

УДК 619:576.8.078:616-025

**Власенко В.В.\*, Власенко І.Г.,\*\*Войціцька О.М.\*<sup>©</sup>****\*Вінницький національний аграрний університет****\*\*Вінницький торгівельно-економічний університет КНТУ****ВИКОРИСТАННЯ СЕРЕДОВИЩА «ВІНТУБ» ДЛЯ ВИЯВЛЕННЯ  
АДАПТИВНИХ ФОРМ ЗБУДНИКА ТУБЕРКУЛЬОЗУ**

У даній статті розглядається одна із причин реагування на туберкулін великої рогатої худоби в благополучних стадах та шляхи прискореного виявлення латентної туберкульозної інфекції у тварин з використанням середовища ВІНТУБ і моноспецифічного набіру антисироваток.

**Ключові слова:** туберкульоз, середовище ВІНТУБ, моноспецифічні антисироватки, алергія.

Протягом тривалого періоду вивчення збудників туберкульозу ссавців були накопиченні дані про значний поліморфізм мікобактерій. Однак через складності культивування, і виявлення змінених форм збудника туберкульозу ці дані не знайшли достойного практичного застосування. Завдяки дослідженням В.В. Власенко (1998) і розробці поживного середовища ВКГ з'явилась можливість культивування і виявлення збудника туберкульозу зі зниженою життєздатністю і ферментативною активністю [1]. Встановлено, що на поживному середовищі ВКГ мікобактерії туберкульозу проходять декілька морфологічно відмінних стадій розвитку – фільтрувальні форми, шароподібні, амебоподібні утворення, коки і поліморфні палички, які не фарбуються по Ціль-Нільсену. При несприятливих умовах дані структури можуть утворювати протопласти і гіантські клітини, а при сприятливих – синтезувати щось подібне восково-ліпідній оболонці, що робить їх помітними при мікроскопії у вигляді диплококів.

Особливий інтерес представляє отримання росту на середовищі ВКГ препаратів, інактивованих автоклавуванням і тих, що містять до 0,5% фенола. Встановлено, що автоклавована культуральна рідина *M. bovis* 8 давала на середовищі ВКГ ріст дрібних кокоподібних колоній. В мазках виявляли поодинокі, подовжені і «надірвані» рубіново-червоні палички на фоні синіх поліморфних паличок та коків [2]. Подібний ріст давали всі досліджувані препарати туберкулінів для ссавців вітчизняних та зарубіжних виробників. Таким чином, дія високих температур в режимі автоклавування не викликає повної стерилізуючої дії на мікобактерії, що містяться в культуральній рідині *M. bovis* 8. Метою наших досліджень було вивчення ймовірності інфікування тварин життєздатними структурами, що знаходяться в туберкуліні при його діагностичному введенні тваринам, з використанням нового поживного середовища ВІНТУБ і діагностичного набору антисироваток в пластинчастій реакції аглютинації.

**Матеріали та методи.** Об'єктом дослідження послужив ППД туберкулін для ссавців виробництва Курської біофабрики серії 29, який після інкубації в суміші із стимулятором росту в терmostatі при 37°C протягом 48 годин, висівали в чашки Петрі із середовищем ВІНТУБ. Ріст на середовищі ВІНТУБ спостерігали на 2-7 добу у всіх пробах у вигляді суцільного воскоподібного нальоту. При фарбуванні за Ціль-Нільсеном переважали сині палички та коки, зустрічались також червоні палички з синьою зернистістю, сині палички з червоною зернистістю та інші морфологічні форми. В мазках виготовлених із 25 денної культури, виявляли класичні по морфології палички. При пересіванні отриманих культур із середовища ВІНТУБ на середовище Гельберга через 45 днів був отриманий характерний для *M. bovis* ріст. В мазках пофарбованих по Ціль-Нільсену, виявлені тонкі, ніжні палички яскраво-рожевого кольору на фоні синіх паличок та коків.

Не менш важливий інтерес представили результати біопроби на п'яти морських свинках. Морським свинкам ввели суспензію мікроорганізмів знятих із середовища ВІНТУБ після посіву туберкуліну, приготовлену на мінеральному маслі в дозі 1 мл підшкірно. Протягом двох місяців вели щоденне спостереження за станом здоров'я морських свинок. Під кінець другого місяця провели туберкулінову пробу. З цією метою їм вводили 0,1 мл стандартного розчину ППД туберкуліну для ссавців Курської біофабрики серії 29 з активністю 100 МЕ. Облік реакції проводили через 24 години.

Для виявлення можливого впливу елементів, що містяться в туберкуліні, здатних до репродукції в організмі тварин, провели дослід на 100 коровах різного віку і фізіологічного стану. Для цього від цих корів відбирали кров до і після туберкулінізації (через 72 години), і проводили посів крові на поживне середовище ВІНТУБ з дослідженням в реакції аглютинації.

В результаті проведеного досліду був отриманий слідуючий результат:

Таблиця 1

**Результат дослідження на морських свинках**

№ п/п	Вага свинок до зараження, г	Вага свинок після зараження, г.	Результат туберкулінової проби, розмір еритеми вмм.
1	720	700	22
2	310	285	27
3	350	330	0
4	370	345	0
5	380	354	0

Із таблиці 1 видно, що дві морські свинки, заражені суспензією мікроорганізмів знятих із середовища ВІНТУБ після посіву туберкуліну, приготовленою на мінеральному маслі в дозі 1 мл підшкірно, були сенсибілізовані, і при введенні їм діагностичної дози туберкуліну на місці введення утворилася чітко виражена еритема.

Таблиця 2

**Результат дослідження на коровах.**

№ п.п	Інвертарний номер	До туберкулінізації		Після туберкулінізації	
		Ріст на середовищі ВІНТУБ	РА с.а.с. M.Bovis	Ріст на середовищі ВІНТУБ	РА с.а.с. M.Bovis
Дійні					
1	6293	-	-	+	+++
2	6274	-	-	-	-
Сухостійні					
3	6201	-	-	-	-
4	6680	-	-	-	-
5	7957	-	-	+	++++
6	6574	-	-	-	-
Нетелі					
7	6153	-	-	+	+++
8	6189	-	-	+	+++
9	6114	-	-	-	-
10	6248	-	-	-	-
<b>ИТОГО</b>		-	-	4 (40%)	4 (40%)

Примітка:

А.с.\* - антисироватка

Із таблиці 2 видно, що при посіві крові великої рогатої худоби, взятої до туберкулінізації, росту на середовищі ВІНТУБ і позитивних реакцій не спостерігалось. В той же час при дослідженні проб крові від тих же корів через 72 години після введення діагностичної дози туберкуліну, на середовищі ВІНТУБ спостерігався характерний ріст у вигляді суцільного сіро-бліого воскоподібного нальоту і у вигляді окремих колоній S-форми, блискучих, сіро-бліого кольору. В пластинчатій реакції аглютинації, із застосуванням моноспецифічної сироватки до мікобактерій *M. bovis* 8, з культурами, що вирости, був отриманий чіткий крупнозернистий аглютинат, з повним просвітленням рідини, з оцінкою ++++.

Після туберкулінізації, у 40% із числа досліджених корів був виявлений ріст на середовищі ВІНТУБ, що свідчить про те, що, можливо, планове поголовне алергічне дослідження тварин із застосуванням ППД туберкуліну являється однією з причин персистування збудника туберкульозу у тварин і постійного виявлення реагуючих тварин в благополучних стадах.

Крім того, отримані результати вказують на ймовірність існування адаптивних форм збудника туберкульозу, стійких до дії високих температур, і доцільність застосування середовища ВІНТУБ для отримання культур цих форм від різних біологічних об'єктів, в тому числі і з крові тварин.

#### **Висновки:**

1. Адаптивні форми туберкульозу стійкі до впливу високих температур, зберігаючи свою життєдіяльність.
2. Планове поголовне алергічне дослідження тварин із застосуванням ППД туберкуліну, можливо, являється однією з причин персистування збудника туберкульозу у тварин.

3. Середовище ВІНТУБ і діагностичний набір анти сироваток з високою вірогідністю визначають наявність адаптивних форм збудника туберкульозу в різних біологічних об'єктах.

### **Література**

1. Власенко В.В. Микробиологія туберкулеза в фокусе проблем современности. – Винница: «Гипанис», – 1999 – 224 с.

2. А.П. Лысенко, В.М. Безгин, В.Е. Козлов, А.Н. Притыченко. Получение высокоактивного и специфичного аллергена для массовой диагностики туберкулеза у крупного рогатого скота с помощью ультрафильтрации // Ветеринарная медицина Беларуси. – 2001-2002. - №4-1. – С. 12-14.

### **Summary**

*In given article rates one of the reasons of occurrence of reacting cattle in safe herds, and as ways of the accelerated revealing of the latent tubercular infection at animals with application of VINTUB environment and a monospecific set of antiwheys is considere.*

**Key words:** *tuberculosis, medium VINTUB, monospecificantiwheys, allergy.*

Рецензент – д.б.н., професор Маслянко Р.П.