

Камишний Олександр Михайлович - д.мед.н., доцент, зав. каф. мікробіології, вірусології і імунології ЗДМУ; +38 0612 34-26-31; alexkamushnyu@yandex.ru

Коновалова Ольга Олександрівна - магістр по лабораторній діагностиці, ст. лаб. каф. мікробіології, вірусології і імунології ЗДМУ; +38 0612 34-26-31

Камишна Вікторія Анатоліївна - к.мед.н., ст. викладач каф. анатомії людини з курсом оперативної хірургії і топографічної анатомії ЗДМУ; +38 0612 34-25-31

© Бабійчук Ю.В.

УДК: 616.002.51

Бабійчук Ю.В.

Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова, кафедра хірургії медичного факультету №2 (вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, Україна, 21018)

ВНУТРІШНЬОКЛІТИННИЙ РОЗВИТОК ЗБУДНИКА ТУБЕРКУЛЬОЗУ В СИСТЕМІ КРОВІ

Резюме. *Туберкульоз на сьогодні є актуальною медико-соціальною проблемою не тільки в Україні, а й в усьому світі. Новий метод діагностики базується на застосуванні мікроскопії мазка крові та виявлення в системі крові стадій розвитку збудника туберкульозу, а в разі необхідності проводяться бактеріологічні дослідження крові з використанням середовища ВЛАКОН, на якому ріст колоній можна отримати за 2 - 3 доби. Метою наших досліджень було удосконалення експрес-методу виявлення збудника туберкульозу в системі крові з використанням цифрової мікроскопії. Дослідження проведено на 50 кролях породи Шиншила. Вдослідну групу відібрано 40 кролів, в яких викликана експериментальна модель туберкульозу. В контрольну відібрано 10 кролів, яким нічого не вводилось. Проводилась цифрова світлова мікроскопія зразків крові. При мікроскопії мазка в різні періоди зараження у полі зору мікроскопу з'являлись різні агенти стадій розвитку мікобактерії у вигляді артроспор, молекулів, коків, паличок, зеброподібних стебел. Молекул збудника туберкульозу в еритроциті починає розвиватися, утворюючи кокоподібні форми всередині еритроцита, а сам еритроцит збільшується, набираючи округлої форми. Проникнення в еритроцит молекула може призвести до утворення гігантських еритроцитів в середині яких розвивається коковидна форма збудника туберкульозу.*

Ключові слова: *поліморфізм, експериментальний туберкульоз, цифрова мікроскопія, еритроцит.*

Вступ

Туберкульоз на сьогодні є актуальною медико-соціальною проблемою не тільки в Україні, а й в усьому світі. Щорічно у світі виявляється від 7 до 10 млн. хворих на туберкульоз осіб, помирає 2,5 - 3 млн. Загальна кількість хворих становить 50 - 60 млн. Туберкульоз займає перше місце в структурі смертності від інфекційних та паразитарних хвороб [Толстанов, 2001; Колос та ін., 2006]. Під впливом антибактеріальної терапії, яка проводиться у хворих на туберкульоз, мікобактерія туберкульозу (МБТ) із типових форм трансформуються в інші, в тому числі в ті, які фільтруються. Ці морфологічні форми з новими біологічними властивостями зберігають вірулентність, вони спроможні затримати одужання хворого або ж спричинити рецидив захворювання. Дослідники дотримуються думки про те, що існуючі методи мікроскопічної діагностики малоефективні внаслідок олигобацилярності патологічного матеріалу, а наявність у хворих клінічних ознак туберкульозу при негативних бактеріоскопії та посіві вимагає допоміжних методів дослідження для виявлення змінених форм збудника [Мельник та ін., 2006]. Новий метод діагностики базується на застосуванні мікроскопії мазка крові та виявлення в системі крові стадій розвитку збудника туберкульозу, а в разі необхідності проводяться бактеріологічні дослідження крові з використанням середовища ВЛАКОН, на якому ріст колоній можна отримати за 2 - 3 доби [Власенко, Багриї, 2001].

Метою наших досліджень було удосконалення експ-

рес-методу виявлення збудника туберкульозу в системі крові з використанням цифрової мікроскопії.

Матеріали та методи

Дослідження проведено на 50 кролях породи Шиншила, відібраних у трьох місячному віці і розподілених на дві групи (контрольну і дослідну). В дослідну групу відібрано 40 кролів, в яких викликана експериментальна модель туберкульозу з внутрішньоперитоніальним введенням в масляному розчині біокультур *Mycobacterium bovis* в дозі 0,1 мг/мл, при якій зберігається можливість для персистенції мікобактерій. В контрольну відібрано 10 кролів, яким нічого не вводилось. Досліди проведені згідно наказу від 01.03.2012 р Міністерства освіти і науки, молоді і спорту України №249 "Про затвердження порядку проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах". Контрольних і дослідних тварин утримували в клітках, догляд і годівля були аналогічними, за тваринами постійно проводився моніторинг. З вушної вени кролів обох груп набиралась кров через 10 днів від початку зараження, 120 днів від початку експерименту. Проводилась цифрова світлова мікроскопія нативних нефарбованих зразків крові (роздавлена крапля) з використанням системи світлових фільтрів для кращої візуалізації та зразки крові фіксувались, окрашувались по Романовському-Гімзе. Мікроскопія проводилась на біологічному мікроскопі Konus Biorex-3 з цифровою фотокамерою DCM 500 з розрешенням 5 Мп., зб. x1000.

Результати. Обговорення

При мікроскопії мазка в різні періоди зараження у полі зору мікроскопу з'являлись різні агенти стадій розвитку МБТ у вигляді артроспор, молекулів, коків, паличок, зеброподібних стебел тощо. Це дало нам можливість виявити й описати стадійність розвитку збудника туберкульозу в формених елементах крові. При дослідженні мазків крові окрашених за Романовським-Гімзе заражених збудником туберкульозу кролів, на 100-у добу ми спостерігали утворення лимоноподібних клітин в крові. В середині лимоноподібної клітини спостерігались скупчення кокоподібних утворень. Ми вважаємо, що молекули збудника туберкульозу в еритроциті починає розвивається, утворюючи кокоподібні форми всередині еритроцита, а сам еритроцит збільшується, набираючи округлої форми. Зменшення еластичності мембрани призводить до появи виростів на поверхні еритроцита. Таким чином, в кровоносному руслі при нормальних фізіологічних умовах еритроцит має форму двоопуклого диска з потовщенням по краях. В умовах зараження МБТ в нижній грануляції еритроциту проходить розвиток кокоподібних форм збудника туберкульозу, поки є надходження поживних речовин в еритроцит. В разі відсутності поживних речовин коковидні форми в одному місці лізують стінку еритроцита і виходять в плазму крові (рис. 1). При посіві такої крові на середовище ВЛАКОН отримано культуру збудника туберкульозу.

При вивченні цього процесу встановлено, що деякі інфіковані еритроцити збільшуються в 25 - 30 разів набираючи при цьому форму подовженого *гігантського еритроцита*. В певний період, коли гігантська клітина дозріває на ній утворюються перетинки, що поділяють клітину на декілька нерівномірних частинок (рис. 2). По наміченим перетинкам проходить дроблення на нерівномірні осколки. Як правило, при дробленні гігантської клітини (інфікованого еритроцита) утворюється уламок і одна кругла (кокоподібна) форма, з якого в сприятливих умовах виростає трубочка-промінь.

Що до утворених осколків з інфікованого еритроцита (рис. 3) то вони розходяться в плазму крові утворюючи при цьому структури овоїдної та круглої форми, що здатні виділяти зрілі форми збудника в плазму крові та розносити їх по всьому організму.

Виходячи з вищевикладеного можна сказати, що проникнення в еритроцит молекула може призвести до утворення гігантських еритроцитів в середині яких розвивається коковидна форма збудника туберкульозу. Зміни в крові збільшуються при збільшенні тривалості зараження і найбільші через 90 днів від зараження. В той же час розвиток і різноманітність форм не має лінійного прогресуючого характеру. В 10 (20%) тварин в еритроцитах зміни були відсутні. В 18 (45%) спостерігались зміни в сегментоядерних лейкоцитах: відсутність амебоподібного руху, наявність коковидних включень та ламкість стінки.

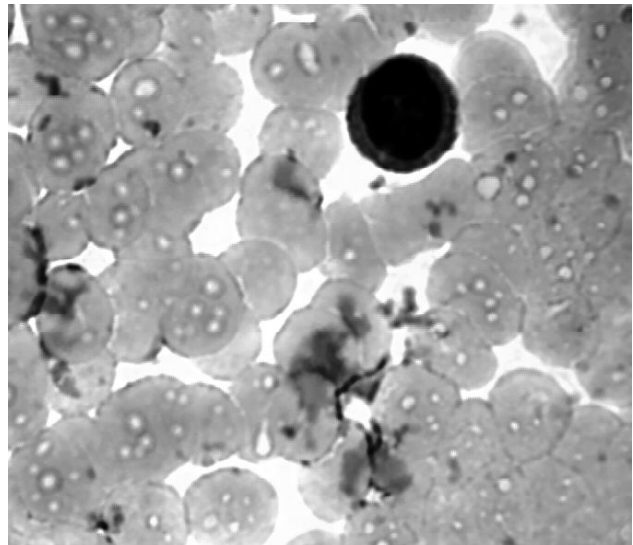


Рис. 1. Видозмінені форми клітин крові при інфікуванні *Mikobacterium bovis*, 60-ий день, x 1000.

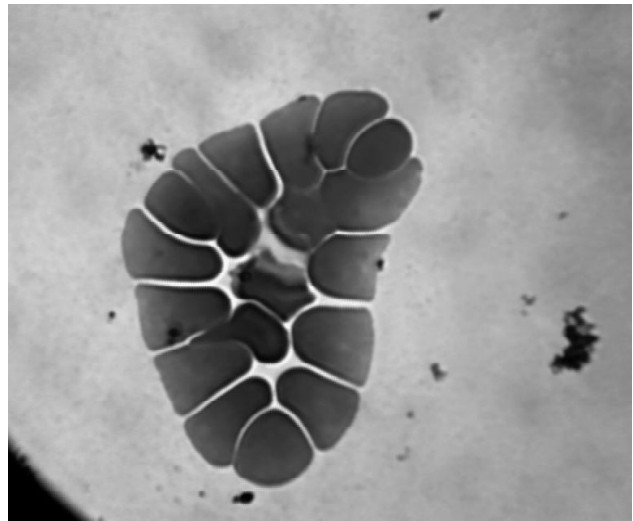


Рис. 2. Гігантський "еритроцит" та утворення перетинок.

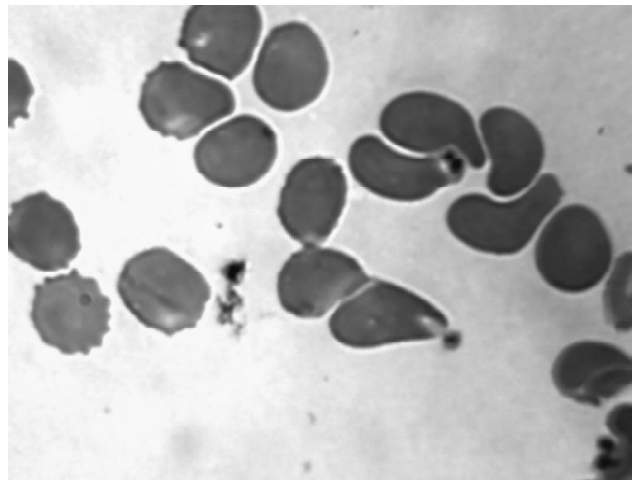


Рис. 3. Утворення з осколків структур овоїдної та круглої форми, що здатні виділяти зрілі форми збудника (макові зерна) в плазму крові.

Висновки та перспективи подальших розробок

1. Цифрова мікроскопія може бути з успіхом використана при оцінці патологічних змін елементів крові при інфікуванні *Micobacterium bovis*.

2. Запропонований метод високоспецифічний, простий у експлуатації, не потребує значних матеріальних чи фінансових витрат, нешкідливий для людей й екологічно безпечний для навколишнього середо-

вища.

3. Внутрішньоклітинні зміни елементів крові відображають стадії інфікування *Micobacterium bovis*, при збільшенні термінів зараження збільшується кількість і різноманітність змін.

Подальші дослідження можуть бути направлені на пошук форм, які розвиваються при подальшому перебігу хвороби, виявленні більш агресивних форм та ознак регресу захворювання туберкульозом.

Список літератури

До питання діагностики туберкульозу в тварин / Ю. Колос, В. Стець, В. Титаренко та ін. // Ветеринарна медицина України - 2006. - № 11. - С. 10-12.

Мельник В.М. Виявлення хворих на туберкульоз в Україні та за кордоном / В.М. Мельник, В.Г. Матусевич, П.М. Дорошенко // Журнал практичного лікаря. - 2006. - № 1. - С. 2-7.

Пат. України № 43467 / Власенко В.В., Багрий П.И. Стимулятор росту воз-

будителя туберкулеза "Ридын", питательная среда для выделения возбудителя туберкулеза, способ получения питательной среды, способ выделения возбудителя туберкулеза на питательной среде. Бюл. № 11.17.12.2001.

Толстанов О.К. Туберкульоз в Україні: Аналітично-статистичний довідник за 2001 - 2012 роки / О.К. Толстанов - Київ, 2013. - 128 с.

Фещенко Ю.І. Контроль за туберкульозом в умовах Адаптованої ДОТС-стратегії: учебное пособие / Ю.І. Фещенко, В.М. Мельник - Київ: Медицина, 2007. - 480 с.

Екологічний моніторинг при туберкулінодіагностиці крупного рогатого скота / В.В. Власенко, А.П. Лысенко, М.А. Дзюмак и др. // Агро-екологічний журнал. - 2003. - № 1. - С. 76-79.

Бабійчук Ю.В.

ВНУТРИКЛЕТЧНОЕ РАЗВИТИЕ ВОЗБУДИТЕЛЯ ТУБЕРКУЛЕЗА В СИСТЕМЕ КРОВИ

Резюме. Туберкулез сегодня является актуальной медико-социальной проблемой не только в Украине, но и во всем мире. Новый метод диагностики основан на изучении мазка крови и выявлении в системе крови стадии развития возбудителей туберкулеза, а в случае необходимости проводятся бактериологические исследования крови с использованием среды ВЛАКОН, на которой рост колоний можно получить за 2-3 суток. Целью нашей работы было усовершенствование экспресс-метода определения возбудителя туберкулеза в системе крови с использованием цифровой микроскопии. Исследование проведено на 50 кроликах породы Шиншилла. В опытную группу отобрано 40 кроликов, у которых вызван экспериментальный туберкулез. В контрольную отобрано 10 кроликов, которым ничего не вводилось. Проводилась цифровая световая микроскопия образцов крови. При микроскопии мазка в разные периоды в поле зрения появлялись разные агенты стадий развития микобактерий в виде артростор, молекул, кокков, палочек, зebroподобных стеблей. Молекул возбудителя туберкулеза в эритроците начинает развиваться образуя коккоподобные формы внутри эритроцита, а сам эритроцит увеличивается принимая округлую форму. Проникновение в эритроцит молекула может привести к образованию гигантских эритроцитов в середине которых развивается кокковидная форма возбудителя туберкулеза.

Ключевые слова: полиморфизм, экспериментальный туберкулез, цифровая микроскопия, эритроцит, внутриклеточное развитие.

Бабійчук І.В.

INTRACELLULAR DEVELOPMENT OF THE TUBERCULOSIS CAUSATIVE AGENT IN THE BLOOD SYSTEM

Summary. Tuberculosis is an urgent medical and social problem both in Ukraine and worldwide today. The new diagnostic method is based on studying of the blood smear and determination of the development stage of the TB causative agents in the blood system and if necessary bacteriological blood tests are performed using VLAKON medium in which the colony growth can be achieved in 2-3 days. The objective of our work was to improve the express method of determination of the TB causative agent in the blood system using digital microscopy.

Key words: polymorphism, experimental tuberculosis, digital microscopy, erythrocyte, intracellular development.

Стаття надійшла до редакції 30.9.2013 р.

Бабійчук Юрій Валерійович - к.мед.н., доцент кафедри хірургії медичного факультету №2 Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова; +38 067 961-16-68

© Цвинтарний А.В.

УДК: 616.12-008.3-079.96:572.037:616-071.3

Цвинтарний А.В.

ДВНЗ "Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України" (майдан Волі, 1, м. Тернопіль, Україна, 46001)

ВІКОВІ ОСОБЛИВОСТІ ЧАСОВИХ І АМПЛІТУДНИХ ПОКАЗНИКІВ РЕОВАЗОГРАМИ СТЕГНА У ЗДОРОВИХ МІСЬКИХ ЮНАКІВ І ДІВЧАТ

Резюме. У 148 практично здорових юнаків у віці від 17 до 21 року та 160 дівчат у віці від 16 до 20 років, у третьому поколінні