

УДК 619:579.887.111

© 2009

*Глебова К.В., молодший науковий співробітник,
Обуховська О.В., кандидат ветеринарних наук,
Заремба І.А., молодший науковий співробітник*

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини»

ВИВЧЕННЯ КУЛЬТУРАЛЬНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ПОЖИВНИХ СЕРЕДОВИЩ ДЛЯ НАКОПИЧЕННЯ БАКТЕРІЙНОЇ МАСИ ПТАШИНИХ МІКОПЛАЗМ

Рецензент – кандидат ветеринарних наук Е.П. Петренчук

*Проведено вивчення ефективності накопичення бактерійної маси *Mycoplasma gallisepticum* та *Mycoplasma synoviae* на рідких і щільних поживних середовищах із додаванням сироваток крові сільськогосподарських тварин. Встановлено, що використання середовищ із додаванням сироваток крові вівці та ВРХ є недоцільним для культивування й ізоляції мікоплазм. Оптимальні культуральні властивості мають середовища на основі триптичного гідролізату серця ВРХ та риби з додаванням сироваток крові коня та бройлерів. Тому вони можуть бути рекомендовані для проведенн діагностичних і виробничих процесів із метою накопичення бактерійної маси мікоплазм.*

Ключові слова: мікоплазма, поживні середовища, культивування, ізоляція, бактерійна маса.

Постановка проблеми. Респіраторний мікоплазмоз птиці – хронічна хвороба, що характеризується катарально-фібринозним ураженням дихальних шляхів і втратою продуктивності. Перше повідомлення про дану хворобу під назвою «кориза» було зроблено у 1936 році Нельсоном і Гібсом. В Україні захворювання вперше встановлене у 1963 році М.Т. Прокоф'євою. Хвороба завдає значних економічних збитків, що зумовлюється високою (близько 50%) летальністю курчат, різким зниженням продуктивності перехворілої птиці, витратами на проведення ветеринарно-санітарних заходів із метою ліквідації хвороби [4]. Тому вивчення біології збудника цього захворювання є актуальним питанням сучасної ветеринарної медицини.

Аналіз основних досліджень і публікацій, у яких започатковано розв'язання проблеми. Мікоплазмози відносяться до групи широко розповсюджених інфекцій сільськогосподарської птиці як в Україні, так і у всьому світі [2-4, 8]. Найбільш актуальною є робота у напрямі розробки системи достовірного контролю клінічного перебігу мікоплазмозу та управління цим процесом [1, 6]. Розробка такої системи вимагає детального вивчення

біології збудників мікоплазмозів птиці. Доцільно особливу увагу звернути на культуральні властивості мікоплазм. Враховуючи те, що ці збудники є вкрай вимогливими до складу поживних середовищ [5, 7, 9]. На сьогодні в Україні подібні розробки фактично відсутні.

Мета і завдання – вдосконалення поживних середовищ для ізоляції, культивування та накопичення бактерійної маси пташиних мікоплазм і порівняльний аналіз ефективності накопичення бактерійної маси мікоплазм на різних поживних середовищах із додаванням сироваток крові чотирьох видів сільськогосподарських тварин.

Матеріали і методи досліджень. У дослідях із вивчення ефективності накопичення бактерійної маси мікоплазм на рідких і щільних поживних середовищах використовували наступні штами пташиних мікоплазм:

- еталонний музейний штам *Mycoplasma gallisepticum* S₆;
- музейний штам *Mycoplasma synoviae*;
- епізоотичний штам *Mycoplasma synoviae* В.

Для накопичення бактерійної маси музейних штамів мікоплазм рідкі поживні середовища розфасовувалися у бутелі по 20 л. До бутелів вносили 100 см³ 10 млрд. суспензії відповідного штаму мікоплазм. Режим інкубування – 5 діб за температури (37±0,5)°С. Контроль специфічності росту проводили візуально кожну добу та шляхом мікроскопії мазків (фарбування за Романовським-Гімзою).

На шосту добу здійснювали концентрацію на розподільчому апараті АР-0,2-15 Па при циркуляційній подачі з використанням перистальтичного насосу МПР-100 під тиском 0,25-0,27 Па до концентрації 1:10. Концентрат освітлювали центрифугуванням на кутовій центрифугі LU-418 при 5 тис. об./хв. впродовж 20 хвилин. Надосад відокремлювали й утилізували. Осад концентрували до утримання 27-30 млрд.м.т. за стандартом мутності (ДІСК ім. Тарасевича) у ФБФР

(молярність 1/15) та консервували розчином тіомерсалу 1:10000.

На першому етапі було виготовлено 4 серії рідких поживних середовищ на основі триптичного гідролізату серця ВРХ із додаванням 20 % сироваток крові коня, вівці, ВРХ та бройлерів. Із метою вивчення культуральних властивостей виготовлених серій середовищ до них було внесено розплодку еталонного музейного штаму *Mycoplasma gallisepticum* S₆. Інтенсивність накопичення бактерійної маси мікоплазм визначали за показниками оптичної щільності.

Культуральні якості середовищ із сироватками крові вівці, ВРХ та бройлерів вивчали у порівнянні з аналогічними показниками середовища із сироваткою крові коня.

На другому етапі роботи було виготовлено дві серії поживних середовищ на основі триптичного гідролізату серця ВРХ і триптичного гідролізату риби. Порівняльне вивчення ростових якостей виготовлених середовищ проводили за аналогічною схемою.

Результати досліджень. Найнижчі показники

були отримані в ході вивчення властивостей середовища із сироваткою крові вівці. Накопичення бактерійної маси мікоплазм на цьому середовищі у перші дві доби культивування було нижчим у 2-2,5 разу, ніж на середовищі з сироваткою крові коня. На третю добу результати незначно підвищувались, однак на п'яту добу ця різниця становила 16,3 % (рис.1). Кращими були результати, отримані в процесі вивчення якостей середовища з сироваткою крові ВРХ. У перші три доби різниця в інтенсивності накопичення бактерійної маси становила 25,0; 38,0 і 16,6 % відповідно. Проте на четверту добу показники значно покращились, і на останній (п'ятій) добі культивування ця різниця складала 9,6 % (рис. 2). У ході вивчення ростових якостей середовища з сироваткою крові бройлерів отримано результати кращі, ніж на середовищі з сироваткою крові коня. Так, на першу добу результати практично співпадали. В останню добу культивування інтенсивність накопичення бактерійної маси мікоплазм на середовищі з сироваткою крові бройлерів була вищою на 5,2%, ніж на

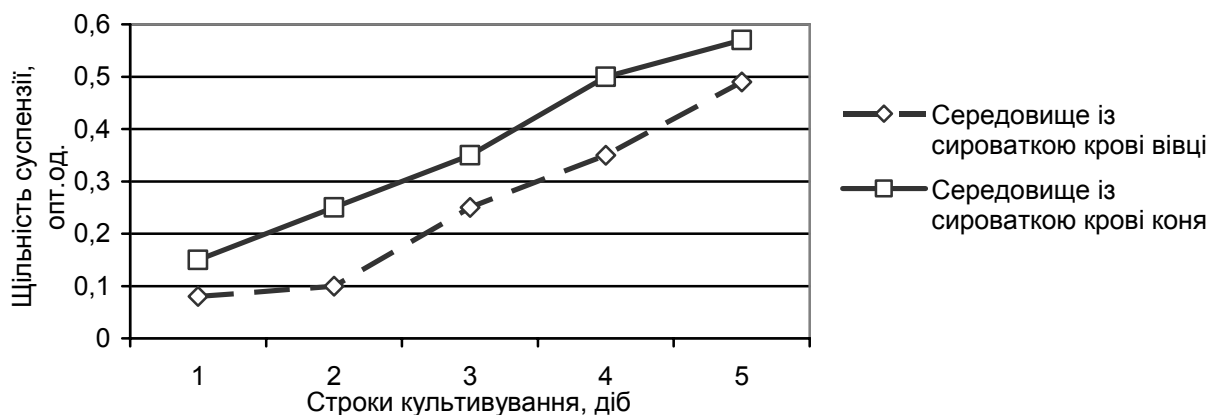


Рис. 1. Інтенсивність накопичення бактерійної маси мікоплазм на рідких поживних середовищах із сироваткою крові вівці та коня в динаміці

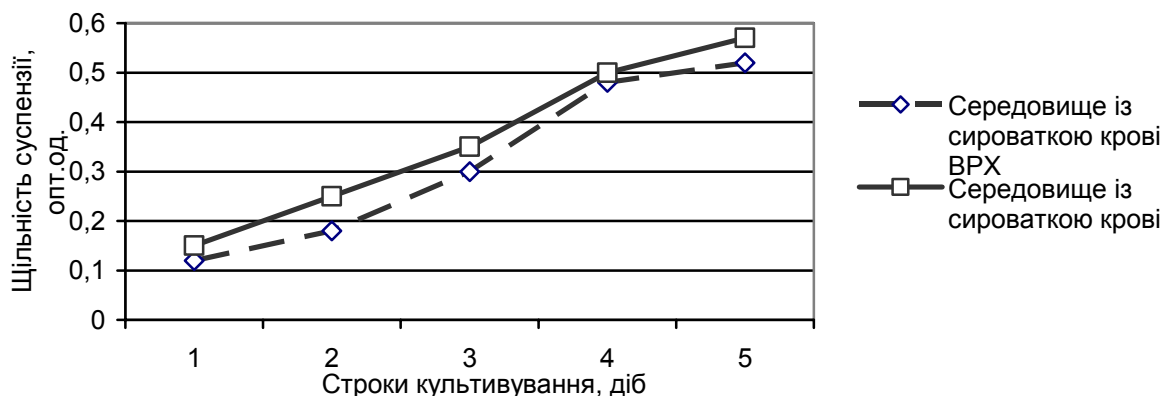


Рис. 2. Інтенсивність накопичення бактерійної маси мікоплазм на рідких поживних середовищах з сироватками крові ВРХ та коня в динаміці

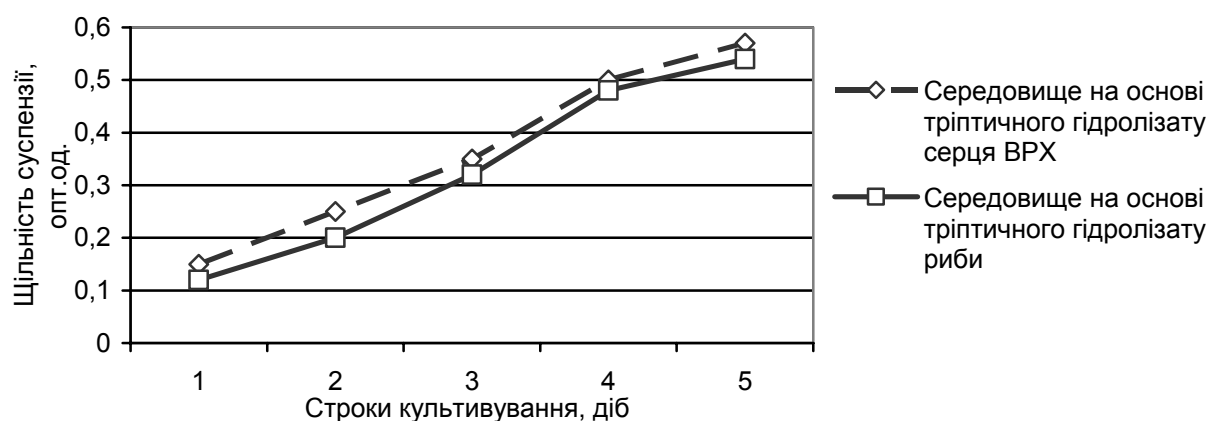


Рис. 3. Інтенсивність накопичення бактерійної маси мікоплазм на рідких поживних середовищах на основі триптичних гідролізатів серця ВРХ та риби

середовищі з сироваткою крові коня.

Таким чином, найкращими ростовими якостями володіють середовища з додаванням сироваток крові коня та бройлерів.

Отримані результати на другому етапі роботи свідчать про достатню ефективність використання середовища на основі гідролізату риби для культивування мікоплазм. Однак показники оптичної щільності були вищими для середовища на основі триптичного гідролізату серця ВРХ. У першу і другу добу культивування ця різниця становила 25,0%, на третю добу результати покращилися до 9,3%, і вже на п'яту добу накопичення бактерійної маси на середовищі на основі триптичного гідролізату риби було всього на 5,5% нижче, ніж на середовищі на основі триптичного гідролізату серця ВРХ (рис. 3).

Також було виготовлено 2 серії щільних поживних середовищ на основі триптичних гідролізатів серця ВРХ та риби із додаванням сироватки крові коня. До цих середовищ було адаптовано музейний штам *Mycoplasma gallisepticum* S₆. На другу добу інкубації було зареєстровано ріст мікоплазм у вигляді дрібних округлих прозорих безбарвних гетероформних колоній. Інтенсивність росту була вищою на середовищі на основі триптичного гідролізату серця ВРХ.

Усі серії виготовлених рідких поживних середовищ були використані для накопичення експериментальних серій бактерійної маси мікоплазм для створення субодиночних вакцин та антиге-

нів для ІФА.

Висновки: 1. Культуральні якості рідких поживних середовищ із додаванням сироваток крові вівці та ВРХ нижче аналогічних показників для середовища із сироваткою крові коня на 16,3 % та 9,6 %. Тому використання середовищ із додаванням сироваток крові цих видів тварин є недоцільним для культивування та ізоляції мікоплазм.

2. Середовище із додаванням сироватки крові бройлерів має культуральні якості, що наближаються до аналогічних показників для середовища із сироваткою крові коня, а на п'яту добу культивування навіть перевищують їх на 5,2 %. Тому ці середовища можуть бути рекомендовані для проведення діагностичних і виробничих процесів із метою накопичення бактерійної маси мікоплазм.

3. В якості основи поживних середовищ для ізоляції та культивування мікоплазм, окрім триптичного гідролізату серця ВРХ, можливим є використання триптичного гідролізату риби. Різниця в накопиченні бактеріальної маси на цих середовищах є незначною (5,2%).

4. На всіх виготовлених серіях рідких поживних середовищ накопичено бактерійну масу мікоплазм музейних штамів *M. gallisepticum* та *M. synoviae*, що буде використана в якості сировини для розробки біопрепаратів для діагностики й профілактики мікоплазмозів птиці.

БІБЛІОГРАФІЯ

1. Опыт применения различных методов лабораторной диагностики для выявления респираторного микоплазмоза / Горина Л.Г., Раковская И.В., Гончарова С.А. и др. // Клин. лаб. диаг-

ностика. – 2001. – № 9. – С. 38.

2. Семенухин А.Л., Панин А.Н. Микоплазмозы группы *Mycoides*: вопросы этиологии, диагностики и профилактики: Состояние, пробл. и перс-

- пективы развития вет. науки России. Т.1. – М., 1999. – С. 203-207.
3. *Чекмарев А.Д.* Инфицированность цыплят-бройлеров и куриных эмбрионов возбудителем респираторного микоплазмоза // *Вопр. ветеринарии и вет.биологии.* – 2000, Вып.1. – С. 41-43.
4. *Anon N.* Mycoplasma today // *Poultry Tribune.* – 1989. – Т.95, № 2. – P. 34-36.
5. *Bradbury J.M.* Rapid biochemical tests for characterization of the Mycoplasmatales / *J. Clin. Microbiol.* – 1977. – Vol.5 – P. 531-534.
6. *Diseases of Poultry.* Tenth edition // Edited by B.W. Calnek with H. J. Barnes, C. W. Beard, L. R. McDougald, Y.M. Saif. – Iowa State University Press, Amrs, Iowa, USA, 1997. – 364 p.
7. *Frey M.L., Hanson R.P., Anderson D.P.* Medium for the isolation of avian mycoplasmas // *Am. J. Vet. Res.* – 1968. – Vol.29. – P. 67-68.
8. *Glisson J.R.* Mycoplasmosis in laying hens // *Poultry Dis.* – 1988. – Т.47, № 560. – P. 493-495.
- Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals,* 5th edition, Chapter 2.7.3 Avian Mycoplasmosis. – 2004.