

УДК: 619:616.:21.Т:636.22/28

## ОЦІНКА СТУПЕНЮ ВІРУЛЕНТНОЇ ІНТЕНСИВНОСТІ ЛІОФІЛЬНИХ КУЛЬТУР *M.avium*

**Ю.В. Андрієнко**, науковий співробітник лаб. вивчення хвороб птиці і мікробіології  
ОДС ННЦ "ІЕКВМ"

*В статті наведені результати біологічного дослідження штамів *M.avium*, які зберігались понад 30 років в ліофільному стані. Вивчено можливість підвищення вірулентної інтенсивності культур після проведення двох послідовних пасажів в живій системі(на курах).*

**Ключові слова:** штам, ліофілізація, мікобактерії, вірулентність.

**Вступ.** Дані обширних дослідів Виллеміна довели, що туберкульозний матеріал у заражених ним кролів і морських свинок викликав захворювання туберкульозом. Однак до цього часу збудник захворювання туберкульозу ще не був відкритий, а тільки отримання Р.Кохом достовірних даних при зараженні експериментальних тварин чистою культурою мікроба, ізольованого з туберкульозного матеріалу, дало можливість визначити туберкульоз, як інфекційну хворобу. В залежності від видової резистентності тварин той чи інший вид туберкульозних мікобактерій являється або нешкідливим, або дуже небезпечним для даного виду тварин [1]. Ступінь вірулентності являється складною функцією, яка обумовлена біологічними функціями мікробів, резистентністю макроорганізмів чутливих до тих чи інших видів мікробів, віком і умовами утримання тварин. Тому визначати вірулентність необхідно на декількох тваринах одного виду, віку та з однаковою вагою. Вірулентність мікроорганізмів послаблюється при: культивуванні мікробів за високих температур, постійних пасажах на живильних середовищах (при нечастих пересівах живильне середовище втрачає поживні речовини і накопичує продукти обміну, які шкідливо діють на мікроорганізми, при цьому змінюючи рН середовища) та ліофільне висушування. Підвищення вірулентності досягається пасажем збудника на особливо чутливих видах для даного мікроорганізму тварин (наприклад, птиця дуже чутлива до мікобактерій туберкульозу пташиного виду) [2]. В лабораторних умовах у курей заражених внутрішньовенно збудником туберкульозу *M. avium* в дозі 1,0 та 0,1мг розвивається генералізований септичний процес, який в більшості випадків починається на 21 добу після зараження і призводить до загибелі. На розтині макроскопічні видимі специфічні для туберкульозу ураження в органах відсутні, однак спостерігається збільшення розмірів печінки і селезінки. Частина штамів *M. avium* обумовлює десимінований туберкульозний процес і загибель птиці в більш пізні строки. Вірулентність мікобактерій туберкульозу, як і у всіх інших патогенних мікроорганізмів, являється самою важливою властивістю для зберігання виду [3].

Закріплення вірулентності на необхідному рівні необхідно для отримання стандартних по своїм властивостям вакцин та іншого вихідного продукту з біоматеріалу.

**Мета роботи.** Вивчення вірулентних властивостей ліофілізованих культур *M. avium* біологічним методом (на курах).

**Матеріали та методи досліджень.** Для роботи було відібрано 7 штамів культур *M. avium*, які були виділені в 70-і роки минулого сторіччя з лімфатичних вузлів великої рогатої худоби та свиней і піддані ліофілізації. Через 30 років культури були активовані шляхом пасажів на елективне живильне середовище Гельберга та на лабораторних тваринах (кури).

Для накопичення бактеріальної маси культури висівали на середовище Гельберга та інкубували в термостаті за температури 37°C протягом 30 діб. З отриманої бактеріальної маси готували завись. Бактеріальну масу кожної культури відбирали бактеріологічною петлею в окремі стерильні колби з бусами і готували завись в концентрації 1мг в 1см<sup>3</sup> фізіологічного розчину. Для отримання однорідної зависі колби з бактеріальною масою ретельно струшували після чого отриману завись набирали в одноразові шприці для проведення другого пасажу на піддослідних курах. Як в першому так і в другому пасажі в досліді було по 14 курей п'ятимісячного віку. Завись кожної культури вводили двом курам внутрішньовенно при першому пасажі в дозі 1,0 г, при другому - 0,1г на голову.

**Результати досліджень.** При алергічному дослідженні курей ППД-туберкуліном для птиці відмічались позитивні реакції протягом всього досліду. При першому пасажі із 7 курей, заражених збудником туберкульозу птахів 3 курки пали: № 648 – на 103 добу, № 661 – на 130 добу, № 669(6) – на 135 добу. В павших курей спостерігали збільшення селезінки і печінки з множинними, інкапсульованими вузликами сірого кольору. Інших 4 курей (№№ 649, 631, 629, 669(9)) було піддано евтаназії на 138 добу досліду. На розтині відмічали збільшену в 2 – 3 рази печінку і селезінку з великою кількістю сіро-білих вогнищ по всій їх поверхні. З патматеріалу відібраного від 7 голів піддослідної птиці бактеріологічним методом висіяні вихідні культури.

При вивченні патогенних і вірулентних властивостей штамів *M. avium* при другому пасажуванні на курах встановлено, що культури №№ 669(6), 661, 629 та 649, підвищили достатньо свою вірулентність для можливості викликати в живій системі септичний процес (генералізовану форму туберкульозу) причому без видимих змін у внутрішніх органах. Клінічно, піддослідна птиця заражена штамми №№ 661 і 669(6) виглядала абсолютно здоровою, за винятком пожатілого гребінця і сережок, а пала на 11 і 12 добу відповідно. При патологоанатомічному розтині в органах і тканинах не виявлено характерних для туберкульозу змін. Птиця заражена штамми №№ 649 і 629 пали на 48 і 143 добу відповідно з предшествуючими клінічними ознаками: сильне виснаження, гребінець і сережки пожовтіли, параліч однієї з кінцівок. При патологоанатомічному розтині характерних для туберкульозу змін у внутрішніх органах не виявлено. Штами культур №№ 631 і 669(9) поводити себе в живому організмі зовсім інакше в порівнянні з попередніми – вони визвали у піддослідних на внутрішніх органах характерні туберкульозні зміни у вигляді сіро-білих вузликів на поверхні печінки розміром з просяне зерно, селезінка

збільшена у 3 рази, пронізна сіро-білими бугорками. Клінічно птиця була виснажена та пригнічена і пала на 18 та 38 доду відповідно. Птиця, що заражена штамом № 648 пала на 143 добу із дуже тяжкими клінічними і патологоанатомічними ознаками: виснаження, пригнічення, параліч обох кінцівок, задишка, алопеції; на розтині виявлено збільшення печінки і селезінки в 2 рази з наявними сіро-білими вузликами, внутрішнє виснаження м'язевих тканин, перікард заповнен рідиною, серце збільшене, набрякле, в суглобах кінцівок виявлен гнійний ексудат сіро-жовтого кольору консистенції тягучої сметани (таблиця 1).

Після проведення патологоанатомічного дослідження павших і підданих евтаназії лабораторних тварин був відібран патологоанатомічний матеріал (печінка, селезінка, легені) для проведення бактеріологічних досліджень. Фарбуванням по Ціль – Нільсену в мазках виявлені кислотостійкі палички яскраво-червоного кольору, прямі і вигнуті, довгі з заокругленими і прямими кінцями, що свідчить про наявність культури туберкульозу в пат матеріалі. Патологічний матеріал обробляли за методом Гона–Суміоші і засівали на елективне живильне середовище Гельберга. З кожної дослідної серії патологічного матеріалу виділялась вихідна культура.

При порівнянні двох пасажів чітко простежується фатальна дія дослідних штамів *M. avium* на лабораторну птицю.

Цілком адекватно можна відмітити, що вірулентність збережених штамів мікобактерій пташиного виду при першому пасажуванні на курах була низькою, за винятком штаму №648, який мав середню ступінь вірулентності. Висновок наявності низької вірулентності штамів було зроблено на основі введеної концентрації і дози дослідної культури та періоду від зараження до загибелі тест-об'єкту. Так як за загальноприйнятими методиками, лабораторних тварин необхідно витримувати 90 діб, протягом яких вони мають загинути, ми піддали евтаназії тих хто лишився після чотирьох місячної витримки, чим і встановили ступінь вірулентної активності культур. Тобто культури мікобактерій при збереженні їх в ліофільному стані дещо втратили свою вірулентність, як показує перший пасаж на піддослідних тваринах. Натомість, вони володіють достатньо високою патогенністю,

**1. Порівняльна характеристика біологічного дослідження культур мікобактерій пташиного виду**

№ штаму мікобактерій	КУРИ					
	Перший пасаж			Другий пасаж		
	Пали (П), евтаназія (Е)	Патологоанатомічні зміни	Вихідна культура	Пали (П), евтаназія (Е)	Патологоанатомічні зміни	Вихідна культура
669(6)	П 135	Туберк. бугорки на селезінці і печінці	+	П 12	Генералізована форма	+
629	Е 138	Туберк. бугорки на селезінці і печінці	+	П 143	Генералізована форма	+
669(9)	Е 138	Туберк. бугорки на селезінці і печінці	+	П 38	Туберк. зміни печінки і селезінці	+
661	П 130	Туберк. бугорки на селезінці і печінці	+	П 11	Генералізована форма	+
649	Е 138	Туберк. бугорки на селезінці і печінці	+	П 48	Генералізована форма	+
648	П 103	Туберк. бугорки на селезінці і печінці	+	П 143	Туберк. зміни на печінці і селезінці, синовіти, параліч, гідрокардія.	+
631	Е 138	Туберк. бугорки на селезінці і печінці	+	П 18	Туберк. зміни печінки і селезінці	+

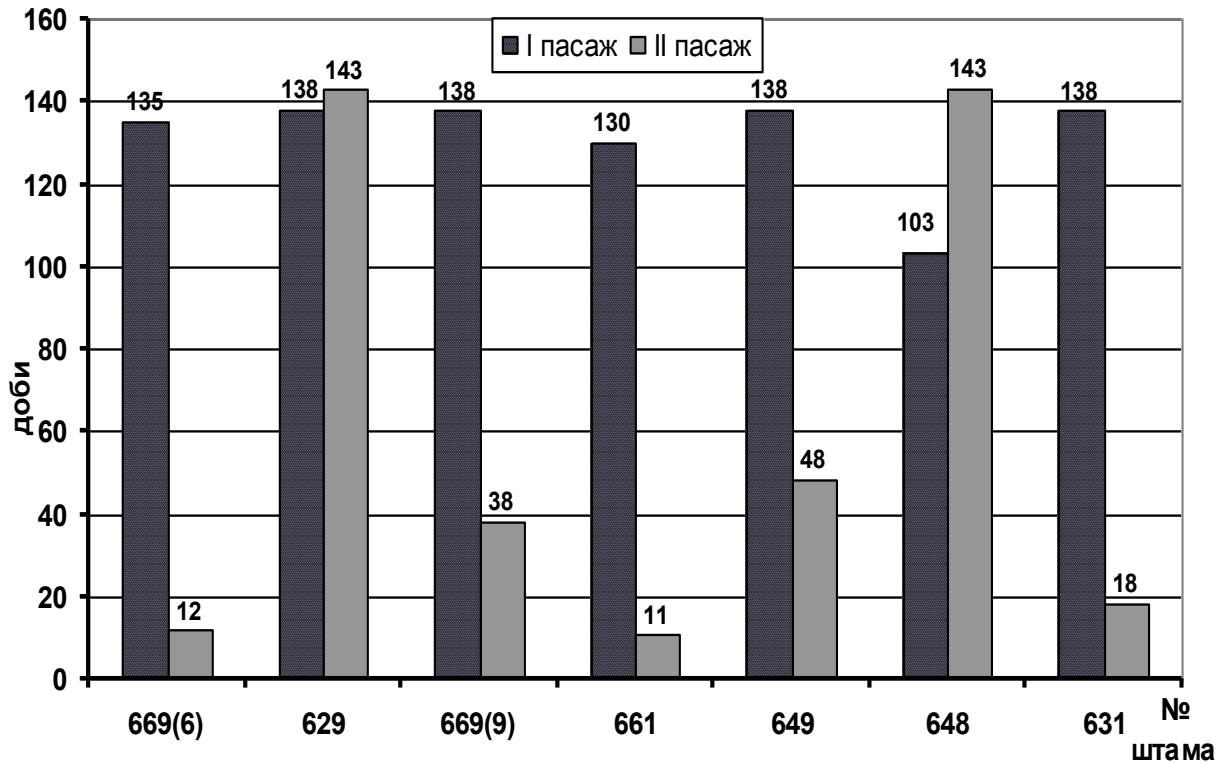


Рис. 1. Рівень фатальної дії дослідних штамів *M. avium* на тест-об'єкти.

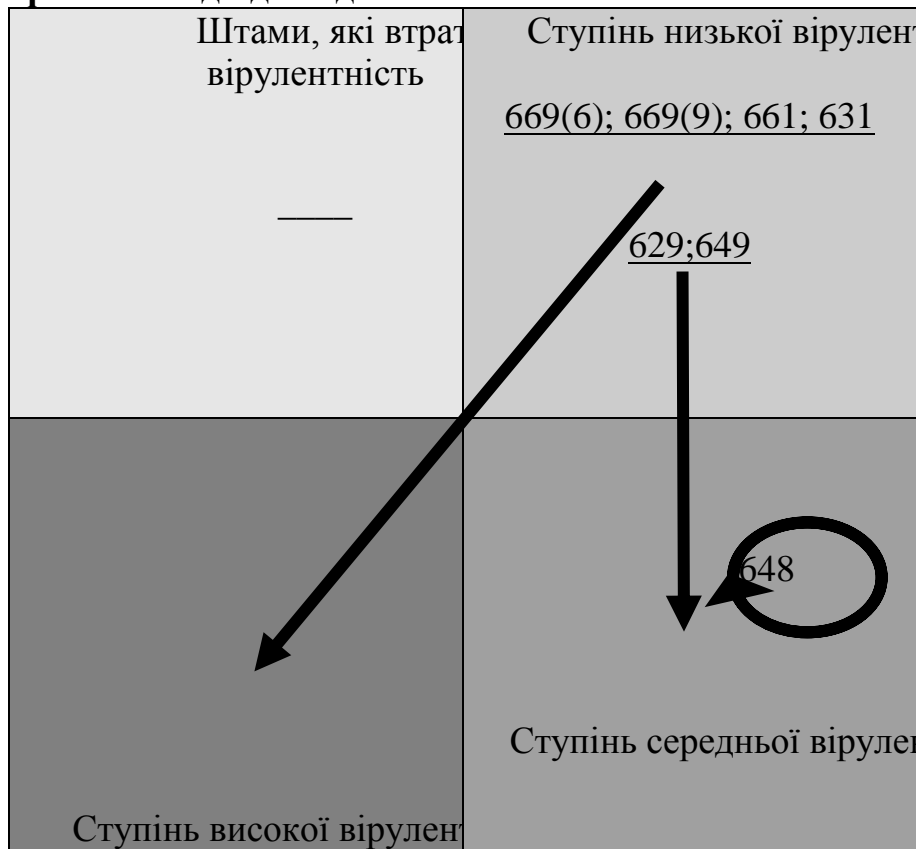


Рис. 2. Ступінь вірулентної активності культур мікобактерій після проведення біологічних досліджень на курах.

такою що викликає характерні для туберкульозного процесу зміни у внутрішніх органах лабораторних тварин. При другому пасажі вірулентність культур значно

підвищилась, настільки, що всі кури заражені штамми 669(6), 661, 631 пали протягом 1-го місяця, кури заражені штамми 669(9), 649 пали протягом 2-го місяця і кури заражені штамми 629, 648 пали на 143 добу без прийому евтаназії.

Таким чином, дослідні штамми культур мікобактерій туберкульозу пташиного виду при зберіганні у ліофільному стані понад 30 років зберегли, хоч і низьку ступінь вірулентної активності, але з наявними характерними патологоанатомічними змінами у внутрішніх органах. При повторному пасажуванні на курах культури підвищили рівень вірулентної активності з низького до середнього та високого, що являється дуже вагомим показником інтенсивності вірулентної активності штамів *M.avium* після процесу висушування та тривалого зберігання в анабіозі. Штам № 648 при обох пасажуваннях володів ступеню середньої вірулентності, тобто в цього штаму зберігаються стандартні біологічні властивості.

### Висновки

1. Встановлено, що дослідні штамми культур мікобактерій пташиного виду зберегли свій потенціал до росту і розмноження в живому організмі після довготривалого зберігання в ліофілізованому стані.
2. Культури мікобактерій пташиного виду при першому пасажі проявили свою патогенність для курей середньої інтенсивності і низьку вірулентність.
3. Жива біологічна система сприяє підвищенню вірулентної активності культур *M.avium* і здатна допомогти зберегти стандартні біологічні властивості штамів.

### Список літератури

1. Кассич Ю.Я., Борзяк А.Т., Кочмарский А.Ф. и др. Туберкулез животных и меры борьбы с ним. – К.: Урожай, 1990. – 6, 147 с.
2. Ветеринарная энциклопедия том-1. – М.: Советская энциклопедия, 1968. – С. 1053-1054.
3. Вейстфейлер Ю.К. Биология и изменчивость микобактерий туберкулеза и атипичные микобактерии. – Будапешт: изд. Академии наук Венгрии, 1975. – 106 с.

### **Ю.В. Андриенко. Оценки степени вирулентной интенсивности лиофильных культур *M.avium***

*В статье приведены результаты биологического исследования штаммов *M.avium*, которые сохранялись более 30 лет в лиофильном состоянии. Изучена возможность повышения вирулентной интенсивности культур после проведения двух последовательных пассажей в живой системе (на курах).*

**Ключевые слова:** штамм, лиофилизация, микобактерии, вирулентность.

*Andrienko Y.V. Appraisal depreciation inflectional intensity dry strains  
M.avium*

*In this article there are the results of biological research of strains M. avium, which were kept more than 30 years in dry state. The possibility of increasing inflectional intensity of strains was studied after making two one after another in alive system.*

**Key words:** strains, intensity dry, mycobacterium, inflectional.