

ВІЛЬНІ ЖИРНІ КИСЛОТИ *M. BOVIS* ТА ІНФЕКЦІЙНИЙ ПРОЦЕС

Володимир БУСОЛ, академік УААН
 Національний аграрний університет
 Олексій ТКАЧЕНКО, доктор ветеринарних наук, професор
 Марина ЗЕЛЕНЬКА, асистент
 Лілія КОВАЛЬОВА, здобувач
 Дніпропетровський державний аграрний університет

Відкриття Р. Кохом збудника туберкульозу зосередило дослідження вчених світу на вивченні біологічних властивостей мікобактерій. Досить суперечливі погляди вчених того часу дозволили все ж таки розподілити мікобактерії за видами та визначити методологічні основи щодо підходів профілактики і боротьби із хворобою певного виду тварин. У той же час є повідомлення про зміну мікобактеріями біологічних властивостей залежно від середовища, в якому вони перебувають.

МЕТА ДАНОЇ РОБОТИ — вивчення кількісного та якісного вмісту вільних жирних кислот мікобактерій бичачого виду й інтенсивності прояву інфекційного процесу.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Дослідження проводили в навчально-дослідній лабораторії кафедри епізотології та інфекційних хвороб ДДАУ і в Інституті біології ДНУ.

Було використано еталонний штам Vallee, BCG, епізоотичні повільно- й швидко-ростучі *M. bovis*, а також атипові швидко-ростучі мікобактерії.

Біологічні властивості швидко-ростучого штаму *M. bovis* вивчали за деякими головними показниками, що характеризують цей вид збудника.

Дослідження впливу рН штучного живильного середовища на форму й структуру колоній швидко-ростучого штаму *M. bovis* проводили в динаміці численних пасажів.

Визначення вільних жирних кислот здійснювали за допомогою газоріднинної хроматографії разово та в динаміці пасажів через штучне середовище. Для цього культуру мікобактерій накопичували на середовищі, через 30 діб біомасу знімали шпателем.

Вплив фенотипових змін колоній на патогенність мікобактерій та інтенсивність прояву інфекційного процесу досліджували шляхом зараження морських свинок культурою, пасажованою 80 і 98 разів через штучне живильне середовище.

Для вивчення зміни ступеня вірулентності швидко-ростучого штаму *M. bovis* у ди-

1. Мінливість мікобактерій		
Автор	Рік	Характеристика
Кальмет А. і Герен	1920	Втрата вірулентності, зміна форми й структури колоній
Космодаміанський В.	1950	Перехід одного виду в інші при пасажах через макроорганізм чи штучне живильне середовище, зміна форми й структури колоній та кислотостійкості
Кочмарський А.	1974	Адаптація <i>M. avium</i> до організму телят
Ротов В., Савченко Е., Козлов В., Дяченко Г.	1975–2004	Перехід одного виду в інший при пасажі мікобактерій через організм неголовного хазяїна
Земскова З., Дорожкова І.	1984	L-форми — повна чи часткова втрата клітинної оболонки та вірулентності
Романенко В.	2003	Генетична обумовленість адаптивної мінливості
Ткаченко О.	2004	Швидко-ростучі штами <i>M. bovis</i>
Ощепков В.	2004	Фактори стійкості залежно від дії дезінфектантів

наміці впливу захисних сил макроорганізму провели 10 послідовних прямих заражень морських свинок.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Аналіз літературних даних засвідчив [1–6], що не тільки в часи Р. Коха велась дискусія стосовно виду мікобактерій. Пізніше вчені також повідомляли про їх мінливість. Такі дослідження не завершилися і дотепер (табл. 1).

Спеціалізація та концентрація великої рогації худоби на обмежених територіях без урахування епізоотичної ситуації в господарствах-постачальниках тварин була розпочата в 70-х роках минулого сторіччя. Це сприяло формуванню нових довготривалих у часі (іноді до 10 і більше років) епізоотичних вогнищ туберкульозу і не могло не вплинути на біологію мікобактерій. Для цього були штучно створені унікальні можливості: взаємодія в замкненому середовищі мікро- та макроорганізмів за численних пасажів різного ступеня вірулентності збудника протягом років через організм тварини з високою чи низькою природною резистентністю, нестерильним, спонтанно набутим імунітетом. Це, безперечно, може призвести до виникнення нових рас мікобактерій з відмінними властивостями.

Так, нами виділено з біоматеріалу реагуючої на туберкулін корови неблагополучного щодо туберкульозу господарства степової зо-

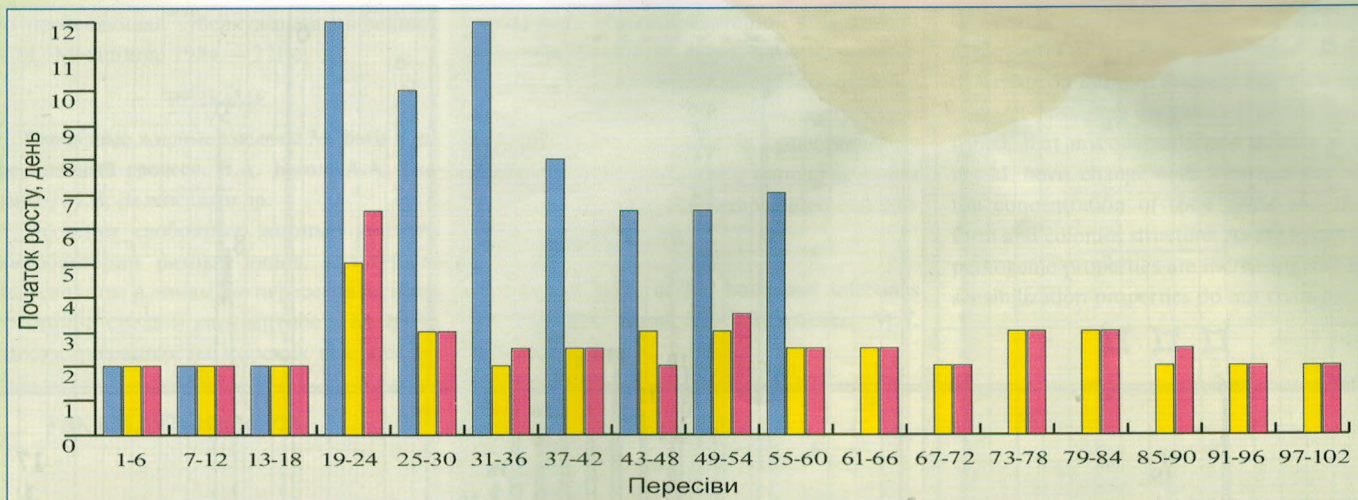
ни збудника бичачого виду [5] з деякими відмінностями від традиційно відомих (табл. 2).

Відмінність полягає в здатності мікобактерій формувати колонії на 2-й день із часу висіву зависі на штучне живильне середовище, адаптуватись до середовища при температурі 22–45°C та до середовища з 0,5% саліцилату натрію.

Досліджуючи строки формування колоній швидко-ростучого штаму *M. bovis* у

2. Біологічні властивості швидко-ростучого штаму *M. bovis*

Показник	Властивість
Поява колоній за пасажування, день	2-й
Вірулентність: морські свинки	Висока
кролі	Те ж
кури	Відсутня
Формування алергії, день	20
Ріст при t°C	22–45
Форма колоній	R–S
Ріст на середовищі з 0,5% саліцилату натрію	+
Ферментативна активність: каталазна	+
пероксидазна	+
дегідрогіназна	+
редукція нітратів	-
Корд-фактор	+
Ліпіди, %	11



1. Динаміка початку росту колоній швидкоростучого штаму *M. bovis* на середовищах з різним рН:
 ■ – 7,1; ■ – 6,5; ■ – 6,7

динаміці пасажів через щільне живильне середовище з різним рН, виявлено (рис. 1) суттєві зміни швидкості росту та появу культур зі специфічними ознаками, що відрізнялися від вихідної. В першу чергу це спостерігалось із варіантом штаму мікобактерій, культивованих на живильному середовищі із рН 7,1.

Втрата швидкості росту мікобактеріями почала виявлятися вже на 19–24-му пасажі, коли перші колонії були виявлені на 12-й день дослідження. Це ж спостерігалось і зі штамами мікобактерій, які пасажувалися через інші два середовища (рН 6,5 та 6,7). Проте якщо на першому середовищі колонії утворювалися в середньому на 12-й день культивування, то на інших двох – на 5–6-й день. Водночас останні штами в наступних пасажах, розпочинаючи із 25-го до 102-го, практично повернулися до показника адаптації мікобактерій перших 18 пасажів і формували колонії на 2–3-й день.

Навпаки, штам *M. bovis*, який пасажувався на середовищі з рН 7,1, хоча дещо і підвищив адаптаційні можливості, розпочинаючи із 37-го до 57-го пасажу, проте час появи перших колоній так і не наблизився до інтервалу коливань вихідного штаму і становив 7–8 днів, що вказує на втрату швидкості росту.

Отже, аналіз ростових властивостей швидкоростучого штаму *M. bovis* засвідчив, що за численних пасажів культури збудника через середовище із рН 7,1 можуть відбуватися зрушення метаболізму мікобактерій у бік зниження обміну речовин. Це призводить до більш повільного їх розмноження та, як результат, до втрати вихідної властивості – швидкості росту і відповідно пізнішого формування колоній.

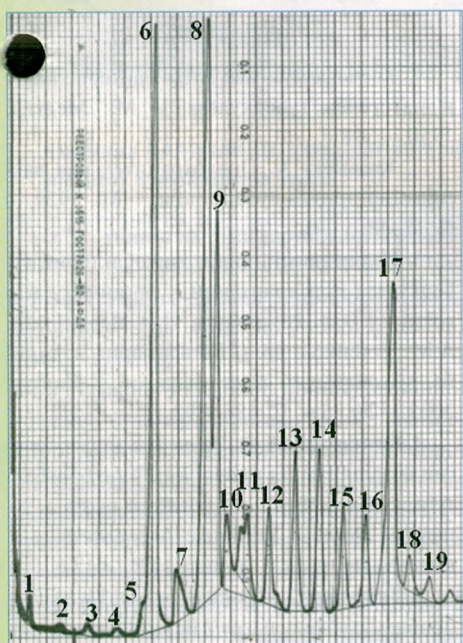
Поряд із цим виявлені суттєві зміни в формі та структурі колоній. На середовищі з рН 7,1 ці морфологічні ознаки колоній практично не змінилися в динаміці пасажів,

у той час як на двох інших формувалися розпочинаючи із 40-го пасажу, численні колонії, в'язкої маслянистої консистенції, які в подальшому (за 7–10 днів) зливалися в суцільну смугу по лінії посіву.

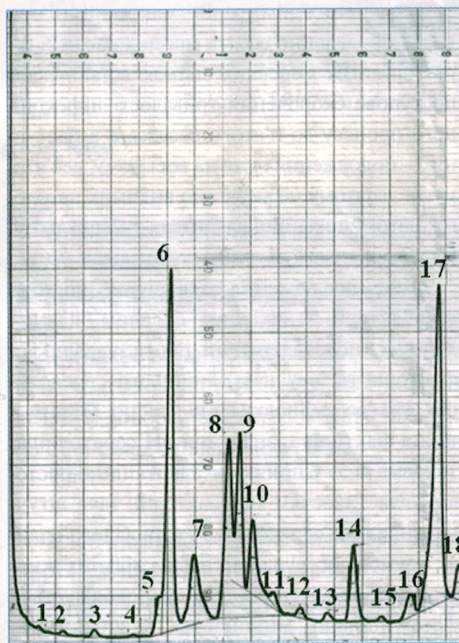
Без сумніву, така фенотипова мінливість мікобактерій, культивованих на середовищі з рН 6,5–6,7, пов'язана зі структурними змінами ліпідного складу, що за багатьма даними визначені як фактори патогенності.

Дослідженням компонентного складу фракції вільних жирних кислот у зразках біомаси мікобактерій штаму Vallee, BCG епізоотичного повільноростучого *M. bovis* та атипових (рис. 2–5) встановлено практично ідентичний жирнокислотний склад фракції вільних жирних кислот з атомами вуглецю в проміжку від 12-го до 27-го пасажу.

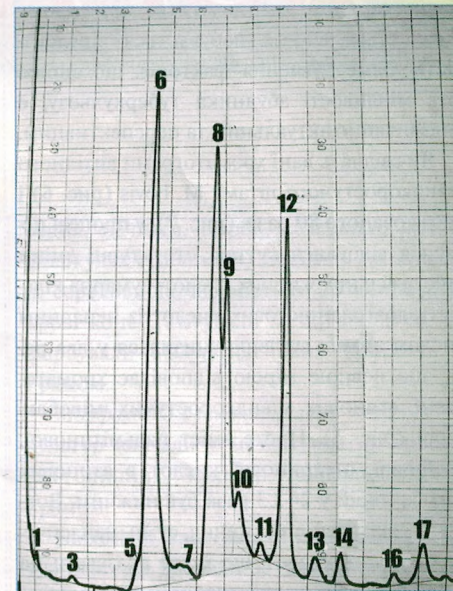
Вміст пальмітинової, олеїнової, стеаринової кислот в усіх досліджених зразках дещо менше, за винятком пентакозанової та арахи-



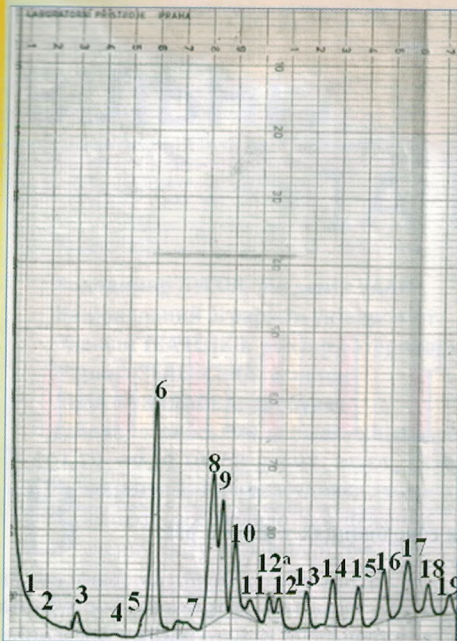
2. ВЖК штаму Vallee



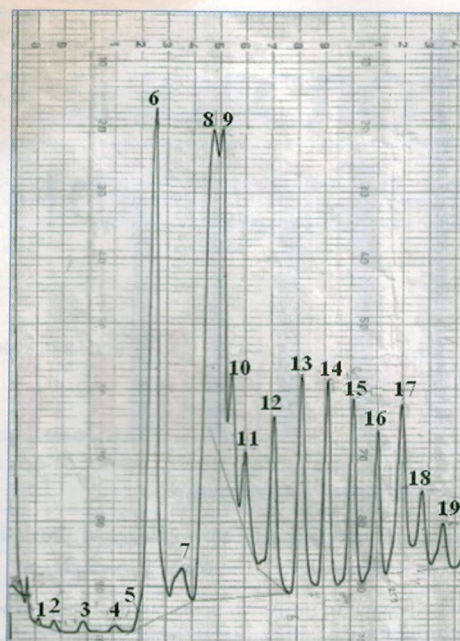
3. ВЖК штаму BCG



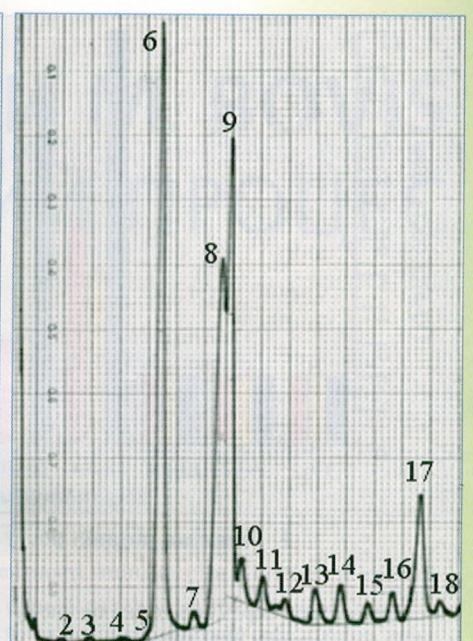
4. ВЖК повільноростучого штаму *M. bovis*



5. ВЖК швидкоростучих атипівих мікобактерій



6. ВЖК швидкоростучого штаму *M. bovis*



7. ВЖК швидкоростучого штаму (80-й пасаж)

Примітка: кислоти:	6 – C _{16:0} – пальмітинова;	11 – C _{19:0} – нонадеканова;	16 – C _{24:0} – тетракозанова;
1 – C _{12:0} – лауринова;	7 – C _{17:0} – маргарінова;	12 ^a – C _{20:4} – арахідонова;	17 – C _{25:0} – пентакозанова;
2 – C _{13:0} – тридеканова;	8 – C _{18:1} – олеїнова;	12 – C _{20:0} – арахінова;	18 – C _{26:0} – гексакозанова;
3 – C _{14:0} – міристинова;	9 – C _{18:0} – стеаринова;	13 – C _{21:0} – генейкозанова;	19 – C _{27:0} – гептакозанова;
4 – C _{15:0} – пентадеканова;	10 – C _{18:2} +C _{18:3} – лінолева з ліноленою;	14 – C _{22:0} – бегенова;	
5 – C _{16:1} – пальмітолеїнова;		15 – C _{23:0} – трикозанова;	

нової, які поряд із названими вище домінують серед вільних жирних кислот штаму Vallee, BCG та повільноростучого *M. bovis* відповідно.

Рівень вмісту кислот відповідає вірулентності досліджених штамів мікобактерій.

Отже, у проаналізованих різновірulentних штамів мікобактерій є ідентичний якісний склад вільних жирних кислот, рівень яких залежно від середовища розмноження збудника може змінюватися, при цьому втрачається або ж набувається вірулентність. Саме вивчення факторів, що сприяють мінливості збудника туберкульозу, є надзвичайно актуальним та перспективним.

Як свідчать дані хроматограми вихідного швидкоростучого штаму *M. bovis* (рис. 6) і пасажованого 80 разів (рис. 7), у процесі пересівів відбулися суттєві структурні зміни вмісту вільних жирних кислот: сумарна кількість довголанцюгових кислот із непарним числом атомів вуглецю знизилася у два рази, що певною мірою відповідає хроматограмі атипівих швидкоростучих мікобактерій (рис. 5). Проте вміст пальмітинової, олеїнової, стеаринової кислот в атипівих мікобактерій у 2–2,3 рази був нижчим. Водночас відмічено зниження суми ненасичених жирних кислот, що може вказувати на зміну біологічних властивостей збудника.

Дослідження ступеня вірулентності мікобактерій, пасажованих 80 разів через штучне яєчне середовище із рН 6,5, засвідчили

збільшення тривалості життя морських свинок у 2,4 рази. Зараження культурою мікобактерій, пасажованою 98 разів, стимулювало розвиток, як і в попередньому досліді, алергії на туберкулін, але макроскопічних патолого-анатомічних змін, характерних для туберкульозу, впродовж 4-місячного досліді виявлено не було.

У той же час швидкоростучий вихідний штам *M. bovis* значно змінюється і під впливом захисних факторів макроорганізму. Після проведення десяти прямих пасажів через організм морських свинок встановлено поступове скорочення тривалості інфекційного процесу до п'ятого пасажу, а в наступних – подовження і вже на восьмому, дев'ятому та десятому не виявлено видимих патолого-анатомічних змін, властивих туберкульозу, хоча стан алергії збудник стимулював.

Отже, дослідження засвідчили, що хоча мікобактерії за якісним складом вільних жирних кислот ідентичні, проте залежно від факторів впливу навколишнього середовища суттєво змінюються кількісно. Одним з таких факторів є значення рН середовища, зокрема 6,5. Сприяючи адаптаційно-ростовим властивостям мікобактерій, таке штучне живильне середовище за тривалого впливу обумовлює кількісні зміни вільних жирних кислот збудника. Це супроводжується фенотиповою мінливістю мікобактерій, втратою патогенності та збереженням сенсифікувальної здатності.

ВИСНОВОК

У біологічному світі існують мікобактерії, які за деякими властивостями відмінні від традиційних. Вони швидко адаптуються до несприятливого середовища і, змінюючись фенотипово, стимулюють прихований перебіг інфекційного процесу. Це обґрунтовує необхідність перегляду методологічних підходів щодо методів оздоровлення господарств.

ЛІТЕРАТУРА

1. **Космодамианский В.Н.** Бактериология и патогенез туберкулёза. – М.: Медгиз, 1950. – 198 с.
2. **Кальметт А.** Предохранительная вакцинация против туберкулёза. – М., 1929. – С. 15–18.
3. **Изменчивость** видов микобактерий туберкулёза при адаптации к организму животных / В.Ф. Романенко, П.И. Вербицкий, А.М. Дяченко и др. // Ветеринарна медицина. Міжвідомчий темат. наук. зб. – Харків, 2003. – № 85. – С. 486–492.
4. **Кочмарский А.Ф.** Изучение эпизоотологии и организация мероприятий по борьбе с туберкулёзом крупного рогатого скота в Западном Полесье Украины: Автореф. дис. ... доктора вет. наук. – Харків, 1974. – 42 с.
5. **Ткаченко О.** Швидкоростучі *M. bovis* у проблемі туберкульозу // Ветеринарна медицина України. – 2004. – № 7. – С. 14–17.
6. **Земскова З.С., Дорожкава И.Е.** Скры-

то протекающая туберкулёзная инфекция. – М.: Медицина, 1984. – 221 с.

РЕЗЮМЕ

Свободные жирные кислоты *M. bovis* и инфекционный процесс. В.А. Бусол, А.А. Ткаченко, М.В. Зеленская и др.

Исследуя свободные жирные кислоты микобактерий разных видов, культуральные свойства в динамике пересевов на искусственной среде и вирулентность *M. bovis*, пассажированных на морских свинках, ус-

тановлено, что микобактерии, в частности быстрорастущие *M. bovis*, изменяясь количественно в зависимости от содержания кислот, изменяются по форме и структуре колоний. Это приводит к существенному снижению патогенности с одновременным сохранением сенсибилизирующей способности микобактерий.

Free fat acids of *M. bovis* and infectious process. В.А. Busol, А.А. Tkachenko, М.В. Zelenskaya et al.

Studing of free fat acids of different mycobacteria, growing properties during passing on nutrient medium and their virulence at passing on guinea-pigs has established, that mycobacteria and quickly growing *M. bovis* change both their quantity and the concentration of their acids and their form and colonies structure. As are result the pathogenic properties are increasing and the sensibilization properties do not change.



УДК 636.597:619:616.973

НЕЙСЕРІОЗ



КАЧОК

**Людмила НАЛИВАЙКО, кандидат ветеринарних наук
Інститут птахівництва УААН**

Згідно з даними зарубіжної літератури, ураження клоаки і репродуктивних органів у природних умовах було вперше виявлено у качок у 1948 р. у Німеччині [2].

В Угорщині у 1970 р. на початку племінного сезону було зареєстровано ураження статевих органів у племінних гусей рейнської породи і описане дослідниками як «інфекційне запалення клоаки і пеніса гусаків», «гонорея гусей», а з 1971 р. аналогічну клініку хвороби почали спостерігати і в селезнів [2–8].

Літературні джерела стосовно етіології запалення слизової оболонки клоаки у качок та ураження статевих органів у селезнів відсутні.

Причиною проведення епізоотологічного обстеження в птахівничих господарствах, де вирощували качок, було виникнення захворювання, яке характеризувалось фібринозно-некротичним запаленням слизової оболонки клоаки і репродуктивного органа селезнів, утворенням виразок, що призводило до низької заплідненості яєць.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Клінічному обстеженню підлягала птиця протягом продуктивного періоду.

Бактеріологічні дослідження: мікроорганізми виділяли з поверхні та з глибини ерозій, виразок слизової оболонки клоаки і внутрішніх органів (жовчного міхура, крові

серця, печінки, нирок, селезінки, яєчних фолікулів, сім'яників). Засівали на живильні середовища, що містили 20% сироватки крові коней. Готували мазки-відбитки, які фарбували 1% метиленовим синім та за Грамом.

Морфологію і тинкторіальні властивості культур вивчали у мазках чистих добових (24-годинних) культур, пофарбованих за Грамом.

Біохімічні властивості ізолюваних культур нейсерій вивчали за загальноприйнятими методиками [1]: наявність ферментів оксидази, каталази, уреаз; здатність гемолізувати еритроцити людини, кроля, вівці; ферментування глюкози, сахарози,