

УДК 619:616.98:579.873.21:57.083.32:636.5

ВИДОВА НАЛЕЖНІСТЬ МІКОБАКТЕРІЙ, ВИДІЛЕНИХ ВІД ТВАРИН У ДНІПРОПЕТРОВСЬКОЇ ОБЛАСТІ**ГЛЕБЕНЮК В.В.**, к. вет. н., доцент
ТЕЛІЖЕНКО К.В., студенткаДніпропетровський державний аграрно-
економічний університет
м. Дніпропетровськ1981vova0909@mail.ru

Наведено результати вивчення біологічних властивостей мікобактерій, виділених від тварин у Дніпропетровській області. Показано, що ізольовані культури належать до видів: *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium phlei*, *Mycobacterium xenopi* та *Mycobacterium vacca*. Дві (14,3 %) культури не вдалося ідентифікувати

Атипові мікобактерії, збудник туберкульозу, тварини, ідентифікація, біологічні властивості, Дніпропетровська область, лабораторна діагностика

Туберкульоз тварин значно поширений у більшості країн світу і завдає суттєвих економічних збитків тваринницьким господарствам, а інколи реально загрожує здоров'ю людини. Лабораторна діагностика відіграє важливу роль у комплексі заходів, які спрямовані на профілактику та боротьбу з туберкульозом тварин [2, 4, 6].

Згідно сучасної класифікації, мікобактерії відносять до порядку *Actinomycetales*, родини *Mycobacteriaceae*, роду *Mycobacterium*. Цей рід включає більше, ніж 30 видів мікобактерій, які широко розповсюджені у навколишньому середовищі. За впливом на організм тварин, розрізняють: патогенні види – *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. avium*, *M. africanum*, *M. leprae*, *M. paratuberculosis*, *M. microti*; умовно-патогенні – *M. kansasii*, *M. marinum*, *M. scrofulaceum*, *M. intracellulare*, *M. xenopi*, *M. ulcerans*, *M. fortuitum*, *M. chelonae*; непатогенні – всі інші види. Атипові (нетуберкульозні, анонімні) мікобактерії включають умовно-патогенні та непатогенні види [4].

Для ідентифікації виділених культур мікобактерій використовують бактеріологічний метод. Слід зазначити, що поряд із широким вибором бактеріологічних методів досліджень, значна частина виділених мікобактерій залишається за певних причин неідентифікованою [1, 8, 9]. Це може призводити до хибної інтерпретації результату лабораторних досліджень.

Мета досліджень – встановити видову належність мікобактерій, виділених від тварин у Дніпропетровській області.

Матеріал і методи досліджень. Дослідження виконувалися на базі навчально-дослідної лабораторії кафедри епізоотології та інфекційних хвороб Дніпропетровського державного аграрно-економічного університету.

Матеріалом для досліджень були мікобактерії 14 культур, виділені від тварин (великої рогатої худоби та мурчаків) у Дніпропетровській області.

У мікобактерій визначали: швидкість росту культур на живильному середовищі; характер, структуру та колір колоній; морфологію (колір, форма і величина клітин, наявність зернистості) та тинкторіальні властивості мікобактерій у препаратах, пофарбованих за методом Ціля-Нільсена; інтенсивність росту на щільному яєчному середовищі за різних температур культивування (20–22, 37 та 45 °С), на м'ясопептонному агарі, на середовищі зі саліцилатом натру; каталазну активність за методом Kubica G.P. et al. (1960); каталазну та пероксидазну активність за методом Першина Г.Н. та Зикова Т.Н. (1958); стійкість до 5 % хлористого натру за методом Kestle D. et al. (1967); гідроліз ТВІН–80 за методом Wayne G. (1962); редукцію нітратів за методом Tsukamura M. et al. (1966); акумуляцію заліза за методом Szabo J. et al. (1963).

Визначення патогенності та сенсibiliзую-

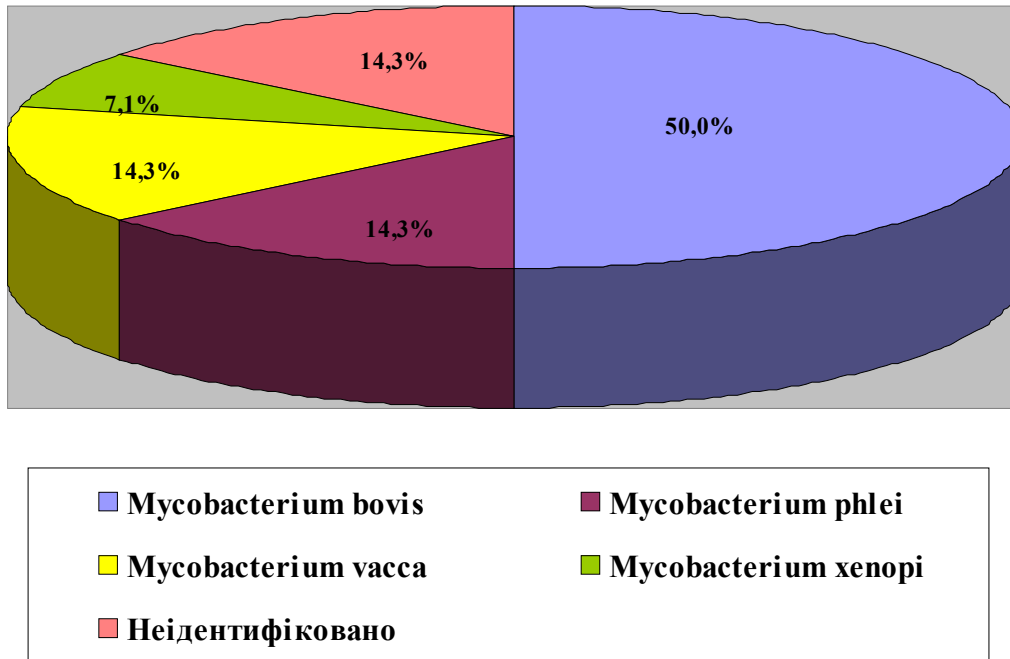


Рисунок. Частота виділення мікобактерій різних видів

чої властивості мікобактерій проводили за допомогою біологічної проби [5].

Визначення видової належності мікобактерій проводили за Sneath-методом. Для цього досліджувані культури порівнювали з визначником видів за індексом подібності [7].

Результати досліджень та їх обговорення. Після бактеріологічного дослідження біоматеріалу, відібраного від тварин, було виділено 14 культур. Мікобактерії всіх культур у препаратах, пофарбованих за методом Ціля-Нільсена, мали вигляд червоних паличок.

Ріст семи культур та референтних штамів Vallee, “Шахтар” спостерігався з 17-ї доби у вигляді колоній округлої форми з випуклою гладенькою поверхнею, рівними краями кольору слонової кістки. Через 15–30 діб після появи росту, при “старінні” культури, спостерігався перехід S-форми колоній у R-форму: навколо колоній спостерігався вузький матовий обідок із чітко вираженими нерівними краями. У мазках із колоній культур, після фарбування за Цілем-Нільсеном, спостерігалися кислотостійкі короткі товсті палички, довжиною 0,5–1,0 мкм і шириною 0,2–0,3 мкм без вираженої грануляції. Окрім цього, у мазках із двох культур виявлялись й коковидні форми.

Виділені культури та референтні штами не

росли за кімнатної температури та 45 °С, на м'ясо-пептонному агарі, на яєчному середовищі з 5 % хлоридом натру та на середовищі зі саліцилатом натру в концентрації 1,0 мг/см². Проте дві культури утворювали поодинокі колонії на середовищі зі саліцилатом натру в концентрації 0,5 мг/см². Вони не редукували нітрати та гідролізували ТВІН-80.

У мурчаків, заражених культурами та референтними штамми, через 7–10 діб утворювалася виразка, відмічалася прогресуюче виснаження. Тварини впродовж дослідження реагували на введення туберкуліну для ссавців, а на розтині відмічалися специфічні для туберкульозу ураження внутрішніх органів. За результатами дослідження біологічних властивостей мікобактерій сім культур були віднесені до *Mycobacterium bovis*.

Дві культури росли на живильному середовищі з 3 до 7-ї доби у вигляді колоній сіруватого або жовтого кольору. Вони добре росли на середовищі зі саліцилатом натру в концентрації 0,5 та 1,0 мг/см² за кімнатної температури. Культури мали каталазну активність, гідролізували ТВІН-80, не акумулювали лимонно-аміачне залізо та були толерантними до 5 % хлористого натру. Культури обумовлювали у морських свинок сенсibiliзацію до туберку-

ліну для ссавців, однак вони були непатогенними для них. За результатами дослідження біологічних властивостей дві культури були віднесені до *Mycobacterium vacca* (рисунок).

Інші дві культури росли на живильному середовищі з 3-ї доби у вигляді округлих колоній S-форми жовтого кольору слизової консистенції. Крім того, росли на живильному середовищі за кімнатної температури та 45 °С, на середовищі зі саліцилатом натру в різних концентраціях, на м'ясо-пептонному агарі. Культури були стійкі до 5 % хлориду натру, мали позитивну каталазну активність, редукували нітрати, гідролізували ТВІН-80 і акумулювали лимонно-аміачне залізо. Культури не були патогенними для мурчаків однак обумовлювали їх сенсibilізацію до туберкуліну для ссавців. За результатами дослідження біологічних властивостей дві культури були віднесені до *Mycobacterium phlei*.

Одна культура утворювали колонії з кінця першого – початку другого тижня культивування. Колонії мікобактерій були сірого кольору, мали кратероподібну форму, а у центрі – випуклу частину, від якої відходив широкий обідок з шорсткою поверхнею. Культура росла на живильному середовищі за кімнатної температури та 45 °С, на середовищі зі саліцилатом натру в різних концентраціях та на м'ясо-пептонному агарі. Вона мала каталазну активність, не редукувала нітрати, акумулювала залізо, гідролізувала ТВІН-80 та не була толерантною до 5 % хлориду натру. Культура обумовлювала у морських свинок сенсibilізацію до туберкуліну для ссавців, однак була непатогенною. За результатами дослідження біологічних

властивостей культуру було віднесені до *Mycobacterium xenopi*.

Дві культури росли у вигляді колоній R-форми (нерівні краї та шорстка поверхня), сіруватого кольору. Вони росли на живильному середовищі за кімнатної температури та 45 °С, на середовищі зі саліцилатом натру в різних концентраціях. Одна культура мала нітратредуктазну та каталазну активність, гідролізувала ТВІН-80, не акумулювала лимонно-аміачне залізо та не була толерантною до 5 % хлористого натрію. Інша культура мала каталазну активність, акумулювала лимонно-аміачне залізо, гідролізувала ТВІН-80, не редукувала нітрат натру та не була толерантною до 5% хлористого натру. Обидві культури обумовлювали у мурчаків сенсibilізацію до туберкуліну для ссавців та були непатогенними для них. На підставі проведених досліджень їх було віднесено до неідентифікованих. У літературних даних також зустрічаються повідомлення про незначну кількість культур, які залишаються неідентифікованими [1, 3, 8, 9].

Таким чином, при проведенні ідентифікації 14 культур мікобактерій встановлено їх належність до чотирьох видів (*Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium phlei*, *Mycobacterium xenopi*, *Mycobacterium vacca*).

Висновок: із 14 культур мікобактерій, виділених з біоматеріалу тварин Дніпропетровської області, сім віднесено до *M. bovis* та сім – до атипових мікобактерій (*M. phlei*, *M. xenopi*, *M. vacca* та дві неідентифіковані).

Перспективи досліджень полягають у проведенні молекулярно-генетичного аналізу ідентифікованих мікобактерій.

ЛІТЕРАТУРА

1. Гертман М.И. Выделение Л-форм микобактерий из молока коров / М.И. Гертман, Л.В. Галатова, А.А. Петров // Ветеринария. – 1990. – № 6. – С. 30–31.
2. Зеленська М.В. Ліпідний склад та вірулентність *Mycobacterium bovis*, виділених від великої рогатої худоби степової зони України: дис. ... канд. вет. наук : 16.00.03 / Зеленська Марина Володимирівна. – Одеса, 2006. – 164 с.
3. Кравченко Н.О. Деякі фенотипові характеристики гомолічних за сіквенсами гена 16S р рнк штамів *M. fortuitum*, виділених від тварин у зоні полісся України / Н.О. Кравченко, Г.М. Дяченко // Ветеринарна медицина України. – 2007. – № 10. – С. 26–28.
4. Лабораторна діагностика туберкульозу тварин : практичний посібник / [Ткаченко О.А., Білан М.В., Зажарський В.В., Ковальова Л.О.]. – Дніпропетровськ : Вид-во “Свідлер А.Л.”, 2010. – 208 с.
5. Настанова по діагностиці туберкульозу /

- В.М. Манченко, З.Р. Троценко, М.С. Павленко та ін. – Київ, 1994. – № 9. – 25 с.
6. Ткаченко О. Швидкоростучі *M. bovis* у проблемі туберкульозу / О. Ткаченко // Ветеринарна медицина України. – 2004. – № 7. – С. 14–17.
 7. Туберкулез сельскохозяйственных животных / [А.М. Колычев, Ю.Я. Кассич, О.В. Мартма и др.]; под ред. В.П. Шишкова, В.П. Урбана. – М.: ВО "Агропромидат", 1991. – 255 с.
 8. Яворська Г. Ферментативна активність штамів *Mycobacterium tuberculosis*, виділених від хворих на туберкульоз легень / Г. Яворська // Вісник львівського університету: серія біологічна. – 2001, № 29. – С. 204–209.
 9. Clinical and microbiological assessment of *Mycobacterium simiae* isolates from a single laboratory in southern Arizona / Rynkiewicz D.L., Cage G.D., Butler W.R., Ampel N.M. // CID. – 1998. – № 26. – P. 625–630.

ВИДОВАЯ ПРИНАДЛЕЖНОСТЬ МИКОБАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ ЖИВОТНЫХ В ДНЕПРОПЕТРОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Глебенюк В.В., Телиженко К.В.

Днепропетровский государственный аграрно-экономический университет, г. Днепропетровск

*Представлены результаты изучения биологических свойств микобактерий, выделенных от животных Днепропетровской области. Показано, что изолированные культуры принадлежат к видам: *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium phlei*, *Mycobacterium xenopi* и *Mycobacterium vacca*. Две (14,3 %) культуры не было идентифицировано*

Атипические микобактерии, возбудитель туберкулеза, животные, идентификация, биологические свойства, Днепропетровская область, лабораторная диагностика.

SPECIES AFFILIATION OF MYCOBACTERIUM ISOLATED FROM ANIMALS IN THE DNIPROPETROVSK REGION

V. Glebenyuk, K. Telijenko

Dnipropetrovsk State Agrarian and Economic University, Dnipropetrovsk, Ukraine

*The purpose study was to determine the species of mycobacterium isolated from animals in the Dnipropetrovsk region. The article presents the results of studying the biological properties (morphology, tinctorial, cultural, biochemical properties and pathogenicity) of mycobacterium. It is shown that the isolated culture belong to the species: *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium phlei*, *Mycobacterium xenopi* and *Mycobacterium vacca*. Two (14.3%) of the culture were not identified*

Atypical mycobacterium, mycobacterium tuberculosis, animals, identification, biological properties, Dnipropetrovsk region, laboratory diagnostics