

ГЛАВА 3.3.6.

ТУБЕРКУЛЕЗ ПТИЦ

РЕЗЮМЕ

Туберкулез птиц или микобактериоз птиц – важная болезнь, которая поражает птиц-компаньонов, содержащихся в неволе экзотических птиц, диких и домашних птиц. Наиболее часто возбудителем болезни являются Mycobacterium avium subsp. avium (M.a. avium). Однако описаны более десяти других видов микобактерий, которые инфицируют птиц. Самой важной причиной болезни у домашней птицы является M. a. avium.

Клинические признаки болезни варьируют в зависимости от вовлеченных органов. Классическое проявление характеризуется хроническим и прогрессирующим изнурением и слабостью. Часто наблюдается диарея. У некоторых птиц могут наблюдаться респираторные признаки и редко случаи внезапной гибели, а также появление гранулематозных окулярных поражений.

Mycobacterium tuberculosis является менее частой причиной инфекции у птиц, часто в результате передачи от владельцев комнатных птиц.

Члены M. avium комплекса: M. avium hominissuis (серотипы 4-6, 8-11 и 21; у которых отсутствует сегмент гена IS901 и имеется сегмент IS1245) и M. intracellulare (серотипы 7, 12-20 и 22-28; у которых отсутствует и IS901, и IS1245) могут также может инфицировать обширный круг млекопитающих, таких как свиньи, КРС, олени, овцы, козы, лошади, кошки, собаки и экзотические виды животных. У людей все члены M. avium комплекса и M. genavense способны индуцировать прогрессирующую болезнь, которая плохо поддается лечению, главным образом у больных с ослабленным иммунитетом.

Все манипуляции, включающие работу с открытыми живыми культурами или с материалами от инфицированных птиц, должны производиться при надлежащем управлении биориском.

Диагностика туберкулеза у птиц основана на демонстрации вышеуказанных видов микобактерий у живых или мертвых птиц или обнаружении иммунного ответа, клеточного или гуморального, исследовании посредством культивирования или обнаружении сегментов IS6110, IS901, и IS1245 посредством полимеразной цепной реакции (ПЦР) в экскретах или секретах живых птиц.

Идентификация возбудителя: *Если в стаде наблюдаются клинические признаки туберкулеза или типичные для туберкулеза поражения наблюдаются у птиц при аутопсии, для постановки быстрого положительного диагноза достаточно демонстрации кислотоустойчивых бацилл в мазках или срезах, изготовленных из пораженных органов. Если кислотоустойчивые бациллы не выявлены, но у птиц наблюдаются типичные туберкулезные признаки или поражения, необходимо провести культивирование организма. Также можно провести ПЦР прямо на образцах тканей. Следует провести идентификацию любого выделенного кислотоустойчивого организма посредством тестов на основании исследования нуклеиновой кислоты или*

хроматографических (например, высокоэффективной жидкостной хроматографии [ВЭЖХ]) критериев; можно произвести серотипирование изолятов членов *M. avium* комплекса или ПЦР на наличие IS6110, IS901, и IS1245.

Туберкулиновая проба и серологические тесты: Эти тесты обычно используются для определения превалентности болезни в стаде или для обнаружения инфицированных птиц. Если тесты используются для обнаружения наличия туберкулеза птиц в стаде, то результаты данных тестов должны быть подтверждены результатами аутопсии всех птиц, которые демонстрируют положительные реакции.

Для домашней птицы предпочтительной является туберкулиновая проба на сережках. Для других видов птиц данный тест менее полезен. Лучшим тестом, особенно для водоплавающей птицы, является реакция агглютинации окрашенных антигенов с использованием цельной крови. Это наиболее достоверный тест, и он имеет преимущества в том, что результат получают в течение нескольких минут, пока птицу все еще удерживают.

Требования к вакцинам и диагностическим биологическим препаратам: Вакцины для птиц отсутствуют. Стандартным препаратом, который используется в туберкулиновой пробе у домашней птицы, является птичий туберкулин, очищенный белковый дериват (PPD). Птичий PPD также используется в качестве компонента в сравнительной внутрикожной туберкулиновой пробе у КРС (см. Главу 2.4.6 Туберкулез КРС).

А. ВВЕДЕНИЕ

В этиологию туберкулеза птиц и микобактериоза птиц могут быть вовлечены несколько видов микобактерий. Туберкулез птиц наиболее часто индуцируется заражением *Mycobacterium avium subsp. avium* (серотипы 1, 2 и 3, содержащие специфический генный сегмент IS901 и неспецифический сегмент IS1245) и реже *M. genavense* (Guerrero *et al.*, 1995; Pavlik *et al.*, 2000; Tell *et al.*, 2001). Микобактериоз птиц вызывают другие два члена *M. avium* комплекса, *M. avium subsp. hominissuis* (серотипы 4-6, 8-11 и 21; у которых отсутствует сегмент гена IS901 и имеется сегмент IS1245) и *M. intracellulare* (серотипы 7, 12-20 и 22-28; у которых отсутствует и IS901, и IS1245), *M. intracellulare*, *M. scrofulaceum*, *M. fortuitum* и другие потенциально патогенные виды микобактерий. В некоторых обстоятельствах может быть инфицирован обширный круг видов млекопитающих, таких как свиньи, КРС, олени, овцы, козы, лошади, кошки, собаки и экзотические животные (Dvorska *et al.*, 2004; Mijs *et al.*, 2002; Shitaye *et al.*, 2009; Tell *et al.*, 2001; Thorel *et al.*, 1997; 2001). *Mycobacterium tuberculosis* и *M. bovis*, являются менее частыми возбудителями туберкулеза у птиц (Tell *et al.*, 2001).

Вид *Mycobacterium avium* включает четыре подвида: *M. avium*, подвид *avium*, *M. avium* подвид *hominissuis*, *M. avium* подвид *sylvaticum*, и *M. avium*, подвид *paratuberculosis* (Mijs *et al.*, 2002; Thorel *et al.*, 1990). Последний является возбудителем болезни Ионе или паратуберкулеза у жвачных и других видов млекопитающих (см. Главу 2.1.15 Паратуберкулез [Болезнь Ионе]). *M. avium* подвид *sylvaticum*, которая подобно *M. avium*, подвид *paratuberculosis* растет *in vitro* только на средах с микобактерином, может вызывать туберкулез у лесного голубя (Thorel *et al.*, 1990).

Все изоляты *M. a. avium*, выделенные у птиц и млекопитающих, включая людей, имеют в своем геноме повторяющуюся последовательность IS901 и продуцируют характерный трехполосный паттерн в IS1245 полиморфизме длины рестрикционных фрагментов (RFLP), как описано и стандартизировано ранее (Dvorska *et al.*, 2004, Ritacco *et al.*, 1998).

Данная повторяющаяся последовательность также присутствует у *M. avium sylvaticum*, и RFLP анализ может способствовать идентификации. IS901 была обнаружена только у штаммов *M. avium* с серотипами 1, 2 и 3 (Pavlik *et al.*, 2000; Ritaco *et al.*, 1998), которые явно более патогенны для птиц, чем другие серотипы (Tell *et al.*, 2001). Исходя из генетических и фенотипических различий, недавно было предложено дифференцировать *M. a. avium* на два подвида на основании целевого организма: *M. avium hominissuis* для изолятов, выделенных у людей и свиней, и *M. a. avium* для изолятов птичьего типа (Mijs *et al.*, 2002). *Mycobacterium a. hominissuis* имеет полимофный мультиполосный IS1245 RFLP паттерн и способна расти при температуре от 24 до 45°C (Mijs *et al.*, 2002; Van Soolinger *et al.*, 1998)). Следует отметить, что типичные черты птичьих изолятов, трехполосный паттерн в IS1245 RFLP и присутствие IS901, также были выявлены у изолятов *M. a. avium*, выделенных у оленей и КРС (O'Grady *et al.*, 2000).

Туберкулез птиц наиболее широко распространен среди домашних кур и диких птиц, выращиваемых в неволе. Индейки довольно восприимчивы, а утки и гуси и другие водоплавающие птицы сравнительно резистентны. Практика содержания, при которой птица имеет возможность свободно гулять по ферме (свободный выгул), или содержание племенной птицы в течение нескольких лет способствует распространению возбудителя туберкулеза птиц среди птицы. Инфицированные птицы и контаминированная окружающая среда (вода и почва) являются основными источниками инфекции. Вышеуказанные виды микобактерий, вызывающие туберкулез птиц, могут выживать в окружающей среде в течение нескольких месяцев (Dvorska *et al.*, 2007; Kazda *et al.*, 2009; Shitaye *et al.*, 2008; Tell *et al.*, 2001).

В большинстве случаев клинические признаки у инфицированных птиц отсутствуют, в конечном итоге они могут стать вялыми и изнуренными. У многих пораженных птиц наблюдается диарея, может наблюдаться регресс гребня и сережек, которые становятся бледными. Обычно поражаются птицы, особенно домашние куры, в возрасте старше одного года. У некоторых могут наблюдаться респираторные признаки и случаи внезапной смерти, одышка встречается реже, и гранулематозные окулярные поражения (Rocknell *et al.*, 1996), были также зарегистрированы кожные поражения. При интенсивных методах содержания могут наблюдаться случаи внезапной гибели, часто ассоциированные с серьезными поражениями в печени; такие поражения хорошо видны при патологоанатомическом исследовании (Tell *et al.*, 2001).

Первичные поражения туберкулеза у птиц почти всегда наблюдаются в кишечном тракте. Такие поражения бывают в виде глубоких язв заполненных казеозным материалом, содержащим множество микобактериальных клеток, их содержимое выливается в полость и появляется в фекалиях. Перед вскрытием кишечного тракта изъязвленные участки выглядят как опухолево-подобные массы, прикрепленные к стенке кишечника, истинная природа данной массы становится понятной, когда кишечник вскрыт. Типичные казеозные поражения почти всегда выявляют в печени и селезенке, эти органы обычно сильно увеличены в размере вследствие образования новой туберкулезной ткани. Легкие и другие ткани обычно не имеют поражений, даже у птиц с запущенными случаями болезни (Tell *et al.*, 2001; Thorel *et al.*, 1997).

Среди домашних животных (млекопитающие) наиболее восприимчивыми к туберкулезу птиц являются домашние свиньи (*Sus scrofa f. domesticus*). У таких животных обычно не наблюдается никаких клинических проявлений. Подозрения возникают, когда туберкулезные поражения выявляют в головных и мезентеральных лимфоузлах при проведении ветсанэкспертизы после убоя. Выявление туберкулезных поражений, которые затрагивают другие органы (печень, селезенку, легкие, т.д.), происходит редко, и обычно случается на запущенной стадии болезни. *Mycobacterium a. avium* составляет до 35% *Mycobacteria*, выделенных из таких туберкулезных поражений (Dvorska *et al.*, 1999; Pavlik

et al., 2003, 2005; Shitaye *et al.*, 2006). В отличие от других видов животных, упомянутых ранее, КРС имеет высокую резистентность к возбудителю туберкулеза птиц, и туберкулезные поражения в головных лимфоузлах и иногда в лимфоузлах печени обнаруживают только во время проведения ветсанэкспертизы. *Mycobacterium a. avium* успешно поддается выделению из туберкулезных поражений в мезентеральных лимфоузлах молодых телят; процент выделения у КРС в возрасте моложе 2 лет составлял 34,4% , а у КРС в возрасте старше 2 лет – 13,0% (Dvorska *et al.*, 2004).

Необходимо иметь в виду, что все члены *M. avium* комплекса и *M. genavense* способны вызвать прогрессирующую болезнь у людей, которая трудно поддается лечению, особенно у людей с ослабленным иммунитетом (Pavlik *et al.*, 2000; Tell *et al.*, 2001). Члены комплекса *Mycobacterium a. avium* отнесены к Группе риска 2 по инфицированию человека и манипуляции с ними следует производить при соблюдении соответствующих мер, как описано в Главе 1.1.4. *Биобезопасность и биозащита: Стандарт для управления биологическим риском в ветеринарной лаборатории и вивариях*. Меры биозащиты надлежит определять на основании анализа риска, как описано в Главе 1.1.4.

В. ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ

Таблица 1. Имеющиеся методы тестирования для диагностики туберкулеза птиц и их цель

Метод	Цель					
	Свобода популяции и от инфекции	Свобода отдельного животного от инфекции перед перемещением	Способствует осуществлению политики искоренения	Подтверждение клинических случаев	Превалентность инфекции - надзор	Иммунный статус отдельного животного или популяций после вакцинации
Идентификация возбудителя¹						
Окрашивание по методу Циля-Нильсена	-	-	-	++	-	n/a
Культивирование	-	-	-	++	-	n/a
Туберкулиновая проба	++	+++	+	-	++	n/a
Реакция гемагглютинации (окрашенный антиген)	+	+++	+	-	++	n/a
ПЦР	++	+	-	+++	-	n/a

Пояснения: +++ = рекомендуемый метод; ++ = подходящий метод; + = может быть использован в некоторых ситуациях, но стоимость, достоверность или другие факторы серьезно ограничивают его применение; - = не соответствует указанной цели; n/a- не применим.

Хотя не все из тестов, указанных как категория +++ или ++, прошли официальную валидацию, их рутинная природа и тот факт, что они широко применяются без получения сомнительных результатов делает их приемлемыми.

ПЦР – полимеразная цепная реакция

1. Идентификация возбудителя

¹ Рекомендуется использовать комбинацию методов идентификации при исследовании одного и того же клинического образца.

При наличии характерной истории туберкулеза птиц в стаде и выявлении типичных поражений у птиц в ходе их патологоанатомического обследования для постановки диагноза обычно достаточно обнаружения кислотоустойчивых бактерий в мазках или срезах пораженных органов, окрашенных по методу Циля-Нильсена. Иногда может случиться так, что в результате больших инфицирующих доз возникает острая системная болезнь, при которой пораженные органы, нагляднее всего печень, внешне выглядят как сафьян с мелкими сероватыми или желтоватыми крапинками. В таких случаях кислотоустойчивых бактерий можно и не обнаружить, но в ходе тщательной инспекции выявляют параллельные тяжи из коричневатых преломляющих свет бацилл. При увеличении продолжительности стадии, на которой используется горячий раствор карбол-фуксина, при окрашивании методом Циля-Нильсена, до 10 минут обычно выявляют, что данные тяжи на самом деле являются кислотоустойчивыми бациллами с необычно высокой устойчивостью к проникновению красителя. В последнее время для специфической идентификации возбудителя используются ДНК-зонды и полимеразная цепная реакция (ПЦР). Традиционно, *M. a. avium* отстоит отдельно от широко распространенных нехромагенных медленно растущих организмов, ввиду своей способности расти при 42°C (*M. a. avium*). *Mycobacterium genavense* является крайне требовательной, и имеются особые требования по своему росту и идентификации (Shitaye *et al.*, 2010).

1.1. Культивирование

При наличии характерной истории стада и вызывающих предположение поражений во время аутопсии, но когда кислотоустойчивые бациллы в мазках или срезах не обнаружены, необходимо предпринять попытку выделения возбудителя из материала, полученного при аутопсии. Обычно самым лучшим органом для этих целей является печень или селезенка, но если тушка разложилась, наиболее подходящим может оказаться костный мозг, поскольку он может быть менее контаминированным. Как и при культивировании *M. bovis*, нестерильные образцы перед культивированием необходимо обработать детергентом, щелочью или кислотой, чтобы удалить быстро растущие микроорганизмы (см. Главу 2.4.6. Туберкулез КРС). *Mycobacterium a. avium* лучше всего растет на таких средах, как среда Левенштайна-Йенсена, среда Herrold, Middlebrook 7H10 и 7H11b Colestos с добавлением 1% пирувата натрия. Возможно, иногда необходимо включать микобактин, таким образом, каким он используется для выделения *M. a. paratuberculosis* и *M. a. silvaticum*. Рост может быть лимитирован кромкой водоконденсата. Культуры следует инкубировать в течение не менее 8 недель. Обычно *M. a. avium* продуцирует «гладкие» колонии в течение 2-4 недель; шероховатые колонии тоже встречаются. При использовании ВАСТЕС системы культивирования в жидкой среде или флуоресцентной MGIT 960 системы культивирования период инкубации можно сократить. *Mycobacterium a. avium* можно также выявлять в сильно инфицированной ткани посредством традиционной ПЦР, что также позволяет ускорить идентификацию патогена (Moravkova *et al.*, 2008). В настоящее время самым лучшим методом можно считать прямое обнаружение и количественный анализ *M. a. avium* с помощью IS901 количественной ПЦР в реальном времени (несмотря на довольно высокую стоимость одного теста) (Keavska *et al.*, 2010; Slana *et al.*, 2010).

Для *M. genavense* оптимальной твердой средой является среда Middlebrook 7H11, окисленная до pH 6.0, с добавлением крови и активированного угля (Realini *et al.*, 1999). Инкубационный период при 37°C необходимо продлить, как минимум, на 6 месяцев (Shitaye *et al.*, 2010).

Типирование микобактерий по видовому и подвидовому уровню необходимо проводить в специализированной лаборатории. Традиционные биохимические тесты для видовой идентификации являются очень продолжительными и не позволяют дифференцировать *M.*

avium и *M. intracellulare*. Поэтому, разнородная группа микобактерий, которая включает оба вида, обычно классифицируется под названием комплекс *M. avium* (MAC). Сероагглютинация, в основе которой лежит специфичность поверхностных гликопептидолипидов по остатку сахара, позволяет классифицировать организмы комплекса *M. avium* (MAC) на 28 сероваров (Wolinsky & Schaefer, 1973). В настоящее время имеются более сложные методы типирования, направленные на мишени, специфичные для стенки клетки, такие как иммуноферментные анализы с моноклональными антителами к основным сероварам и высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ). Серовары 1-6, 8-11 и 21 в настоящее время относят к *M. a. avium* и *M. a. hominissuis*, а серовары 7, 12-20 и 25 – к *M. intracellulare*. Однако по другим сероварам консенсус не достигнут, а некоторые изоляты типировать невозможно (Inderlied *et al.*, 1993). Туберкулез у птиц обычно вызывает *M. a. avium* типов 1, 2 и 3. Если изолят не относится ни к одному из этих трех серотипов, необходимо проводить дополнительные тесты по идентификации (IS901 ПЦР). Однако следует учитывать, что внешние туберкулезные поражения у птиц клеточного содержания, особенно у попугаевых, могут быть вызваны *M. tuberculosis* и для точной идентификации следует использовать IS6110 ПЦР.

1.2. Методы распознавания нуклеиновых кислот

В настоящее время имеются специфичные и надежные генетические тесты для идентификации (Saito *et al.*, 1990). Коммерческие зонды для гибридизации нуклеиновых кислот стали «золотым стандартом» для дифференциации между культурами *M. avium* и *M. intracellulare*. С помощью этих тестов можно также дифференцировать *M. genavense*. Был также создан дополнительный зонд, который охватывает весь комплекс *M. avium* (MAC), поскольку, как было описано, истинные штаммы комплекса *M. avium* (MAC) не вступают в реакцию со специфичными для *M. avium* и *M. intracellulare* зондами (Soini *et al.*, 1996). Тем не менее, сообщалось об ошибках в идентификации из-за перекрестной реактивности, которые могут иметь серьезные последствия (van Ingen *et al.*, 2009). Имеются сообщения о различных собственных молекулярных методах для идентификации микобактериальных культур, включая MAC. Метод мультиплексной ПЦР для дифференциации *M. avium* от *M. intracellulare* и *M. tuberculosis* имеет ряд преимуществ (Cousins *et al.*, 1996). Можно также использовать секвенирование 16S рРНК (Kirschner *et al.*, 1993). Были разработаны независимые от культивирования собственные молекулярные тесты для обнаружения и идентификации видов, принадлежащих к *M. avium* комплексу прямо из образцов (Keavaska *et al.*, 2010).

Mycobacterium a. avium, возбудитель туберкулеза птиц (Thorel *et al.*, 1990), ранее обозначаемую как только *M. avium* вид, относят к серотипам 1-3 комплекса *M. avium* из 28 серотипов (Wolinsky & Schaefer, 1973). Как было выявлено в ходе молекулярных биологических исследований, обнаруженную инсерционную последовательность IS901 (Kunze *et al.*, 1992) имеют не только изоляты вышеуказанных серотипов, но также изоляты, вирулентные для птиц, которые не могут быть типированы из-за имеющейся агглютинации (Pavlik *et al.*, 2000). В эпизоотологических исследованиях стандартизированный IS 901 RFLP метод заменил серотипирование (Dvorska *et al.*, 2003).

2. Иммунологические методы

Тесты, используемые для исследования экспортируемых продуктов, зависят от требований к импорту отдельных стран. В основном для тестирования домашней птицы, предназначенной на экспорт, чаще всего используется туберкулиновая проба и реакция гемагглютинации (с окрашенным антигеном).

2.1. Туберкулиновая проба

Туберкулиновая проба является наиболее широко используемым тестом для домашней птицы и единственным тестом, для которого существует международный стандарт для реагента. Туберкулин представляет собой стандартный птичий очищенный белковый дериват (PPD). Птиц тестируют посредством внутрикожной прививки в сережку 0,05 мл или 1 мл туберкулина (содержащего приблизительно 2000 международных единиц [МЕ]) с помощью очень тонкой иглы, приблизительно 10 мм x 0,5 мм. Считывание результатов пробы проводят через 48 часов, положительной реакцией является любое распухание в месте введения, начиная с маленького твердого узелка приблизительно 5 мм в диаметре до больших опухолей, охватывающих другую сережку и ниже шею. Практика показывает, что можно успешно провести прививку даже в очень маленькие сережки у очень молодых птиц. У очень молодых птиц, однако, можно использовать гребень, хотя результаты такой пробы не являются такими же достоверными. Тестирование с помощью туберкулиновой пробы, введенной в сережки индеек, дает намного менее достоверные результаты, чем при таком же тестировании домашних кур. Было рекомендовано проводить прививку в перепонку крыла, как более эффективный способ, но это по-прежнему не дает таких же хороших результатов как у домашних кур. Тестировать посредством прививки в перепонку крыла можно также и других птиц, но результаты такого тестирования в целом неудовлетворительны. У мускусных уток и некоторых видов фазанов можно использовать голые участки орнаментальной кожи, но достоверность такого тестирования сомнительна, а интерпретация результатов затруднена. Также описано тестирование посредством прививки в перепонку лапы водоплавающей птицы, данный тест не является очень чувствительным, и часто осложнен инфекциями в месте прививки.

У фазанов туберкулиновая проба может быть проведена любым из двух способов. При первом способе 0,05 мл или 0,1 мл туберкулина инъецируют в кожу нижнего века. Положительный результат проявляется в виде заметного распухания в месте инъекции через 48 часов. Альтернативно, 0,25 мл туберкулина инъецируют в грудные мышцы, наблюдение за птицами осуществляют в течение 6-10 часов. У инфицированных птиц будут наблюдаться признаки угнетения, они будут держаться в стороне от стада, могут наблюдаться случаи внезапной гибели. У неинфицированных птиц никаких клинических признаков не индуцируется.

2.2. Реакция с использованием окрашенного антигена

2.2.1. Приготовление антигена

Для экспресс-реакции агглютинации на плашке с использованием цельной крови применяется антиген, окрашенный 1% малахитовым зеленым (Rozanska, 1975). Штамм, используемый для получения окрашенного антигена, должен быть гладким, не демонстрировать аутоагглютинации в суспензии солевого раствора. Он должен соответствовать характеристикам видов *M. a. avium*.

Рекомендуется вместо специфического серотипа, вероятность обнаружения которого наиболее высокая, использовать штамм, который будет выявлять заражение любым серотипом (в Европе – серотип 2 для домашних кур, серотип 1 для водоплавающей птицы и птиц и свиней в США). Возможно предпочтительнее использовать штамм, который является высоко специфичным для того серотипа, который он выявляет. Специфичность штаммов можно определить только посредством тестирования их как антигенов, хотя, в целом, антиген серотипа 2 будет всегда обнаруживать заражение серотипом 3 и наоборот. Штаммы серотипа 1, по-видимому, чаще выявляют широкий спектр инфекции и также часто выявляют инфекции микобактерин-зависимыми микобактериями или *M. a. silvaticum*. Нет причин не использовать культуру,

содержащую более одного штамма *M. a. avium*, при условии что она имеет желаемые характеристики в плане чувствительности и специфичности. При использовании чистых культур обеспечить сообразность результатов между партиями будет легче.

Для лучшего роста организм следует выращивать в подходящей жидкой среде, такой как Middlebrook 7H9, содержащей 1% пируват натрия. Следует обеспечить хороший рост в течение приблизительно 7 дней. Данная жидкая культура используется как расщепка для получения больших количеств антигена.

Антиген для тестирования посредством реакции агглютинации лучше всего выращивать на твердой среде, такой как Левенштайна-Йенсена или 7H11, содержащей 1% пируват натрия вместо глицерина, с использованием матрасов Ру или больших флаконов. Использование твердых сред максимально увеличивает шанс выявления любой контаминации, антигены, выращенные в некоторых жидких средах, не подвергаются агглютинации специфическими антителами. Жидкую посевную культуру следует развести (исходя из практического опыта) до получения дискретных колоний на твердой среде. При этом обычно получают самый хороший урожай, и опять же повышается шанс выявления контаминации. Около 10 мл инокулята обычно достаточно для распределения по всей поверхности и для обеспечения достаточной влажности, чтобы влажность воздуха во флаконе сохранялась на уровне близком к 100%.

Флаконы инкубируют при 37°C, для большинства штаммов хороший рост следует получить в течение 14-21 дня. Сбор урожая антигена производят посредством добавления стерильных стеклянных бус и двойного объема стерильного физиологического солевого раствора (содержащего 0,3% формалин), какой использовался для инокуляции флакона. Затем флакон аккуратно встряхивают, чтобы смыть весь выращенный материал, и данный смыв собирают в стерильный флакон и повторно инкубируют при 37°C в течение 7 дней. Убитые бактерии затем отмывают дважды в стерильном физиологическом растворе с 0,2% формалином посредством центрифугирования и ресуспендирования. Данная последовательность операций более безопасна, чем оригинальный метод, в ходе которого отмывание проводится до инкубации, что убивает организмы. В конце организмы снова центрифугируют и ресуспендируют в стерильном физиологическом солевом растворе, содержащем 0,2% формалин и 0,4% цитрат натрия, до концентрации в примерно 10^{10} бактерий на мл. Это соответствует десятикратной концентрации, что эквивалентно пробирке №4 по шкале Мак Фарланда.

Культуры для получения антигена следует в течение первых 5 дней инкубации ежедневно инспектировать на наличие контаминации. Суспензию, состоящую из смывов культуры, также повторно исследуют микроскопически (на наличие вероятных контаминантов, таких как дрожжи) и повторно проверяют путем культивирования, чтобы убедиться, что формалин убил все микобактерии.

2.2.2. Валидация антигена

Следует проводить проверку культур на наличие других организмов, кроме микобактерий, посредством окрашивания по Граму.

Одну или несколько партий агглютинирующего антигена необходимо протестировать на эффективность на птицах, инфицированных туберкулезом естественным и искусственным путем, в сравнении со стандартным препаратом с известной степенью эффективности. Степень эффективности по сравнению с таковой стандартного препарата не должна значительно отличаться от той эффективности, которая указана на

этикетке. Каждый флакон с антигеном должен быть протестирован с помощью нормальной сыворотки крови кур (для выявления аутоагглютинации) и с помощью *M. avium*-положительной сыворотки крови кур с низким и высоким содержанием антител. Это следует производить, по возможности, параллельно с исследованием предыдущей партии окрашенного антигена. Содержимое флаконов, которые дают удовлетворительные реакции агглютинации с антисыворотками, теперь можно объединить в пул и произвести окрашивание антигена. Это производится посредством добавления 3 мл 1% раствора малахитового зеленого на 100 мл суспензии. По возможности, окрашенный антиген следует проверить с использованием цельной крови, таким же образом, каким был протестирован неокрашенный антиген с применением сыворотки крови. Агглютинирующий антиген следует хранить в течение, как минимум, 6 месяцев в холодильнике при температуре 4°C, и в течение более длительного времени - в замороженном состоянии при - 20°C или ниже. Если партию не использовали в течение длительного времени, следует провести её повторное тестирование, особенно на аутоагглютинацию.

Необходим только один тест на безопасность - тестирование посредством культивирования неотмытого антигена после 7 дней инкубации для гарантирования того, что все бактерии мертвы.

2.2.3. Процедура тестирования

Применяли реакцию агглютинации окрашенных антигенов с получением хороших результатов, особенно у домашней и декоративной водоплавающей птицы. Каплю (0,05 – 1,0 мл) антигена смешивают с таким же объемом свежей цельной крови, полученной посредством венепункции, на белой фарфоровой или эмалированной плитке. Смесь покачивают в течение 2 минут и исследуют на наличие агглютинации. Агглютинация может быть крупнозернистой, и, в данном случае, она хорошо видна, или довольно мелкозернистой, в этом случае она наиболее ясно видна в виде аккумуляции окрашенного малахитовым зеленым антигена по краю капли, причем центр остается цвета нормальной красной крови. Данный тест особенно полезен для скрининговых исследований больших стад в целях немедленной выбраковки, и, поэтому, имеет преимущества по сравнению с туберкулиновой пробой в плане контроля болезни, даже у домашних кур. Также утверждалось, что у домашних кур он дает более достоверные результаты, чем туберкулиновая проба.

Примечание по ограничению использования

Ни туберкулиновая проба с птичьим туберкулином, ни реакция агглютинации с окрашенным антигеном, скорее всего, не будут полезными при заражении содержащихся в неволе птиц *M. tuberculosis*.

С. ТРЕБОВАНИЯ К ВАКЦИНАМ И ДИАГНОСТИЧЕСКИМ БИОПРЕПАРАТАМ

1. Общая информация

Вакцины отсутствуют.

Птичий туберкулин – препарат очищенных белковых дериватов (PPD), изготовленный из подвергнутых термической обработке продуктов роста *M. a. avium*. Он используется для внутрикожной инъекции для выявления гиперчувствительности замедленного типа, в качестве средства для выявления птиц, инфицированных или сенсibilизированных этими же видами туберкулезных бактерий. Он также используется в качестве вспомогательного

средства для дифференциальной диагностики в сравнительной внутрикожной туберкулиновой пробе для выявления туберкулеза КРС (см Главу 2.4.6.).

Для инъеклируемых диагностических биопрепаратов, таких как туберкулин, необходимо следовать общим принципам, изложенным в Главе 1.1.8. *Принципы производства ветеринарных вакцин*. Стандарты, изложенные в данной Главе и в Главе 1.1.8., намерено являются общими по своей природе и могут быть дополнены национальными и региональными регламентами.

2. Схема производства и минимальные требования для производства туберкулина

2.1. Характеристики посевного материала

2.1.1. Биологические характеристики исходного посевного материала

Штаммы *M. a. avium*, используемые для получения посевных культур, должны быть идентифицированы по виду с помощью соответствующих тестов. Штаммы, рекомендуемые Европейским Союзом (ЕС), следующие: D4ER и TB56. Можно обратиться к материалам Всемирной организации здравоохранения (1987).

2.1.2. Критерии качества (стерильность, чистота, свобода от чужеродных возбудителей)

Следует продемонстрировать, что посевные культуры свободны от контаминирующих организмов и способны продуцировать туберкулин, имеющий достаточную активность. Необходимые тесты описаны ниже.

2.2. Метод культивирования

2.2.1. Процедура

Посевной материал хранится в виде запаса лиофилизированных культур. Если культуры были выращены на твердых средах, необходимо будет адаптировать организм к росту в качестве флотирующей культуры. Легче всего это сделать, поместив кусочек картофеля в сосуды с жидкой средой (например, со средой Ватсона-Рейда). После адаптации к жидкой среде поддержание культуры можно осуществлять посредством пассирования с интервалом 2-4 недели (Angus, 1978; Haagsma & Angus, 1995).

Организм культивируют в модифицированной синтетической среде Dorset-Henley, затем убивают посредством нагревания в текучем паре и фильтруют для удаления клеток. Белок в данном фильтрате осаждают химическим способом (используется сульфат аммония или трихлоруксусная кислота (ТСА)), отмывают и ресуспендируют. Можно добавлять антимицробный консервант, который не дает ложноположительных реакций, такой как фенол (не более 0,5% [вес/объем]). Не следует использовать производные ртути. В качестве стабилизатора можно добавлять глицерин (не более 10% [вес/объем]) или глюкозу (не более 2,2% [вес/объем]). Продукт в асептических условиях распределяют по стерильным контейнерам из нейтрального стекла, которые потом герметично закрывают во избежание контаминации. Продукт можно лиофилизировать.

2.2.2. Требования к ингредиентам

Необходимо продемонстрировать, что производственный субстрат культуры способен продуцировать продукт, который соответствует стандартам Европейской фармакопеи (2000) или другим международным стандартам. Он не должен содержать ингредиенты, в отношении которых известно, что они вызывают токсические и аллергические реакции.

2.2.3. Контроль в процессе производства

Производственные сосуды, инокулированные подходящими посевными культурами, инкубируют в течение надлежащего периода времени. Все сосуды, в которых наблюдается контаминация или макроскопический ненормальный рост, следует отбраковывать после автоклавирования. В ходе инкубирования поверхность роста многих культур становится влажной и может погружаться в среду или опускаться на дно сосуда. В PPD туберкулинах уровень рН растворенного преципитата (так называемый концентрированный туберкулин) должен составлять 6,6 – 6,7. Уровень белка PPD концентрата определяется методом Кьельдаля. Обычно сравнивают суммарный азот и азот, преципитируемый трихлоруксусной кислотой.

2.2.4. Тесты на партии конечного продукта

i) Стерильность

Тестирование на стерильность в целом проводится в соответствии с Европейской фармакопеей (2000) или другими руководствами (см. также Главу 1.1.9 *Тесты биологических материалов на стерильность и свободу от контаминации*).

ii) Идентичность

Можно произвести тестирование одной или нескольких партий туберкулина на специфичность вместе со стандартным препаратом бычьего туберкулина посредством сравнения реакций, продуцируемых в морских свинках, сенсibilизированных *M. bovis*, используя процедуру сходную с таковой, описанной в Разделе С. 2.2.24.iv. Необходимо продемонстрировать, что у морских свинок, сенсibilизированных *M. bovis*, эффективность препарата птичьего туберкулина не более чем на 10% выше, чем эффективность стандартного препарата бычьего туберкулина, использованного в тесте на эффективность.

iii) Безопасность

Можно провести исследование PPD туберкулина на свободу от живых микобактерий с помощью метода культивирования, описанного ранее. Данный метод культивирования, в котором не требуется использования животных, применяется во многих лабораториях, и его рекомендуют использовать вместо проведения таких исследований на животных. Ниже приведен ранее описанный метод для оценки степени безопасности PPD с использованием экспериментальных животных. Двум морским свинкам, каждая весом не менее 250 г, не подвергавшимся ранее воздействию какого-либо материала, который будет мешать проведению теста, вводят подкожно 0,5 мл тестируемого туберкулина. В течение 7 дней у них не должно наблюдаться каких-либо аномальных эффектов.

Тестирование туберкулина на наличие живых микобактерий можно проводить либо на туберкулине непосредственно перед его фасовкой в контейнеры для готового продукта, либо на образцах, отобранных из самих контейнеров для готового продукта. Необходимо отбирать образец, объемом не менее 10 мл, и его следует

вводить внутривенно или подкожно, как минимум, двум морским свинкам, разделив тестируемый объем поровну между этими морскими свинками. Желательно отбирать образец большего размера, 50 мл, и концентрировать любые остаточные микобактерии посредством центрифугирования или мембранной фильтрации. За морскими свинками наблюдают в течение не менее 42 дней, и проводят их макроскопическое исследование после гибели. Любые выявленные поражения исследуют микроскопически или посредством культивирования. Необходимо проводить инспектирование каждого наполненного контейнера перед его этикетированием, и любой контейнер с наблюдающимися ненормальностями необходимо выбраковывать.

Тестирование на отсутствие токсических или раздражающих свойств необходимо производить в соответствии со спецификациями Европейской фармакопеи (2000).

Для тестирования на наличие сенсибилизирующего эффекта каждой из трех морских свинок, ранее не подвергавшихся воздействию любого материала, который может мешать проведению теста, инъецируют внутривенно в каждый из трех раз эквивалент 500 МЕ тестируемого препарата в объеме 0,1 мл. Каждую морскую свинку вместе с тремя контрольными морскими свинками, которые не были ранее инъецированы, инъецируют внутривенно через 15-21 день после третьей инъекции такой же дозой такого же туберкулина. Реакции в двух группах морских свинок при их измерении через 24-28 часов не должны значительно отличаться по своей степени.

iv) Эффективность партии

Эффективность птичьего туберкулина определяется на морских свинках, сенсибилизированных *M. a. avium*, посредством сравнения со стандартным препаратом, калиброванным в МЕ.

Используют не менее девяти белых морских свинок, каждая весом 400-600 г. Сенсибилизировать морских свинок посредством введения каждой из них методом глубокой внутримышечной инъекции подходящей дозы инактивированной или живой *M. a. avium*. Тестирование проводится в промежуток между 4-ой и 6-ой неделями после введения следующим образом. Побрить бока морских свинок таким образом, чтобы было место для трех-четырех инъекций на каждой стороне. Приготовить не менее трех разведений тестируемого туберкулина и, как минимум, три разведения стандартного препарата в изотоническом буферном растворе, содержащем 0,0005% вес/объем полисорбата 80 (Tween 80). Выбрать разведения таким образом, чтобы продуцируемые реакции были диаметром не менее 8 мм и не более 25 мм. Распределить разведения по местам введения произвольно в форме латинского квадрата. Разведения соответствуют 0,001, 0,002 и 0,00004 мг белка в конечной дозе 0,2 мл, инъецируемой внутривенно.

Спустя 24 часа проводят измерение диаметров реакций и подсчет результатов с помощью стандартных статистических методов, принимая во внимание, что диаметры должны быть прямо пропорциональны логарифмам концентраций туберкулинов. Вычисленная эффективность должна составлять не менее 75% и не более 133% от эффективности, указанной на этикетке. Данный тест является достоверным только в том случае, если фидуциальные пределы ошибки ($p=0,95$) составляют не менее 50% и не более 200% от вычисленной степени эффективности. Если серия не прошла тест на эффективность, тест можно повторить один или несколько раз, при условии что окончательная оценка эффективности и

фидуциальных пределов производится исходя из объединенных результатов всех тестов.

Рекомендуется, чтобы птичий туберкулин содержал эквивалент из, как минимум, 25 000 МЕ/мл или приблизительно 0,5 мг белка на мл, чтобы доза для практического применения составляла 2500 МЕ/0,1 мл.

3. Требования для получения разрешения/регистрации /лицензирования

3.1. Процесс производства

Процесс производства должен удовлетворять требованиям Европейской фармакопеи (2000) или другим международным стандартам.

3.2. Требования к безопасности

3.2.1. Безопасность целевых и нецелевых животных

В отношении антимикробных консервантов или других веществ, которые можно добавлять в туберкулин, необходимо продемонстрировать, что они не оказывают негативного влияния на безопасность и эффективность продукта. Максимальная разрешенная концентрация для фенола составляет 0,5% (вес/объем), а для глицерина – 10% (в объемном отношении). Уровень pH должен быть в пределах 6,5 и 7,5.

3.2.2. Меры предосторожности (опасности)

Опыт использования у людей и животных показал, что надлежащим образом разведенный туберкулин, инъецированный внутривенно, вызывает локализованную реакцию в месте введения без генерализованных проявлений. Даже у очень чувствительных людей сильные и генерализованные реакции бывают очень редко и носят ограниченный характер.

3.3. Стабильность

Во время хранения жидкий птичий туберкулин должен быть защищен от света и находиться при температуре 5°C ($\pm 3^\circ\text{C}$). Лиофилизированные препараты можно хранить при более высоких температурах (но не выше 25°C) в защищенном от света месте. Во время использования следует свести к минимуму периоды подвергания препарата воздействию более высоких температур и прямого солнечного света.

Если туберкулины хранятся при температуре в пределах 2°C и 8°C и в защищенном от света месте, их можно использовать до конца нижеуказанных периодов после проведения последнего теста на эффективность с удовлетворительными результатами: жидкие PPD туберкулины – 2 года; лиофилизированные PPD туберкулины – 8 лет; концентрированные нагреванием полученные на синтетической среде туберкулины разведенные – 2 года.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

ANGUS R.D. (1978). Production of Reference PPD tuberculins for Veterinary use in the United States. J. Biol. Stand., **6**, 221.

COUSINS D., FRANCIS B. & DAWSON D. (1996). Multiplex PCR provides a low-cost alternative to DNA probe methods for rapid identification of *Mycobacterium avium* and *Mycobacterium intracellulare*. *J. Clin. Microbiol.*, **34**, 2331–2333.

DVORSKA L., BULL T.J., BARTOS M., MATLOVA L., SVASTOVA P., WESTON R.T., KINTR J., PARMOVA I., VAN SOOLINGEN D. & PAVLIK I. (2003). A standardised restriction fragment length polymorphism (RFLP) method for typing *Mycobacterium avium* isolates links IS901 with virulence for birds. *J. Microbiol. Methods*, **55**, 11–27.

DVORSKA L., MATLOVA L., AYELE W. Y., FISCHER O. A., AMEMORI T., WESTON R. T., ALVAREZ J., BERAN V., MORAVKOVA M. & PAVLIK I. (2007). Avian tuberculosis in naturally infected captive water birds of the Ardeidae and Threskiornithidae families studied by serotyping, IS901 RFLP typing and virulence for poultry. *Vet. Microbiol.*, **119**, 366–374.

DVORSKA L., MATLOVA L., BARTOS M., PARMOVA I., BARTL J., SVASTOVA P., BULL T. J. & PAVLIK I. (2004). Study of *Mycobacterium avium* complex strains isolated from cattle in the Czech Republic between 1996 and 2000. *Vet. Microbiol.*, **99**, 239–250.

DVORSKA L., PARMOVA I., LAVICKOVA M., BARTL J., VRBAS V. & PAVLIK I. (1999). Isolation of *Rhodococcus equi* and atypical mycobacteria from lymph nodes of pigs and cattle in herds with the occurrence of tuberculoid gross changes in the Czech Republic over the period of 1996-1998. *Veterinarni Medicina*, **44**, 321–330. <http://www.vri.cz/docs/vetmed/44-11-321.pdf>

EUROPEAN PHARMACOPOEIA (2000). Purified protein derivative (avian). In: European Pharmacopoeia, Fourth Edition. Editions of the Council of Europe, Strasbourg, France, 1694.

GUERRERO C., BERNASCONI C., BURKI D., BODMER T. & TELENTI A. (1995). A novel insertion element from *Mycobacterium avium*, IS1245, is a specific target for analysis of strain relatedness. *J. Clin. Microbiol.*, **33**, 304–307.

HAAGSMA J. & ANGUS R.D. (1995). Tuberculin production. In: *Mycobacterium bovis Infections in Humans and Animals*, Steele J.H. & Thoen C.O., eds. Iowa State University Press, Ames, USA, 73–84.

INDERLIED C.B., KEMPER C.A. & BERMUDEZ L.E.M. (1993). The *Mycobacterium avium* complex. *Clin. Microbiol. Rev.*, **6**, 266–310.

KAEVSKA M., SLANA I., KRALIK P. & PAVLIK I. (2010). Examination of *Mycobacterium avium* subsp. *avium* distribution in naturally infected hens by culture and triplex quantitative real time PCR. *Veterinarni Medicina*, **55**, 325–330. <http://www.vri.cz/docs/vetmed/55-7-325.pdf>

KAZDA J., PAVLIK I., FALKINHAM J. & HRUSKA K. (2009). *The Ecology of Mycobacteria: Impact on Animal's and Human's Health*, First Edition, Springer Science+Business Media BV, 520 pp. ISBN 978-1-4020-9412-5.

KUNZE Z.M., PORTAELS F. & MCFADDEN J.J. (1992). Biologically distinct subtypes of *Mycobacterium avium* differ in possession of insertion sequence IS901. *J. Clin. Microbiol.*, **30** (9), 2366–2372.

KIRSCHNER P., MEIER P.A. & BOTTFGER E.C. (1993). Genotypic identification and detection of mycobacteria. In: *Diagnostic Molecular Microbiology*, Persing D.H., Smith T.F., Tenover F.C. & White T.C., eds. American Society for Microbiology, Washington DC, USA, 173–190.

MIJS W., DE HAAS P., ROSSAU R., VAN DER LAAN T., RIGOUTS L., PORTAELS F. & VAN SOOLINGEN D. (2002). Molecular evidence to support a proposal to reserve the designation *Mycobacterium avium* subsp. *avium* to bird-type isolates and *M. avium* subsp. *hominissuis* for the human/porcine type of *M. avium*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, **52**, 1505–1518.

MORAVKOVA M., HLOZEK P., BERAN V., PAVLIK I., PREZIUSO S., CUTERI V. & BARTOS M. (2008). Strategy for the detection and differentiation of *Mycobacterium avium* species in isolates and heavily infected tissues. *Res. Vet. Sci.*, **85**, 257–264.

PAVLIK I., MATLOVA L., DVORSKA L., BARTL J., OKTABCOVA L., DOCEKAL J. & PARMOVA I. (2003). Tuberculous lesions in pigs in the Czech Republic during 1990-1999: occurrence, causal factors and economic losses. *Veterinarni Medicina*, **48**, 113–125. <http://www.vri.cz/docs/vetmed/48-5-113.pdf>

PAVLIK I., MATLOVA L., DVORSKA L., SHITAYE J. E. & PARMOVA I. (2005). Mycobacterial infections in cattle and pigs caused by *Mycobacterium avium* complex members and atypical mycobacteria in the Czech Republic during 2000–2004. *Veterinarni Medicina*, **50**, 281–290. <http://www.vri.cz/docs/vetmed/50-7-281.pdf>

PAVLIK I., SVASTOVA P., BARTL J., DVORSKA L. & RYCHLIK I. (2000). Relationship between IS901 in the *Mycobacterium avium* complex strains isolated from birds, animals, humans, and the environment and virulence for poultry. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, **7**, 212–217.

POCKNELL A.M., MILLER B.J., NEUFELD J.L. & GRAHN B.H. (1996). Conjunctival mycobacteriosis in two emus (*Dromaius novaehollandiae*). *Vet. Pathol.*, **33** (3), 346–348.

REALINI L., DE RIDDER K., HIRSCHEL B. & PORTAELS F. (1999). Blood and charcoal added to acidified agar media promote the growth of *Mycobacterium genavense*. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, **34**, 45–50.

RITACCO V., KREMER K., VAN DER LAAN T., PIJNENBURG J.E.M., DE HAAS P.E.W. & VAN SOOLINGEN D. (1998). Use of IS901 and IS1245 in RFLP typing of *Mycobacterium avium* complex: relatedness among serovar reference strains, human and animal isolates. *Int. J. Tuberculosis Lung Dis.*, **2**, 242–251.

ROZANSKA M. (1965). Preparation of antigen for whole blood rapid agglutination test and its specificity for diagnosis of avian tuberculosis. *Bull. Vet. Inst. Pulawy*, **9** (1), 20–25.

SAITO H., TOMIOKA H., SATO K., TASAKA H. & DAWSON D.J. (1990). Identification of various serovar strains of *Mycobacterium avium* complex by using DNA probes specific for *Mycobacterium avium* and *Mycobacterium intracellulare*. *J. Clin. Microbiol.*, **28**, 1694–1697.

SHITAYE J.E., GRÝMOVA V., GRÝM M., HALOUZKA R., HORVATHOVA A., MORAVKOVA M., BERAN V., SVOBODOVA J., DVORSKA-BARTOSOVA L. & PAVLIK I. (2009). *Mycobacterium avium* subsp. *hominissuis* infection in a pet parrot. *Emerg. Inf. Dis.*, **15** (4), 617–619.

SHITAYE J.E., HALOUZKA R., SVOBODOVA J., GRÝMOVA V., GRÝM M., SKORIC M., FICTUM P., BERAN V., SLANY M. & PAVLIK I. (2010). First isolation of *Mycobacterium genavense* in blue headed parrot (*Pionus menstruus*) imported from Surinam (South America) to the Czech Republic: a case report. *Veterinarni Medicina*, **55**, 339–347. <http://www.vri.cz/docs/vetmed/55-7-339.pdf>

SHITAYE J.E., MATLOVA L., HORVATHOVA A., MORAVKOVA M., DVORSKA-BARTOSOVA L., TREML F., LAMKA J. & PAVLIK I. (2008). Mycobacterium avium subsp. avium distribution studied in a naturally infected hen flock and in the environment by culture, serotyping and IS901 RFLP methods. *Vet. Microbiol.*, **127**, 155–164.

SHITAYE J.E., PARMOVA I., MATLOVA L., DVORSKA L., HORVATHOVA A., VRBAS V. & PAVLIK, I. (2006). Mycobacterial and Rhodococcus equi infections in pigs in the Czech Republic between the years 1996 and 2004: the causal factors and distribution of infections in the tissues. *Veterinarni Medicina*, **51**, 497–511. <http://www.vri.cz/docs/vetmed/51-11-497.pdf>

SLANA I., KAEVSKA M., KRALIK P., HORVATHOVA A. & PAVLIK, I. (2010). Distribution of Mycobacterium avium subsp. avium and M. a. hominissuis in artificially infected pigs studied by culture and IS901 and IS1245 quantitative real time PCR. *Vet. Microbiol.*, **144**, 437–443.

SOINI H., EEROLA E. & VILJANEN M.K. (1996). Genetic diversity among Mycobacterium avium complex Accu-Probe-positive isolates. *J. Clin. Microbiol.*, **34**, 55–57.

TELL L.A., WOODS L. & CROMIE R.L. (2001). Tuberculosis in birds. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, **20**, 180–203.

THOREL M.F., HUCHZERMEYER H. & MICHEL A.L. (2001). Mycobacterium avium and M. intracellulare infection in mammals. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, **20**, 204–218.

THOREL M.F., HUCHZERMEYER H., WEISS R. & FONTAINE J.J. (1997). Mycobacterium avium infections in animals. Literature review. *Vet. Res.*, **28**, 439–447.

THOREL M.F., KRICHEVSKY M. & LEVY-FREBAULT V.V. (1990). Numerical taxonomy of mycobactin-dependent mycobacteria, emended description of Mycobacterium avium, and description of Mycobacterium avium subsp. avium subsp. nov., Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis subsp. nov., and Mycobacterium avium subsp. silvaticum subsp. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, **40** (3), 254–260.

VAN INGEN J., AL HAJJOJ SAM., BOERE M., AL RABIAH F., ENAIMI M., DE ZWAAN R., TORTOLI E., DEKHUIJZEN R. & VAN SOOLINGEN D. (2009). Mycobacterium riyadhense sp. nov.; a non-tuberculous species identified as Mycobacterium tuberculosis by a commercial line-probe assay. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, **59**, 1049–1053.

VAN SOOLINGEN D., BAUER J., RITACCO V., CARDOSO LEO S., PAVLI I., VINCENT V., RASTOGI N., GORI A., BODMER T., GARZELLI C. & GARCIA M.J. (1998). IS1245 restriction fragment length polymorphism typing of Mycobacterium avium isolates: proposal for standardization. *J. Clin. Microbiol.*, **36**, 3051–3054.

WOLINSKY E. & SCHAEFER W.B. (1973). Proposed numbering scheme for mycobacterial serotypes by agglutination. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, **23**, 182–183.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO) (1987). Requirements for Biological Substances No. 16, Annex 1: Requirement for Tuberculin. Technical Report Series No. 745, WHO, Geneva, Switzerland, 31–59.

*

* *

NB: Имеется Референтная лаборатория МЭБ по туберкулезу птиц, (см. таблицу в Части 4 данного *Руководства по наземным животным*, самый последний список лабораторий опубликован на веб-сайте МЭБ: <http://www.oie.int/en/our-scientific-expertise/reference-laboratories/list-of-laboratories/>).

Дополнительную информацию по диагностическим тестам, реагентам и вакцинам для туберкулеза птиц можно получить в данной Референтной лаборатории МЭБ.