

ВИВЧЕННЯ ДІЇ ДЕЗИНФІКУЮЧИХ ПРЕПАРАТІВ НА СТРУКТУРУ ЗБУДНИКІВ ТУБЕРКУЛЬОЗУ ТВАРИН

Пономаренко Г.В., к. вет. н.

Харківська державна зооветеринарна академія, м. Харків

Анотація. *Методом електронно–мікроскопічних досліджень встановлено, що дія дезінфектантів на бактеріальну клітину збудників туберкульозу супроводжується руйнуванням основних клітинних структур: мікрокапсули, клітинної стінки, цитоплазматичної мембрани, цитоплазми і нуклеоїду.*

Ключові слова: *збудники туберкульозу, структура мікобактерій, дезінфікуючі препарати.*

Актуальність проблеми. У комплексі ветеринарно-санітарних та організаційно-господарчих заходів, що проводяться для профілактики та боротьби з туберкульозом, важливе значення має дезінфекція, яка спрямована на інактивацію збудників захворювання в зовнішньому середовищі. В теперішній час асортимент дезінфікуючих препаратів, які застосовуються при туберкульозі тварин, є обмеженим, а забезпеченість практичної ветеринарної медицини даними засобами недостатня. Тому є необхідність у пошуку і розробці нових, а також в удосконаленні існуючих дезінфектантів.

Для цього необхідні знання про стійкість мікобактерій до дії біологічних, фізичних і хімічних чинників, що обумовлена будовою та властивостями їх унікальної клітинної стінки, яка містить велику кількість різноманітних ліпідів, характерних тільки для мікобактеріальних клітин [1,2]. Існує пряма залежність між організацією поверхневих структур мікобактерій і їх вірулентністю [3].

Дані про структуру мікобактеріальної клітини, що отримані за допомогою сучасних методів досліджень, допомагають зрозуміти процеси, які відбуваються в клітині мікобактерій до та після дії дезінфікуючих речовин, а також здійснювати підбір найбільш ефективних препаратів [4,5,6].

Завдання дослідження. Вивчити з використання електронно-мікроскопічного методу ультраструктурні зміни, які відбуваються в мікобактеріальній клітині при дії дезінфікуючих препаратів.

Матеріали і методи дослідження. Вивчення структурних змін, які відбуваються в клітинах мікобактерій при дії дезінфікуючих препаратів, проводили шляхом електронно-мікроскопічного дослідження ультратонких зрізів клітин мікобактерій до та після дії дезінфектантів.

При цьому використовували тест-культури збудників туберкульозу бичачого (штам *Vallee*) та пташиного видів (штам ІЕКВМ УААН), які були вирощені на середовищі Павловського.

При проведенні електронно-мікроскопічного дослідження бактеріальну масу тест-культур мікобактерій переносили бактеріологічною петлею в дослідні та контрольні флакони ємкістю 20 см³. Масу мікобактерій визначали

шляхом зважування флаконів із бактеріальною масою. В дослідні флакони вносили водні розчини дезінфектантів із розрахунку отримання в 1 см³ розчину 100 млн. мікобактеріальних клітин. Електронно-мікроскопічному дослідженню піддавали культури мікобактерій, на які діяли наступними дезінфектантами: «Кристал-900» (концентрація – 9%, експозиція – 3 години), «Біоклін» (концентрація – 2,5%, експозиція – 2 години). В контрольні флакони замість розчинів дезінфектантів вносили стерильний ізотонічний розчин у відповідній кількості.

Після певної експозиції дії з флаконів видаляли розчини дезінфектантів і стерильного ізотонічного розчину, а бактеріальну масу тест-культур мікобактерій піддавали попередній фіксації у 2,5%-ному забуференому розчині глутарового альдегіду протягом 4–6 годин при температурі 4°C. Потім проводили промивання отриманих препаратів тест-культур мікобактерій у забуференому ізотонічному розчині та здійснювали остаточну фіксацію у 1 %-вому забуференому розчині оксиду осмію (IV) протягом 2–3 годин при температурі 4°C. Після фіксації бактеріальні клітини відмивали забуференим ізотонічним розчином та дегідували в зростаючих концентраціях етилового спирту (50°, 70°, 96°, 100°) та ацетоні. Препарати тест-культур мікобактерій, після дегідратії у спиртах і ацетоні, вносили в суміш епоксидних смол. Полімеризацію блоків проводили в термостаті при температурі 60°C протягом двох діб.

Ультратонкі зрізи виготовляли на ультрамікромомі УМТП–6, наносили на підтримуючі сіточки та після контрастування цитратом свинцю досліджували під електронним мікроскопом ЕМВ–100 БР при прискорюючій напрузі 75 кВ.

У якості контролю використовували тест-культури мікобактерій, яких не піддавали дії дезінфікуючих препаратів.

Результати дослідження. При вивченні мікобактерій різних видів у нормі відзначали, що більшість клітин мали паличкоподібну, ледь вигнуту форму (Рис. 1, 2). Зустрічались також кокоподібні клітини.

При вивченні ультраструктури мікобактерій на поверхні клітин виявляли шар середньої електронної щільності, який оточував кожну клітину окремо або групу з декількох клітин. Даний шар було визначено нами як мікрокапсула. Мікрокапсула є захисним чохлам, що охороняє клітини від дії зовнішніх факторів, у тому числі від дезінфектантів.

Під мікрокапсулою виявляли осміофобний проміжок нерівномірної товщини, який було визначено як зовнішній шар клітинної стінки. Під вищезазначеними шарами виявляли третій електронно-щільний шар, який мав гомогенну структуру. Його було визначено як власне клітинну стінку.

Безпосередньо під клітинною стінкою була розташована цитоплазматична мембрана. Внаслідок щільного контакту внутрішнього шару клітинної стінки та зовнішнього шару цитоплазматичної мембрани утворювалась єдина структура. Трьохшарова структура цитоплазматичної мембрани нами виявлена не була. Тільки в деяких клітин, після дії дезінфікуючих препаратів, були виявлені фрагменти пошарової будови цитоплазматичної мембрани.

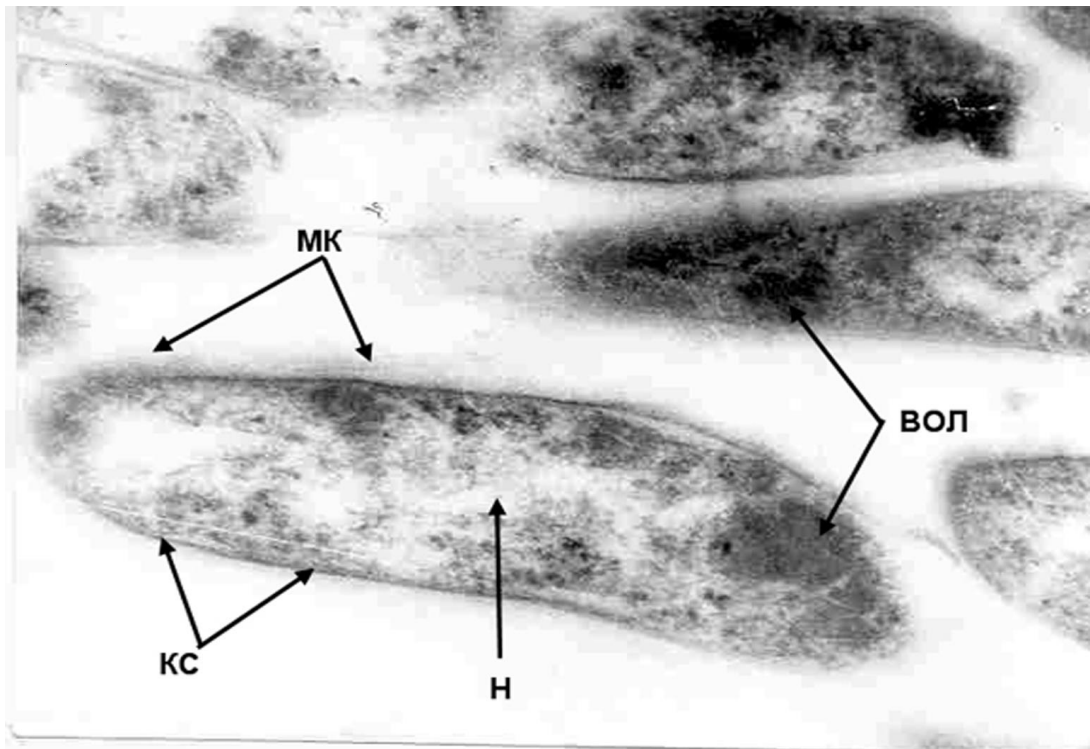


Рис. 1. *Mycobacterium bovis*, контроль.
 МК – мікрокапсула; КС – клітина стінка;
 н – нуклеоїд; вол – волютин.

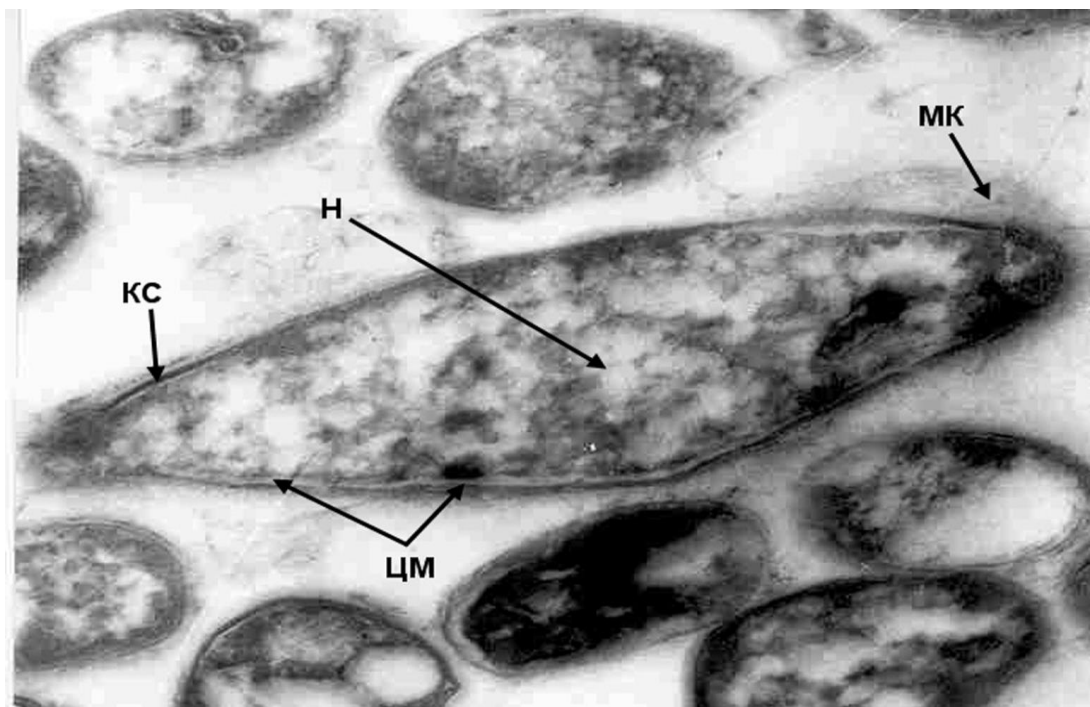


Рис. 2. *Mycobacterium avium*, контроль.
 МК – мікрокапсула; КС – клітина стінка;
 цм – цитоплазматична мембрана; н – нуклеоїд.

Цитоплазма мікобактеріальних клітин була заповнена великою кількістю щільних осміофільних гранул, розташованих по периферії клітин. Крім того, у цитоплазмі виявляли різної величини вакуолі в основному в клітинах, які піддавали дії дезінфектантів. Також у цитоплазмі виявляли електронно-щільні включення різної величини та структури, які позначені більшістю дослідників як волутин або волутинові гранули. Ці гранули є специфічним вмістом мікобактеріальної клітини, вони являють собою склад енергії та поживних речовин, необхідних для підтримування процесів життєдіяльності клітини.

Нуклеоїд у мікобактеріальних клітинах був представлений осміофільними тяжами та гранулами, оточеними електронно-прозорою речовиною. Чіткого відділення нуклеоїду від іншої частини цитоплазми не виявляли.

Дезінфікуючі препарати викликали деструктивні зміни ультраструктури мікобактерій (Рис. 3, 4). Мікрокапсула практично всіх клітин була повністю зруйнована. Відбувалось часткове або тотальне руйнування клітинної стінки, яка виявлялась як однорідна структура. Цитоплазматична мембрана відходила від клітинної стінки та утворювала широкий периплазматичний простір. Сама цитоплазматична мембрана зазнавала часткової деструкції.

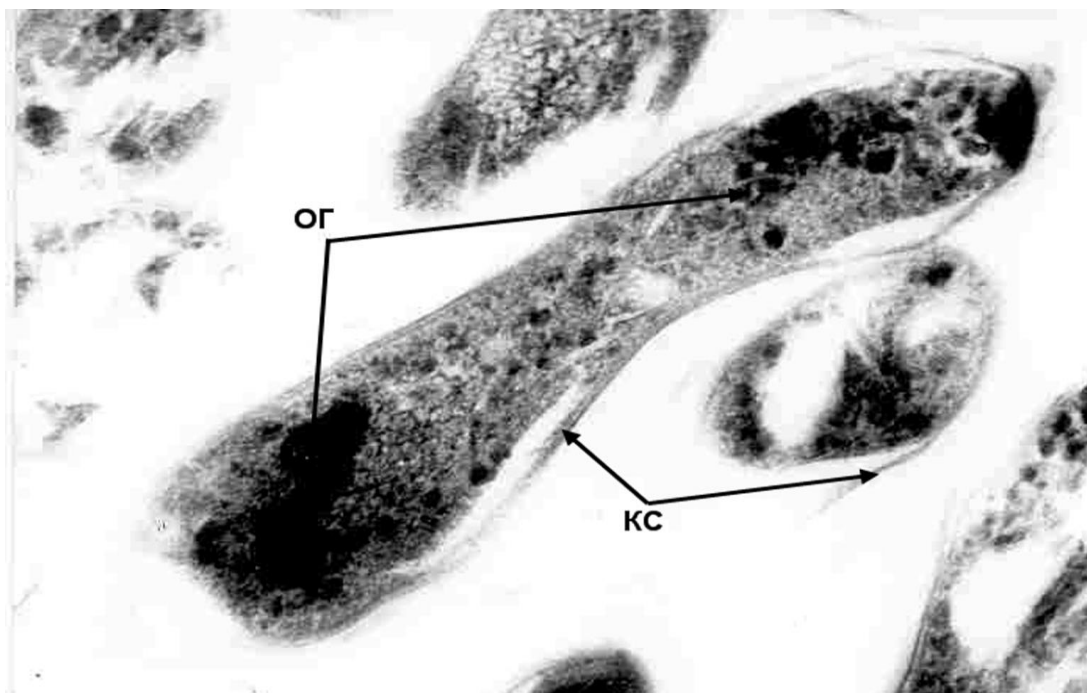


Рис. 3. *Mycobacterium bovis*, після дії препарату «Біоклін».
кс – клітина стінка; ог – осміофільні гранули.

Зміни, які спостерігались у цитоплазмі клітин, мали різний характер. Частина клітин містила в цитоплазмі електронно-щільний гомогенний матеріал або щільні осміофільні великі та маленькі гранули. В інших клітинах цитоплазму заповнювали електронно-прозорі вакуолі різної величини.

Зону розташування нуклеоїду практично у всіх вивчених мікобактерій, які зазнали дії дезінфектантів, не виявляли.

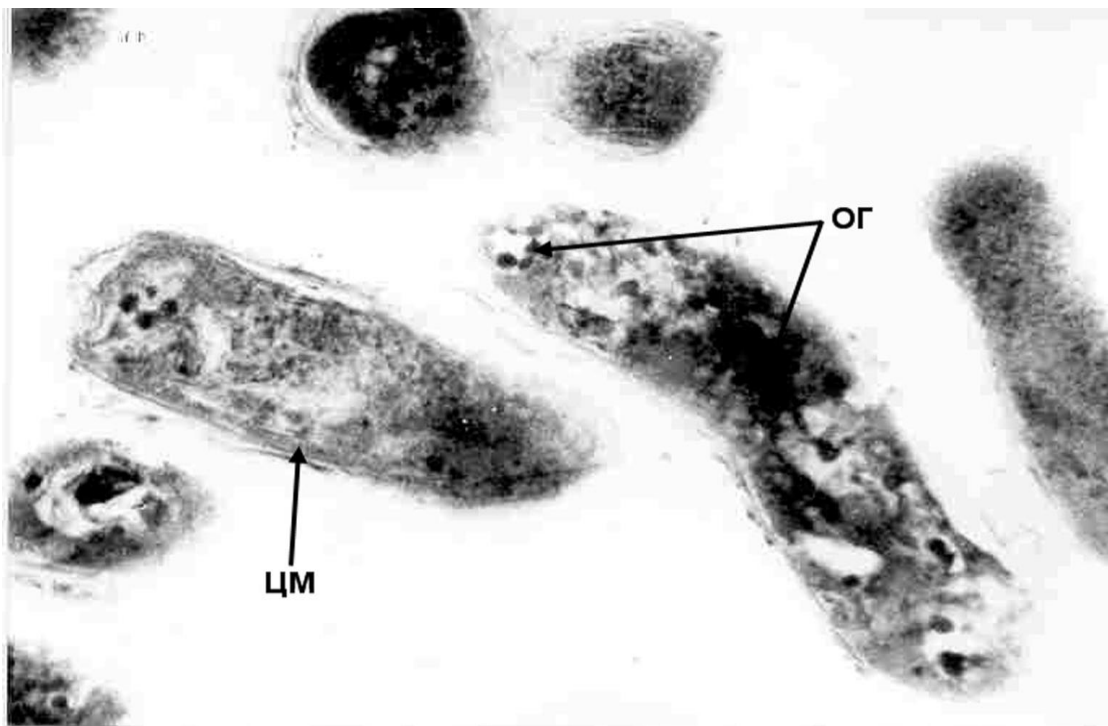


Рис. 4. *Mycobacterium avium*, після дії препарату «Кристал–900».
 цм – цитоплазматична мембрана; ог – осміюфільні гранули.

Висновки. 1. Дія дезінфікуючих препаратів викликає в ультраструктурі мікобактерій значні зміни мікрокапсули, клітинної стінки, цитоплазматичної мембрани і нуклеоїду, що призводить до порушення життєдіяльності клітин та їх загибелі.

2. Отримані дані електронної мікроскопії підтвердили бактерицидну активність препаратів «Біоклін» і «Кристал–900» щодо збудників туберкульозу бичачого та пташиного видів при відповідному режимі застосування.

Література

1. Зыков М.П. Микробиология туберкулеза / М.П. Зыков. – Л.: Медицина, 1976. – 102 с.
2. Коронелли Т.В. Липиды микобактерий и родственных микроорганизмов / Т.В. Коронелли. – М.: МГУ, 1984. – 157 с.
3. Субмикроскопическая организация микобактерий туберкулеза / Л.Н. Кац, С.А. Гулевская, Л.П. Зубок, М.Н. Немсадзе // ЖМЭИ. – 1972. – № 4. – С. 33-37.
4. Поляков А.А. Ветеринарная дезинфекция / А.А. Поляков. – [4-е изд., перераб. и доп.]. – М.: Колос, 1975. – 560 с.
5. Путина Т.Г. Методы оценки и режимы применения новых препаратов для дезинфекции при туберкулезе животных: автореф. дис. на соискание науч. степени канд. вет. наук. – М., 1989. – 23 с.
6. Козулицина Т.И., Козлова Н.В. Изменение ультраструктуры микобактерий туберкулеза под влиянием антибактериальных препаратов / Т.И. Козулицина, Н.В. Козлова // Проблемы туберкулеза. – 1979. – № 10. – С. 49-57.

ИЗУЧЕНИЕ ДЕЙСТВИЯ ДЕЗИНФИЦИРУЮЩИХ ПРЕПАРАТОВ НА СТРУКТУРУ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ТУБЕРКУЛЕЗА ЖИВОТНЫХ

Пономаренко Г.В., к. вет. н.

Харьковская государственная зооветеринарная академия, г. Харьков

Аннотация. Методом электронно-микроскопических исследований установлено, что действие дезинфектантов на бактериальную клетку возбудителей туберкулеза сопровождается разрушением основных клеточных структур: микрокапсулы, клеточной стенки, цитоплазматической мембраны, цитоплазмы и нуклеоида.

Ключевые слова: возбудители туберкулеза, структура микобактерий, дезинфицирующие препараты.

STUDY OF THE EFFECT OF DISINFECTANTS ON THE STRUCTURE OF PATHOGENS OF TUBERCULOSIS OF ANIMALS

Ponomarenko G.V.

Kharkiv state zooveterinary academy

Summary. It has been studied by means of electron-microscopic method that disinfectant action on bacterial cell of tuberculosis agents is accompanied with destruction of chief cell structure, namely microcapsules, cell wall, cytoplasmic membrane, cytoplasm and nucleoids.

Key words: tuberculosis agents, mycobacterium structure, disinfections preparations.