: https://doi. org/10.1183/13993003.00374-2017 (дата звернення 04.03.2024).

167. Przybylski G., Bukowski J., Kowalska W., Pilaczy´nska-Cemel M., Krawiecka, D. Trends from the Last Decade with Nontuberculous Mycobacteria Lung Disease (NTM-LD): Clinicians' Perspectives in Regional Center of Pulmonology in Bydgoszcz, Poland. *Pathogens*. 2023. №12. P. 988. URL: https://doi.org/10.3390/pathogens12080988 (дата звернення 05.03.2024).

168. Qamar M. F., Azhar T. Detection of Mycobacterium from bovine milk in Lahore, Pakistan. *Sci Int (Lahore)*. 2013. №25. P. 353–357. URL: http://www.sci-int.com/pdf/2731903132--353-357--%20Faiz%20Qamar%2025-2-13.pdf (дата звернення 01.02.2024).

169. Rastogi N., Legrand E., Sola C. The mycobacteria: an introduction to nomenclature and pathogenesis. *Rev Sci Tech*. 2001. №20. P. 21–54. URL: http://dx.doi.org/10.20506/rst.20.1.1265 (дата звернення 01.02.2024).

170. Rathor N., Khillan V., Panda D. Catheter associated mycobacteremia: Opening new fronts in infection control. *Indian J. Crit. Care Med*. 2015. №19. P. 350–352. URL: https://www.ijccm.org/doi/pdf/10.4103/0972-5229.158277 (дата звернення 01.06.2024).

171. Reil I., Špičić S., Barbić L., Duvnjak S., Kompes G., Benić M., Stojević D., Cvetnić Ž., Arapović J., Zdelar-Tuk M. Antimicrobial Resistance in Rapidly Growing Nontuberculous Mycobacteria among Domestic and Wild Animals Emphasizing the Zoonotic Potential. *Microorganisms*. 2023. №11(10). P. 2520. URL: https://doi.org/10.3390/microorganisms11102520 (дата звернення 01.03.2024).

172. Rengifo-Herrera C., Reyes H. J., Reyes H., Chong M. A., Acosta F., Ponder J., Goodridge A. Avian Mycobacteriosis in a Rescued Harpy Eagle from

Darien Forest, Panama. *Acta Scientiae Veterinari*. 2019. №47. P. 33192–4177. URL: https://doi.org/10.22456/1679-9216.96502 (дата звернення 06.04.2024).

173. Rindi L., Garzelli C. Increase in non-tuberculous mycobacteria isolated from humans in Tuscany, Italy, from 2004 to 2014. *BMC. Infect. Dis*. 2015. №16. P. 44–48. URL: (дата звернення 14.01.2024).

174. Roger S.M. Chong. Mycobacteriosis. In book: Aquaculture Pathophysiology (pp.407-415). 2022. URL: https://www.amazon.com/Aquaculture-Pathophysiology-Frederick-S-Kibenge/dp/0128122110 (дата звернення 03.02.2024).

175. Runyon E. H. Anonymous mycobacteria in pulmonary disease. *Med Clin North Am*. 1959. №43(1). P. 273-90. URL: https://doi.org/10.1016/S0025-7125(16)34193-1 (дата звернення 13.01.2024).

176. Sandlund N., Skår C., Karlsbakk E. First identification of mycobacteriosis in Atlantic mackerel (*Scomber scombrus*). *Journal of Fish Diseases*. 2023. №46. P. 527–533. URL: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/jfd.13765 (дата звернення 11.02.2024).

177. Savage P., Carla A., Lemar B., Rod S., O'Shane M.H., Ray R., Calvern T., Chris O., Esteban S. Piscine mycobacteriosis in the ornamental fish trade in Trinidad and Tobago. *Journal of Fish Diseases*. 2022. №45(4). P. 547–560. URL: https://doi.org/10.1111/jfd.13580 (дата звернення 04.04.2024).

178. Schmidt V., Köhler H., Heenemann K., Möbius P. Mycobacteriosis in Various Pet and Wild Birds from Germany: Pathological Findings, Coinfections, and Characterization of Causative Mycobacteria. *Microbiology spectrum.* 2022. №10(4). P. e0045222. URL: https://doi.org/10.1128/spectrum.00452-22 (дата звернення 07.03.2024).

179. Sgarioni S. A., Hirata R. D., Hirata M. H., Leite C. Q., Prince K. A., Leite S. R., Filho D. V., Siqueira V. L., Caleffi-Ferracioli K. R., Cardoso R. F. Occurrence of *Mycobacterium bovis* and non-tuberculous mycobacteria (NTM) in raw and pasteurized milk in the northwestern region of

Paraná, Brazil. *Braz J Microbiol*. 2014. №45. P. 707–711. URL: https://doi.org/10.1590/S1517-83822014000200046 (дата звернення 08.03.2024).

180. Sharma S. K., Upadhyay V. Epidemiology, diagnosis & treatment of non-tuberculous mycobacterial diseases. *Indian J Med Res*. 2020. №152(3). P. 185–226. URL: https://journals.lww.com/ijmr/Fulltext/2020/52030/Epidemiology,_diagnosis___treatment_of.5.aspx (дата звернення 09.03.2024).

181. Shin J. I., Shin S. J., Shin M. K. Differential Genotyping of Mycobacterium avium Complex and Its Implications in Clinical and Environmental Epidemiology. Microorganisms. 2020. №8(1). P. 98. URL: https://doi.org/10.3390/microorganisms8010098 (дата звернення 16.02.2024)

182. Shin S. J., Shin M. K. Differential Genotyping of Mycobacterium avium Complex and Its Implications in Clinical and Environmental Epidemiology. Microorganisms. 2020. №8(1). P. 98. URL: https://doi.org/10.3390/microorganisms8010098 (дата звернення 16.02.2024).

183. Shivaprasad H. L., Palmieri C. Pathology of mycobacteriosis in birds. *Vet Clin North Am Exot Anim Pract.* 2012. №15(1). P. 41–55. URL: https://doi.org/10.1016/j.cvex.2011.11.004 (дата звернення 01.06.2024).

184. Shrivastava K., Kumar C., Singh A., Narang A., Giri A., Sharma N., Gupta S., Chauhan V., Gunasekaran J., Balasubramanian V., Chaudhry A., Singla R., Prasad R., Varma-Basil M. An overview of pulmonary infections due to rapidly growing mycobacteria in South Asia and impressions from a subtropical region. *Int. J. Mycobacteriol*. 2020. №9(1). P. 62–70. URL: https://journals.lww.com/ijmy/fulltext/2020/09010/an_overview_of_pulmonary_infections_due_to_rapidly.12.aspx (дата звернення 15.03.2024).

185. Smith G. S., Ghio A. J., Stout J. E., Messier K. P., Hudgens E. E., Murphy M. S., Pfaller S. L, Maillard J. M., Hilborn E. D. Epidemiology of nontuberculous mycobacteria isolations among central North Carolina residents, 2006–2010. *J. Infect*. 2016. №72(6). P. 678–686. URL: https://doi.org/10.1016/j.jinf.2016.03.008 (дата звернення 01.04.2024).

186. Sommer S., Pudrith C. B., Colvin C. J., Cousens P. M. *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* suppresses expression of IL-12p40 and iNOS genes induced by signaling through CD40 in bovine monocyte-derived macrophages. *Vet. Immun. and Immunopath*. 2009. №128(1-3). P. 44–52. URL: https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2008.10.294 (дата звернення 22.04.2024).

187. Sriyabhaya N., Wongwatana S. Pulmonary infection caused by atypical mycobacteria: a report of 24 cases in Thailand. *Rev Infect Dis*. 1981. №3(5). P. 1085–1089. URL: https://doi.org/10.1093/clinids/3.5.1085 (дата звернення 01.06.2024).

188. Strollo S. E., Adjemian J., Adjemian M. K., Prevots D. R. The burden of pulmonary nontuberculous mycobacterial disease in the United States. *Ann Am Thorac Soc*. 2015. №12. P. 1458–1464. URL: https://doi.org/10.1513/AnnalsATS.201503-173OC (дата звернення 02.01.2024).

189. Szturmowicz M., Oniszh K., Wyrostkiewicz D., Radwan-Rohrenschef P., Filipczak D., Zabost A. Non-Tuberculous Mycobacteria in Respiratory Specimens of Patients with Obstructive Lung Diseases-Colonization or Disease? *Antibiotics (Basel).* 2020. №9(7). P. 424. URL: https://doi.org/10.3390/antibiotics907042 (дата звернення 28.01.2024).

190. Tan Y., Su B., Shu W., Cai X., Kuang S., Kuang H., Liu J., Pang Y. Epidemiology of pulmonary disease due to nontuberculous mycobacteria in Southern China, 2013–2016. *BMC Pulm Med.* 2018. №18(1). P. 168. URL: https://doi.org/10.1186/s12890-018-0728-z (дата звернення 29.03.2024).

191. Thomson R., Furuya-Kanamori L., Coffey C., Bell S., Knibbs L., Lau C. Influence of climate variables on the rising incidence of nontuberculous mycobacterial (NTM) infections in Queensland, Australia 2001-2016. *Sci Total Environ*. 2020. Volume 740. P. 139796. URL: https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139796 (дата звернення 01.10.2023).

192. Tortoli E. Microbiological features and clinical relevance of new species of the genus Mycobacterium. *Clinical Microbiology Reviews*. 2014.

№27(4). P. 727–752. URL: https://doi.org/10.1128/cmr.00035-14 (дата звернення 01.06.2024).

193. Tran Q. T., Han X. Y. Subspecies identification and significance of 257 clinical strains of *Mycobacterium avium*. *J Clin Microbiol*. 2014. №52. P. 99–113. URL: https://doi.org/10.1128/jcm.03399-13 (дата звернення 08.04.2024).

194. Turenne C. Y. Nontuberculous mycobacteria: insights on taxonomy and evolution. *Infect. Genet. Evol.* 2019. №72. P. 159–168. URL: https://doi.org/10.1016/j.meegid.2019.01.017 (дата звернення 13.02.2024).

195. Varela-Castro L., Barral M., Arnal M. C., Fernández de Luco D., Gortázar C., Garrido J. M., Sevilla I. A. Beyond tuberculosis: Diversity and implications of non-tuberculous mycobacteria at the wildlife-livestock interface. *Transbound Emerg Dis*. 2022. №69(5). P. e2978-e2993. URL: https://doi.org/10.1111/tbed.14649 (дата звернення 27.01.2024).

196. Varghese B., Al-Hajoj S. A global update on rare non-tuberculous mycobacteria in humans: epidemiology and emergence. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2020. №24(2). P. 214–223. URL: https://doi.org/10.5588/ijtld.19.0194 (дата звернення 23.02.2024).

197. Velayati A. A., Rahideh S., Nezhad Z. D., Farnia P, Mirsaeidi M. Nontuberculous mycobacteria in Middle East: Current situation and future challenges. *Int. J. Mycobacteriol*. 2015. №4(1). P. 7–17. URL: https://doi.org/10.1016/j.ijmyco.2014.12.005 (дата звернення 16.03.2024).

198. Vetere A., Bertocchi M., Pagano T., Di Ianni F., Nardini G.. First case of systemic fatal mycobacteriosis caused by *Mycobacterium goodii* in a pet Kenyan sand boa (Eryx colubrinus loveridgei). *BMC Veterinary Research*. 2022. №18. P. 291. URL: https://doi.org/10.1186/s12917-022-03351-z (дата звернення 07.04.2024).

199. Weisfeiler Yu. K. Biology and variability of *Mycobacterium tuberculosis* and atypical mycobacteria: Experimental and theoretical studies: trans. from Hungarian, Budapest: Publishing House of the Academy of Sciences of Hungary, 1975. 334 p.

200. Winthrop K. L., McNelley E., Kendall B., Marshall-Olson A., Morris C., Cassidy M., Saulson A., Hedberg K. Pulmonary non-tuberculous mycobacterial disease prevalence and clinical features: an emerging public health disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 2010. №182(7). P. 977–982. URL: https://doi.org/10.1164/rccm.201003-0503OC (дата звернення 16.02.2024).

201. Woo S. R., Sotos J., Hart A. P., Barletta R. G., Czuprynski C. J. Bovine monocytes and a macrophage cell line differ in their ability to phagocytose and support the intracellular survival of *Mycobacterium avium* subs. *paratuberculosis*. *Vet. Immun. and Immunopath*. 2006. №110(1/2). P. 109–120. URL: https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2005.09.010 (дата звернення 18.02.2024).

202. World Health Organization. Global tuberculosis report 2022. URL: https://www.who.int/teams/global-tuberculosis-programme/tb-reports/global-tuberculosis-report-2022 (дата звернення 05.10.2023).

203. World Health Organization. Tuberculosis deaths rise for the first time in more than a decade due to the COVID-19 pandemic. URL: https://www.who.int/news/item/14-10-2021-tuberculosis-deaths-rise-for-the-first-time-in-more-than-a-decade-due-to-the-covid-19-pandemic (дата звернення 01.11.2023).

204. World Organization for Animal Health. Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals (mammals, birds and bees) Paris. URL: https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/A_summry.htm (дата звернення 01.12.2023).

205. Wright E. P., Collins C. H., Yates M. D. *Mycobacterium xenopi* and *Mycobacterium kansasii* in a hospital water supply. *J Hosp Infect.* 1985. №6(2). P. 175–178. URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2862192/ (дата звернення 15.02.2024).

206. Wu M. L, Aziz D. B., Dartois V., Dick T. NTM drug discovery: status, gaps and the way forward. *Drug Discov Today*. 2018. №23(8). P. 1502–1519. URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2862192/ (дата звернення 16.02.2024).

207. Zomer D., van Ingen J., Hofland R., Dutch C. F. Epidemiology and management of nontuberculous mycobacterial disease in people with cystic fibrosis, the Netherlands. *J Cyst Fibros*. 2023. №22(2). P. 327–333. URL: https://doi.org/10.1016/j.jcf.2022.10.009 (дата звернення 01.05.2024).

208. Zweijpfenning S. M., Ingen J. V., Hoefsloot W. Geographic distribution of nontuberculous mycobacteria isolated from clinical specimens: A Systematic Review. *Semin Respir Crit Care Med*. 2018. №39(3). P. 336–342. URL: https://doi.org/10.1055/s-0038-1660864 (дата звернення 04.05.2024).

ДОДАТКИ

Затверджую
Ректор Поліського національного університету

Олег СКИДАН

«18» 10 2024 р.
М.П.

А К Т
про впровадження/використання результатів дисертаційної роботи у навчальний процес

Даним актом стверджується, що матеріали дисертаційної роботи «Виділення та ідентифікація нетуберкульозних мікобактерій із потенційних джерел інфікування людей» Панівської Ольги Вікторівни здобувача наукового ступеня доктора філософії 091 «Біологія» Волинського національного університету ім. Лесі Українки, які опубліковані у відкритих виданнях України, що входять до переліку фахових видань МОН України, прийняті до використання в навчальному процесі (для проведення лекційних і лабораторних занять із дисциплін «Епізоотологія та інфекційні хвороби тварин», «Ветеринарна мікробіологія та імунологія» зі студентами 5-6-го і 2-го курсів відповідно та наукових дослідженнях на кафедрі мікробіології, фармакології та ветеринарної епідеміології Поліського національного університету.

Матеріали розглянуті та схвалені на засіданні кафедри мікробіології, фармакології та ветеринарної епідеміології (протокол № 4 від 17.10.2024).

Завідувач кафедри мікробіології,
фармакології та ветеринарної епідеміології,
доктор ветеринарних наук, професор Олександр ГАЛАТЮК

Секретар, кандидат ветеринарних наук,
доцент Діана ФЕЩЕНКО

Проректор з науково-педагогічної роботи
та міжнародної співпраці
Волинського національного університету
імені Лесі Українки
Людмила Єлісєєва
«26» 11 2024 р.

АКТ

про впровадження/використання результатів
дисертаційної роботи у навчальний процес

Цим актом стверджується, що результати дисертаційної роботи на тему: «Виділення та ідентифікація нетуберкульозних мікобактерій із потенційних джерел інфікування людей», що виконана Панівською Ольгою Вікторівною і представлена на здобуття наукового ступеня доктора філософії із спеціальності 091 Біологія, впроваджені у навчальний процес при викладанні освітніх компонентів «Мікробіологія, вірусологія та імунологія» та «Діагностика інфекційних хвороб» та використовуються в наукових дослідженнях кафедри гістології та медичної біології медичного факультету Волинського національного університету імені Лесі Українки.

Розглянуто та схвалено на засіданні кафедри гістології та медичної біології, протокол №2 від «30» вересня 2024 р.

Декан медичного факультету,
кандидат біологічних наук, доцент Андрій ПОРУЧИНСЬКИЙ

Завідувач кафедри гістології
та медичної біології,
кандидат біологічних наук, доцент Ярослав СТЕПАНЮК

ЗАТВЕРДЖУЮ
Проректор з науково-педагогічної
роботи та цифрової трансформації
Національного університету
біоресурсів і природокористування
України
_____ Глазунова О.Г.
«___» _____ 2024 р.

АКТ
про впровадження/використання результатів
дисертаційної роботи у навчальний процес

Даним актом стверджується, що результати дисертаційної роботи на тему: **«Виділення та ідентифікація нетуберкульозних мікобактерій із потенційних джерел інфікування людей»,** що представлена на здобуття наукового ступеня доктора філософії зі спеціальності 091 «Біологія», виконана **Панівською Ольгою Вікторівною** впроваджені у навчальний процес за викладання дисциплін «Епізоотологія та інфекційні хвороби тварин», «Спеціальна епізоотологія», «Лабораторна діагностика інфекційних хвороб» і використовуються в наукових дослідженнях кафедри ветеринарної епідеміології та охорони здоров'я тварин факультету ветеринарної медицини, Національного університету біоресурсів і природокористування України, м. Київ.

Розглянуто та схвалено на засіданні кафедри ветеринарної епідеміології та охорони здоров'я тварин, протокол № 3 від «15» жовтня 2024 року.

Декан факультету ветеринарної
медицини, д-р біол. наук, професор,
академік НААН України — Микола ЦВІЛІХОВСЬКИЙ

Завідувач кафедри ветеринарної
епідеміології та охорони здоров'я тварин
канд. вет. наук., доцент — Володимир МЕЛЬНИК

Львівський національний університет
ветеринарної медицини та біотехнологій
імені С.З. Гжицького

ДОВІДКА

Видана про те, що матеріали дисертаційної роботи ***Панівської Ольги Вікторівни*** на тему: «**Виділення та ідентифікація нетуберкульозних мікобактерій із потенційних джерел інфікування людей**», подана на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 Біологія, використовуються у начальному процесі кафедри епізоотології при викладанні таких дисциплін: «Епізоотологія та інфекційні хвороби», «Державний ветеринарний контроль та нагляд».

Завідувач кафедрою епізоотології,
доктор ветеринарних наук,
професор Б. М. КУРТЯК

ВІРНО
НАЧАЛЬНИК ВІДДІЛУ КАДРІВ
ЛЬВІВСЬКОГО
НАЦІОНАЛЬНОГО УНІВЕРСИТЕТУ
ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ
ТА БІОТЕХНОЛОГІЙ
імені С.З.ГЖИЦЬКОГО
11.10.2024

Підпис завірено :
Начальник відділу кадрів
ЛНУВМБ імені С.З. Гжицького О.П. ГЕНТОШ

ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ ТА БІОТЕХНОЛОГІЙ імені С.З.ГЖИЦЬКОГО
ВІДДІЛ КАДРІВ
ЗКПО 00492990 * УКРАЇНА *