

## Вплив температури культивування на вірулентність мікобактерій

О.А. Ткаченко, доктор ветеринарних наук

В.В. Глебенюк, аспірант

*Проведено дослідження з вивчення вірулентності мікобактерій, культивованих за підвищеної температури. Показано, що інкубація *M.bovis* за температури 41 °С знижує їх вірулентність. У тимчасово непатогенних мікобактерій, незалежно від температури культивування, для відновлення вірулентності потрібні 2–3 пасажі через організм морських свинок*

Температура культивування мікроорганізмів, впливаючи на метаболізм клітини, визначає потребу в поживних речовинах та хімічний склад бактерії [1]. У зв'язку з цим, важливим є дослідження біологічних властивостей *M.bovis* швидкорослих штамів, їх здатності утворювати колонії на живильних середовищах при інкубації за широких меж температури культивування та визначення лабільності вірулентності [2–4].

Попередньо відзначено [5], що мікобактерії бичачого виду швидкорослого штаму утворюють колонії як за традиційної, кімнатної, так і за підвищеної температури культивування. Тому метою роботи було вивчення вірулентності мікобактерій, культивованих за різних температур та здатності її відновлювати при пасажах через організм морських свинок.

**Матеріали та методи.** Для досліджень були використані *M.bovis* швидко- і повільнорослого епізоотичних штамів та культури швидкорослого штаму, пасажованої 60 разів через щільне живильне середовище, які одержані шляхом інкубації за різних температур (37–44 °С).

Для визначення вірулентності та сенсibiliзуючої здатності мікобактерій заражали двох морських свинок зависсю збудника (1 мг/см<sup>3</sup> ізотонічного розчину) та досліджували ППД-туберкуліном для ссавців. З метою відновлення вірулентності в накопичених за різних температур *M.bovis* суспензію біоматеріалу (виготовлену зі шматочків селезінки, легень, лімфатичних вузлів, печінки) від етаназованих наприкінці досліду морських свинок вводили іншим тваринам. Оцінку специфічних туберкульозних змін у внутрішніх органах лабораторних тварин проводили за схемою М.С. Тріус [6].

**Результати дослідження.** Введення зависі *M.bovis*, культивованих за різних температур, швидко- та повільнорослого епізоотичних штамів морським свинкам супроводжувалося розвитком сенсibiliзації, яка виявилася ППД-туберкуліном для ссавців протягом досліду, за винятком 30-ої доби в однієї морської свинки (табл. 1).

У морської свинки № 1 першого пасажу через три тижні після зараження в ділянці інокуляції мікобактерій утворився набряк-бугорок щільної

консистенції розміром 2×2 см. У центрі набряку сформувалася виразка, з якої просочувався серозний ексудат. Після першої туберкулізації виразка почала загоюватись і до 90-ої доби зарубцювалася. В іншій свинки змін у ділянці інокуляції за часі мікроорганізмів не виявлено.

### 1. Вірулентність та сенсibiliзуюча здатність *M.bovis* епізоотичних штамів

Штам	Температура культивування мікобактерій, °С	Кількість пасажів через тварин	№ морської свинки	Алергічні дослідження, доба			Тривалість досліду, діб	Індекс ураження
				30	60	90		
Швидкорослий	37	1	1	+	+	+	90	0
			2	-	+	+	90	0
		2	7	+	-	-	50	21
			8	+	-	-	52	25
	44	1	5	+	+	+	90	0
			6	+	+	+	90	0
		2	9	+	+	+	90	17
			10	+	+	+	90	20
Повільнорослий	37	1	11	+	-	-	38	19
			12	+	-	-	42	21
	41	1	13	+	-	-	52	18
			14	+	-	-	56	20

На розтині тварин, заражених *M.bovis* швидкорослого штаму, макроскопічних патолого-анатомічних змін не знайдено. Цей факт свідчить про зниження вірулентності, яке відбулося за тривалого культивування мікобактерій (один рік) на живильному середовищі [7], що було проведено під час досліду з вивчення здатності збудника адаптуватися до умов культивування за різних температур.

У другому біологічному пасажі швидкорослого штаму всі піддослідні тварини реагували на введення ППД-туберкуліну для ссавців, проте в ділянці введення збудника виразки не було. Тварини № 7 та 8, яким вводили одну суспензію (зі свинок № 1 та 2), загинули на 50–52 добу, а тварини № 9 та 10, заражені іншою суспензією (зі свинок № 5 та 6), залишалися живими протягом досліду і були евтаназовані на 90 добу. Індекс ураження внутрішніх органів у свинок був 21–25 та 17–20 балів відповідно.

*M.bovis* повільнорослого епізоотичного штаму, культивовані за 37 °С, викликали загибель морських свинок на 38–42 добу, що на 10–18 діб раніше, ніж при культивуванні їх за 44 °С. Індекс ураження внутрішніх органів у дослідних тварин не відрізнявся і незалежав від температури культивування введених мікобактерій (становив 18–21 бал).

Мікобактерії, пасажовані 60 разів через живильне середовище "Нове" Мордовського та інкубовані в подальшому за різних температур, протягом біологічних досліджень викликали алергічні реакції на ППД-туберкулін (з 30-ої чи 60-ої доби) та частково поновлювали вірулентність у лабораторних

тварин третього пасажу (табл. 2). Як бачимо, мікобактерії, культивовані за 43 °С, тільки в однієї свинки викликали незначні зміни у внутрішніх органах, характерні для туберкульозу (індекс ураження 3 бали). Обидві свинки, заражені мікобактеріями, культованими за 44 °С, мали незначні ураження органів (індекс ураження 4–7 балів), тоді як за 37 °С – зміни були відсутні. Нерівнозначне відновлення вірулентності мікобактерій, інкубованих за різних температур, можна пояснити, на нашу думку, тривалістю персистенції (в загальному 270 діб) бактерій у макроорганізмі під час біологічних досліджень.

## **2. Вірулентність та сенсibiliзуюча здатність *M.bovis* швидкорослого штаму тривалопасажованої культури**

Температура культивування мікобактерій, °С	Кількість пасажів через тварин	№ морської свинки	Алергічні дослідження, доба			Тривалість досліду, діб	Індекс ураження
			30	60	90		
37	1	15	–	+	+	90	0
		16	+	+	+	90	0
	2	23	–	–	+	90	0
		24	–	+	+	90	0
	3	29	–	–	+	90	0
		30	–	+	+	90	0
43	1	19	–	+	+	90	0
		20	+	+	+	90	0
	2	25	–	+	+	90	0
		26	–	+	+	90	0
	3	31	–	+	+	90	0
		32	–	+	+	90	3
44	1	21	–	+	+	90	0
		22	–	+	+	90	0
	2	27	–	+	+	90	0
		28	+	+	+	90	0
	3	33	–	+	+	90	4
		34	–	+	+	90	7

### **Висновки**

1. Мікобактерії бичачого виду при культивуванні за підвищеної температури (41 °С) знижують вірулентність, що обумовлює загибель морських свинок у більш віддалені строки (на 10–18 діб пізніше). Індекс ураження внутрішніх органів не змінюється.

2. У мікобактерій, які втратили вірулентність, незалежно від температури інкубування (37–44 °С), спостерігається її відновлення через 2–3 прямі біологічні пасажі.

### **Бібліографія**

1. Методы общей бактериологии: В 2 т./ Под ред. Ф. Герхардта и др.; Пер. с англ; Под ред. Е.Н. Кондратьевой, Л.В. Калакуцкого. – М.: Мир, 1983. – Т.1. – С. 175–178.

2. Вейсфейлер Ю.К. Биология и изменчивость микобактерий туберкулёза и атипичные микобактерии. – Будапешт: Изд-во АН Венгрии, 1975. – 336 с.

3. Зыков М.П. Микробиология туберкулёза. – Л.: Медицина, 1976. – 160 с.

4. *Петровская В.Г.* Проблема вирулентности бактерий (Химические, метаболические, экологические и генетические аспекты). – Л.: Медицина, 1967. – 264 с.

5. *Глебенюк В.В.* Особливості культивування *M.bovis* швидкорослого штаму за різних температур // Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини: Зб.наук.праць Харківської державної академії. – Харків, 2007. – Вип. 15(40), ч.2, т.1. – С. 53–57.

6. *Яценко Т.Н., Мечева И.С.* Руководство по лабораторным исследованиям при туберкулезе. – М.: Медицина, 1973. – 260 с.

7. *Бокун А.О.* Биологическая активность микобактерий туберкулеза в эпизоотическом инфекционном процессе // Проблемы туберкулеза. – 1989. – № 1. – С. 51–54.