

21. Hammond J. The physiology of reproduction in the cow. Univ. Press, Cambridge. – 1927.
22. Hofliger H. Das ovar ole Pindes in den veschiedenen Lebensperioden under besonderer Berucks sichtigung sciner fundionellen Feistruetur. S. Karger, Basel, N.V. – 1948.
23. Mesnil du Buisson F.D., Danjier L. Controlen mutuel de luterus et de lovarie chez la truie. Ann. Inst. nat. rech. Agron., D.S. guppl.: 147. – 1959.

УДК 619:616.98:579.873.21:57.083.32:636.5

Ковальов А.В.

### ВЛАСТИВОСТІ ДИСОЦІАТИВНИХ ФОРМ *M. BOVIS*, КУЛЬТИВОВАНИХ НА ПРОСТИХ ЖИВИЛЬНИХ СЕРЕДОВИЩАХ

*Житомирський національний агроєкологічний університет*

*Рецензент – кандидат ветеринарних наук, доцент Сосницький О.І.*

**Ключові слова:** *микобактерии, простые питательные среды.*

Глобальне розповсюдження туберкульозу тварин та людини у світі, в супереч багаторічному вивченню збудника хвороби, розробці профілактичних заходів (в т.ч. специфічної профілактики інфекції у людини), зумовлено високою здатністю мікобактерій змінюватися, що забезпечує їм виживання в природі [4, 9, 11]. Найбільш вивченими, звичайно у відносному розумінню, окрім класичних кислотостійких форм, є L-форми збудника [6]. Менше вивченими є ультрадрібні (фільтривні) форми та практично не вивчені елементарні тільця.

Значення останніх не з'ясовано не тільки в біологічному циклі розвитку мікобактерій, а й в етіології захворювання [4, 6, 7].

В той же час практично відсутні повідомлення про біологічні властивості дисоціативних форм збудника туберкульозу і зокрема *M. bovis*, які ростуть на простих живильних середовищах.

Повідомлено [1 – 3, 5, 7], що відщеплені від вірулентної культури *M. bovis* дисоціативні форми в умовах низької плюсової температури на щільному яєчному живильному середовищі ростуть на 2 добу культивування, утворюють пігмент,

розмножуються на середовищі з 1 мг/см<sup>3</sup> саліциловокислого натру, вміщують 1,5–2,5 % ліпідів, володіють вираженою дегідрогеназною, каталазною, пероксидазною активністю, не викликають туберкульозу у морських свинок.

Встановлено [10], що такі форми мікобактерій перших субкультур ростуть розпочинаючи з 2-ї доби на агарі та в бульоні за температури в діапазоні від 3 °С до 37 °С культивування. Проте даних про зміни культуральних властивостей дисоціативних форм *M. bovis* в динаміці пасажів за різних температур культивування в доступній нам літературі не знайдено.

Тому метою роботи було дослідити культуральні, тинкторіальні властивості та морфологічні ознаки багаторазово пасажованих (через середовище Левенштейна-Йєнсена) *M. bovis* дисоціативних форм при культивованні за різних температур на простих живильних середовищах.

Матеріали та методи. Роботу виконували в навчально-дослідній лабораторії кафедри епізоотології ДДАУ в 2011 – 2013 рр.

Для досліджень використали *M. bovis* вірулентного штаму, субкультури 4-рьох варіантів їх дисоціативних форм, які селекційовані і вивчаються співробітниками

кафедри та середовища: щільний м'ясо-пептонний агар (МПА), м'ясо-пептонний бульон (МПБ), Левенштейна-Йенсена.

З досліджуваних культур, які пасажували через середовище Левенштейна-Йенсена та культивували паралельно за 3 і 37 °С готували завис мікобактерій та мазки, що фарбували за методом Ціля-Нільсена з наступною мікроскопією. Потім проводили висів мікроорганізмів кожного варіанту, в тому числі вірулентного штаму на кожне середовище (по одній пробірці) та щоденний облік росту культур за 3 °С і 37 °С впродовж 7-ми діб. З одержаних культур готували

мазки й вивчали під імерсією мікроскопу в порівняльному аспекті морфологію та тинкторіальні властивості змінених форм мікобактерій [5, 8].

*M. bovis* вірулентної материнської 100-ї субкультури використали для контролю.

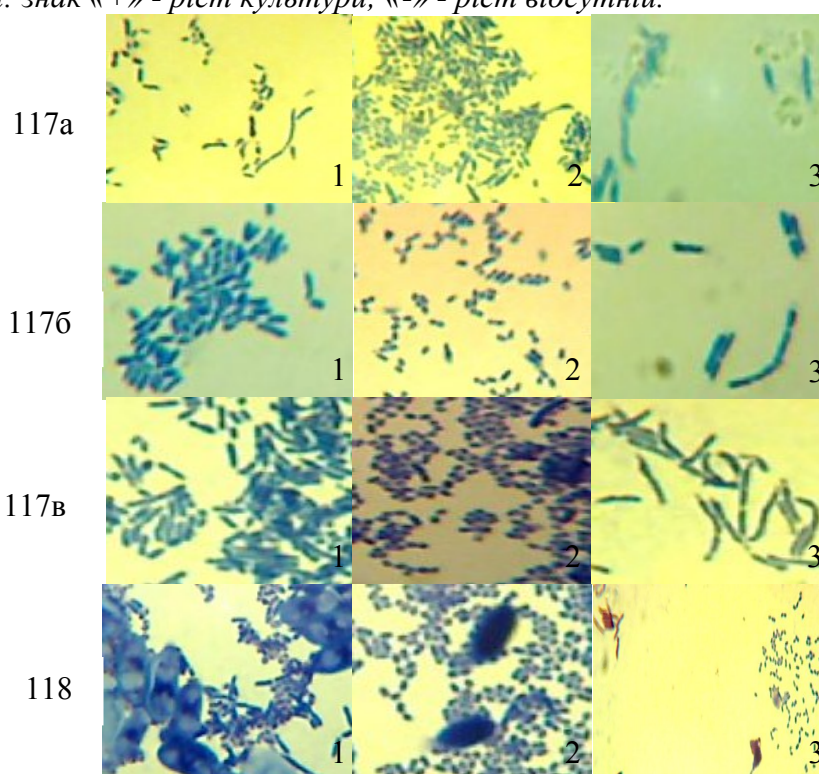
Результати досліджень.

Встановлено, що на другу добу культивування за 3 °С (табл.) всі досліджувані варіанти дисоціативних форм проявляли ріст на МПА у вигляді світло-сірої культури по лінії посіву, яка мала тенденцію до збільшення в часі.

### Ріст дисоціативних форм *M. bovis* на простих живильних середовищах

Температура культивування	МПА					МПБ				
	конт-роль	117а	117б	117в	118	конт-роль	117а	117б	117в	118
3 °С	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+
37 °С	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

*Примітка:* знак «+» - ріст культури; «-» - ріст відсутній.



**Рис. Дисоціативні форми *M. bovis* культивовані за 3 оС: 117а, 117б, 117в, та 118; середовище: (1) Левенштейна-Йенсена; 2 – МПА; 3 – МПБ. х 1300**

В бульйоні ріст культури в такий же термін відмічено у вигляді осаду та слабого помутніння (за струшування), проте плівка не формувалася. За температури 37 °С дисоціативні форми *M. bovis* досліджуваних варіантів росту не проявили ні на МПА ні на МПБ.

В контролі *M. bovis* вірулентного штаму також не росли.

Через сім діб культивування за 3 °С відмічено збільшення інтенсивності росту культури на МПА та МПБ з появою плівки на поверхні останнього.

Під імерсією, в мазках, приготовлених з виділених культур, одержаних за 3 °С, виявлено (рис.), що мікобактерії, 117а варіанту мікобак-терій в порівнянні з вихідною культурою, розмножуючись на МПА генерують подібні морфологічні некіслотостійкі форми – некіслото-стійкі переважно зерна й, недосить часто, видовжені зігнуті зернисті палички (зерна як пра-вило на кінцях). В МПБ виявлено дещо інші форми: на фоні домінування товстих і довгих із зернами некіслотостійких зігнутих паличок поодинокі некіслотостійкі зерна.

В субкультурі 117 б генерації також спостерігалася певна залежність морфології клітин від середовища. Якщо вихідна культура на середовищі Левенштейна-Йенсена формувалася некіслотостійкими короткими й більш довгими паличками, то на МПА – переважно, також некіслотостійкими але зернами, в бульйоні – короткими та довгими (ниткоподібні) некіслотостійкими паличками.

Мікобактерії 117 в генерації також відрізнялися в залежності від умов культивування. На вихідному середовищі – це некіслотостійкі довгуваті (зернисті) палички та зерна, на МПА – переважно некіслотостійкі зерна й подекуди (рідко) зернисті некіслотостійкі палички, у МПБ – некіслотостійкі довгуваті зернисті палички.

Мікобактерії 118 вихідної субкультури на середовищі Левенштейна-Йенсена в рівному ступені характеризувалися наявністю L-форм, синіх зерен, які звільняються з овалів (L-форм) та поодиноких некіслотостійких паличок. На

МПА відмічено суттєве домінування некіслотостійких зерен та присутність поодиноких L-форм.

В той же час у субкультурі МПБ виявлено некіслотостійкі зерна, палички, інколи довгі але поодинокі кислотостійкі палички.

Отже на МПА в основному генеруються некіслотостійкі зерна, в МПБ – переважно паличковидні, хоча виявляються й клітини у вигляді зернистих форм. Це ж середовище (останнє) більш благоприємне для реверсії некіслотостійких форм (хоча й рідко) в кислотостійкі мікобактерії: з чотирьох досліджених дисоціантів тільки серед одних (L-форм) встановлене таке явище.

Водночас досліджуючи ці ж субкультури мікобактерій тільки з 5 по 15 генерацію, про що повідомлено нами в 2012 році [10] відмічено ріст субкультур на досліджуваних середовищах за 3 і 37 °С. Мікроскопією виявлялися некіслотостійкі мікобактерії з дещо іншою морфологією.

Дослідження стверджують поступову адаптацію дисоціативних форм *M. bovis* до розмноження на простих живильних середовищах в умовах низьких плюсових температур (3 °С) при одночасній втраті можливості розмножуватися за температури 37 °С, тобто умови довкілля змінили біохімічну (а відтак і біологічну) активність досліджуваних мікобактерій, яка притаманна великій групі атипичних мікобактерій. Проте жоден вид відомих мікобактерій, в тому числі й атипичних не володіє здатністю розмножуватися за температури 3 °С. Це свідчить про невідомі властивості мікобактерій, які можуть визначати проблему туберкульозу взагалі.

**Висновки.** 1. На простих живильних середовищах дисоціативні форми *M. bovis* 50-ї субкультури проявляють ріст тільки за 3 °С на другу добу культивування з наступним збільшенням інтенсивності росту: на МПА – світло-сіра культура по лінії посіву; в МПБ – осад та слабке помутніння з утворенням плівки на 7-му добу.

2. Морфогенез дисоціативних форм *M. bovis* залежить від середовища: на МПА генеруються переважно некіслотостійкі

зерна; в МПБ – некислотостійкі паличковидні елементи.

### Література.

1. Біологічні властивості дисоціативних форм *M. bovis*: культуральні особливості за температур 3 і 37 °С / О.А. Ткаченко, М.В. Білан, В.В. Місків [та ін.] // Ветеринарна медицина України. – 2010. – №3. – С. 33–35.
2. Біологічні властивості дисоціативних форм *M. bovis*: морфологічні ознаки та тинкторіальні властивості за температур 3 та 37 °С / О.А. Ткаченко, М.В. Білан, В.В. Зажарський [та ін.] // Ветеринарна медицина України. – 2010. – №12. – С. 27–30.
3. Давиденко П.О. Сенсibiliзувальні, вірулентні властивості та ліпідний склад *M. bovis*, багаторазовопасажованих через щільне живильне середовище з рН 7.1 / П.О. Давиденко, М.В. Білан, О.А. Ткаченко // Ветеринарна медицина України. – 2010. – №2. – С. 20–22.
4. Вейсфейлер Ю.К. Біологія и изменчивость микобактерий туберкулеза и атипичные микобактерии / Ю.К. Вейсфейлер. – Будапешт: Из-во АН Венгрии, 1975. – 336 с.
5. Лабораторна діагностика туберкульозу тварин: [Практичний посібник] / О.А. Ткаченко, М.В. Білан, В.В. Зажарський, Л.О. Ковальова. – Дніпропетровськ: видавництво «Свідлер А.Л.», 2010. – 208с.
6. L-форми микобактерий туберкулеза / под. ред. З.Н. Кочемасовой. – М.: Медицина, 1980. – 165с.
7. Морфологічні аспекти реверсії некислотостійких ниткоподібних *M. bovis* в бактеріальну кислотостійку форму / О.А. Ткаченко, О.Є. Галатюк, М.В. Білан [та ін.] // Сучасні проблеми туберкульозу в Україні: причини та шляхи їх подолання: наук.-практ. конф., 27-28 лист. 2008 р.: збірник наук. праць. – К., 2008. – С. 149-153.
8. Настанова по діагностиці туберкульозу /В.М.Манченко, З.Р.Троценко, М.С. Павленко та ін. – Київ, 1994.–39 с.
9. Ткаченко О.А. Швидкоростучі *M. bovis* у проблемі туберкульозу / Ткаченко // . – Ветеринарна медицина України. – 2004. - № 7. – С. 14-17.
10. Особливості культуральних, тинкторіальних та морфологічних ознак *M. bovis* дисоціативних форм культивованих на простих живильних середовищах / О.А. Ткаченко, О.М. Кулішенко, А.В. Ковальов, О.Є. Галатюк // Вісник Житомирського національногоагроєкологічного університету. – 2012. – №1 (35). – Т. 3.4.1. – С. 222-228.
11. Туберкулез животных и меры борьбы с ним [под ред. Ю. А. Кассича]. – К.: Урожай, 1990. – 304 с.
12. Туберкулез сельскохозяйственных животных / [В.И.Ротов,П.И. Кокуричев, П. Е. Савченко, Ю. А. Трач].— К.: Урожай, 1978. –237 с.