

УДК 619:616.982.2

**Власенко В.В.**

Подільський науково-дослідний центр туберкульозу

**Лисенко О.П.**

Институт експериментальної ветеринарії ім. С.Н. Вишелеского,  
Национальної академії наук Беларусі

**Власенко І.Г.**

Вінницький торговельно-економічний університет КНТУ

**Притиченко А.Н.**

УО «Витебская ордена «Знак Почёта» государственная академия ветеринарной  
медицины г. Витебск

## **ДОСЛІДЖЕННЯ СТІЙКОСТІ МІКОБАКТЕРІЙ ТУБЕРКУЛЬОЗУ В КОНТЕКСТІ БІОБЕЗПЕКИ МОЛОКА**

*В роботі досліджується сучасний стан і перспективи покращення якості та безпеки продуктів харчування в Україні. Запропоновані нові підходи детекції збудника туберкульозу в харчовій сировині тваринного походження (молоці). Цей метод дає можливість виявлення збудника туберкульозу незалежно від стадії розвитку його в організмі тварин за короткий проміжок часу (2-3 доби), тоді як за загальноприйнятою методикою потрібно 30-90 діб. Встановлено, що при стерилізації туберкуліну ППД для ссавців та пастеризації молока гинуть вегетативні форми патогенних мікобактерій і pojawiaються біологічні структури збудника туберкульозу (артроспори), які мають екофункціональну стійкість в навколишньому природному середовищі.*

**Ключові слова:** *якість продукції, безпека, збудник туберкульозу, молоко, туберкулінодіагностика.*

Відомо, що для багатьох антропозоонозних захворювань існує біологічний ланцюг "тварина – продукти харчування - людина", тобто при недостатньому контролі продукти харчування тваринного походження - молоко та м'ясо, уражені збудником туберкульозу можуть передавати збудника (інфекцію) людям. Однією із найважливіших причин прогресуючого поширення туберкульозу є застаріле уявлення про біологію розвитку збудника захворювання та застосування туберкулінодіагностики в тваринництві. З літературних джерел відомо [1] наявність збудника туберкульозу в туберкуліні ППД для ссавців, тобто думається, що в процесі виробництва туберкуліну ППД для ссавців можуть утворюватись адаптивні форми збудника туберкульозу (артроспори), які проходять бактеріологічний фільтр, витримують стерилізацію і попадають в готовий туберкулін. Такий препарат використовують для визначення біобезпеки тваринницької сировини, тобто вводиться в організм забійним тваринам, фільтривні форми збудника туберкульозу, який системою крові розноситься по всьому організму і така харчова сировина може стати небезпечною для споживачів.

Отже, як повідомляють автори [1], що при туберкулінодіагностиці тварин, в організм вводять фільтруючі форми вірулентного збудника туберкульозу з якого виготовляють туберкулін.

У зв'язку з тим, що Україна увійшла в СОТ, великої гостроти набула проблема своєчасного виявлення збудника туберкульозу у продуктах харчування тваринного походження. Вона водночас віддзеркалює й основні проблеми, що суттєво впливають на захворюваність та смертність людей від туберкульозу. Окремі аспекти контролю якості

продукції розглядалися у багатьох працях вітчизняних та зарубіжних авторів [2-9].

Метою нашої роботи було дослідити екофункціональну стійкість мікобактерій в контексті біобезпеки продуктів харчування при туберкулінодіагностиці корів.

**Матеріал та методи досліджень.** Досліди проводилися у Іллінецькому науково-дослідному господарстві, де Іллінецькою лабораторією державної ветеринарної медицини проведена планова туберкулінізація корів туберкуліном ППД Сумської біофабрики, серії 45.

Для дослідження відбирали молоко корів через 5 діб після туберкулінодіагностики за загальноприйнятою методикою (з використанням молочного катетера в стерильний посуд) – 15 голів та молоко того стада, у яких туберкулінодіагностика не проводилася – 15 гол. Після цього молоко піддавали пастеризації - нагрівання до 63-65°C протягом 30 хв. В подальшому для виявлення фільтруючих форм (артроспор) збудника туберкульозу використовували молоко яке пропускали через бактеріальний фільтр Millipore з діаметром 0,22 мікрона.

В подальшому виявляли життєздатні форми у туберкулінах. При цьому змішували 1 мл туберкуліну з 1 мл стимулятора росту ВКГ. Суміш інкубували при 37°C 48 годин і після чого ділили на дві частини. Першу частину центрифугували і робили з осаду мазки, які фарбували та проводили комп'ютерну мікроскопію, а другу висівали на поживне середовище Влакон по 0,5-1 мл. Чашки з посівом заклеювали скотчем та інкубували в термостаті. Мікробіологічні дослідження проводили згідно Наказу № 45 МОЗ України.

**Результати досліджень.** Результати бактеріологічних досліджень фільтратів молока наведена в табл.1. Посів фільтрату молока після туберкулінодіагностики на поживне середовище Влакон показав, що через 2-3 доби появився ріст колоній всіх проб.

*Таблиця 1. Результати бактеріологічного дослідження по виявленню мікобактерій в фільтраті молока*

Назва дослідного матеріалу	Кількість проб	Мікроскопія комп'ютерна		Середовище Влакон	
		факт	%	факт	%
Фільтрат молока після туберкулінодіагностики	15	14	93.3*	15	100*
Суспензія туберкуліну, Сумської біофабрики С. 45	5	4	80	5	100
Фільтрати молока де туберкулінодіагностика не проводилася	15	-	-	-	-

*Примітка: \* - на 46-82 добу після туберкулінодіагностики мікобактерії не виділялись*

Як видно з результатів досліджень (табл. 1.), що культуральний метод більш чутливий ніж комп'ютерна мікроскопія, тобто це метод може виявити збудника туберкульозу у 80 - 93,3%, тоді як культуральний в 100% випадків. Таким чином, при пастеризації молока появляються біологічні структури збудника туберкульозу (артроспори), які мають екофункціональну стійкість в навколишньому природному середовищі. Такі форми при потраплянні в сприятливі умови проростають у вегетативні форми. Аналогічні результати отримані і при дослідженні суспензії туберкуліну (туберкулін ППД та стимулятор росту ВКГ) – 100% ріст проб на поживному середовищі.

Після 24 годин інкубації туберкуліну в стимуляторі росту виявлена

трансформація шаровидних структур - біполярні палички (рис. 1,2). Контрольні дослідження туберкуліну ППД для ссавців також проводились комісійно ученими Білорусі (О.П. Лисенко та ін). Результати цих досліджень підтверджують наявність в туберкуліні живого збудника туберкульозу.

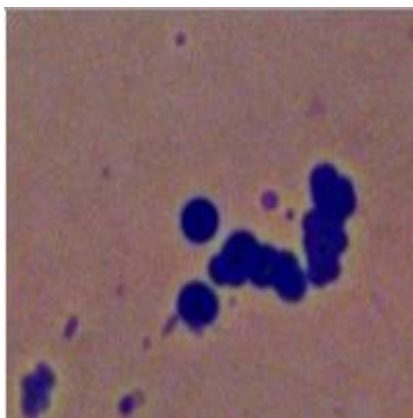


Рис. 1. Мазок из осаду (PPD) *Mycobacterium bovis*, фарбування по Ціль-Нільсену (x1000)

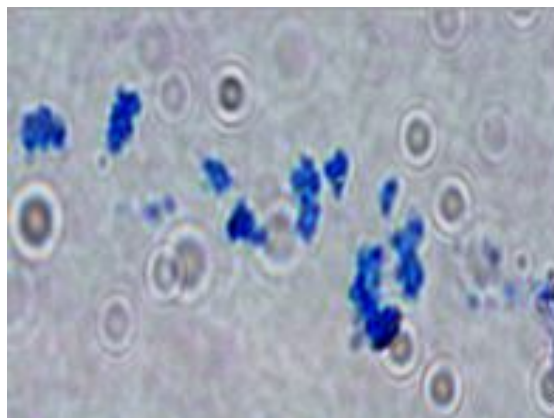


Рис. 2. ППД туберкулін в стимуляторі росту, фарбування по Ціль-Нільсену (x1000)

В мазках з посів у ППД туберкуліну на поживному середовищі Влакон виявлені великі коки подібні до культур МБТ, які виділяються з крові та харкотиння людей, хворих на туберкульоз. Вказані морфологічні форми реагували з афіно - очищеними антитілами до антигенів *M.bovis*, міченими пероксидазою. Наявність загальних антигенів з класичними бацилярними формами у ізолятів з автоклавованих препаратів МБТ було підтверджено в реакції аглютинації з моно специфічною антисироваткою до *M. tuberculosis - M.bovis*, з якою вони давали виражену аглютинацію. Таким чином, отримані результати показали наявність життєздатних форм МБТ у туберкулінах. Для підтвердження наявності життєздатних форм МБТ у туберкулінах ми провели наступні дослідження з туберкулінами. Для цього брали туберкулін серії 80, Сумської біофабрики і додавали стимулятор росту ВКГ в співвідношенні 1:1, опромінювали електромагнітним полем (30±9) мТл протягом 60 хв. та проводили термостатування протягом 15 діб при температурі 37<sup>0</sup>С. Після термостатування проводили центрифугування суспензії, що досліджувалась, а з осаду робили мазки, їх фарбували та мікроскопували згідно Наказу № 45 МОЗ України.

В процесі розвитку адаптивних форм збудника туберкульозу, що знаходився в туберкуліні відзначається значний поліморфізм мікобактерій, що залежить від терміну вирощування та середовища культивування. Результати досліджень культур свідчать, що мікобактерії мають вигляд коротких овоїдних паличок (рис. 3.). Слід зазначити, що в сприятливих умовах у цитоплазмі утворюється помітна зернистість - зерна Муха (Рис. 4.), більшість яких являють собою коковидні утворення розташовані, як правило, ближче до полюсів клітин у молодих (рис. 5.) і по всій довжині палички - в старих культурах (рис.6).

Таким чином, результати досліджень показали, що мікроструктура мікобактерій туберкульозу після опромінення магнітною індукцією (30±9) мТл протягом 60 хв. не порушується, а репродуктивна активність зростає. Одержані дані відповідають результатам культуральних досліджень, які свідчать про прискорення репродуктивної активності опромінених культур мікобактерій електромагнітним полем і це можна розглядати як метод виявлення адаптивних форм патогенних мікобактерій в туберкуліні.



*Рис. 3. Мікобактерії мають вигляд коротких овоїдних паличок (комп'ютерна мікроскопія)*



*Рис. 4. Утворення зернистої палички з кокоподібної клітини (комп'ютерна мікроскопія)*



*Рис. 5. Утворення паличко-подібної клітини та зерен Муха (комп'ютерна мікроскопія)*



*Рис. 6. В цитоплазмі палички (зерна Муха) кокоподібні утворення (комп'ютерна мікроскопія)*

**Висновки.** 1. Запропоновані нові підходи детекції збудника туберкульозу в харчовій сировині тваринного походження (молоці). Цей метод дає можливість виявлення збудника туберкульозу незалежно від стадії розвитку його в організмі тварин за короткий проміжок часу (2–3 доби), тоді як за загальноприйнятою методикою потрібно 30-90 днів.

2. Встановлено, що при стерелізації туберкуліну ППД для савців та пастеризації молока гинуть вегетативні форми патогенних мікобактерій і появляються біологічні структури збудника туберкульозу (артроспори), які мають екофункціональну стійкість в навколишньому природному середовищі. Попадаючи в організм людини чи тварини артроспори патогенних мікобактерій розпочинають свій біологічний цикл розвитку, при цьому може розвиватись латентний перебіг захворювання. Ось чому виникає необхідність контролю біобезпеки пастеризованого молока.

3. Результати досліджень показали, що опромінення магнітною індукцією ( $30 \pm 9$ ) мТл протягом 60 хв. суспензії (туберкулін ППД для савців та стимулятор росту ВКГ) можна розглядати як метод виявлення адаптивних форм патогенних мікобактерій в туберкуліні ППД для савців, де мікроструктура адаптивних мікобактерій туберкульозу не порушується, а репродуктивна активність зростає.

### Література

1. Колос Ю., Стець В., Титаренко В., Зелінський М., Якубчак О., Хоменко В. До питання діагностики туберкульозу в тварин // Ветеринарна медицина України - 2006- №11-С. 10-12
2. Барбара Якобз. Безопасность продуктов питания в ЕС. // Продукты и ингредиенты .Київ - 2005. №7(16) С.64-66
3. Мельничук С.Д., Хмельницький Г.О., Якубчак О.М. Якість і безпека продукції тваринництва: сучасний стан і перспективи. // Сучасна ветеринарна медицина Київ - 2005. - №4.С. 6-7

4. Матеріали міжнародного інституту природничих наук ( ILSI). Оценка безопасного для здоровья содержания химических соединений в продуктах питания. // Пищевые ингредиенты сырье и добавки. - 2005. Москва -№1С.68-69
5. Гойчук О.І. Продовольча безпека та її забезпечення в Україні. Вісник аграрної науки Причорномор'я. - Вип.,4. - Миколаїв, 2001, -6с. 205-211.
6. Пароля О.Б. Качество пищевой продукции как элемент государственной политики в сфере повышения уровня здоровья нации. Международный научно-теоретический журнал Эпизоотология, иммунобиология, фармакология, санитария .№ 3, 2004, - С.68-70
7. Власенко В.В. Туберкулез в фокусе проблем современности. Винница: Наука. 1998. 35 с.
8. Власенко В.В., Багрий П.И. Стимулятор роста возбудителя туберкулеза «Ридын», питательная среда для выделения возбудителя туберкулеза, способ получения питательной среды, способ выделения возбудителя туберкулеза на питательной среде. Патент Украины № 43467. Бюллетень № 11.17.12.2001.
9. Власенко В.В., Лысенко А.П., Дзюмак М.А. и др. Экологический мониторинг при туберкулинодиагностике крупного рогатого скота. Агроэкологічний журнал. 2003. № 1. С. 76-79.

#### References

1. Kolos Yu., Stets V., Tytarenko V., Zelinskyi M., Yakubchak O., Khomenko V. Do pytannia diahnostryky tuberkuliozu v tvaryn// Veterynarna medytsyna Ukrainy - 2006- №11-S. 10-12
2. Barbara Yakobz. Bezopasnost produktov pytanyia v ES. // Produkty y unhyredyenty .Kyiv - 2005. №7(16) S.64-66
3. Melnychuk S.D., Khmelnytskyi H.O., Yakubchak O.M. Yakist i bezpeka produktsii tvarynnystva: suchasnyi stan i perspektyvy. // Suchasna veterynarna medytsyna Kyiv - 2005. - №4.S. 6-7
4. Materialy mizhnarodnoho instytutu pryrodnychkh nauk ( ILSI). Otsenka bezopasnoho dlia zdorovia sodержaniya khymycheskykh soedyneni v produktakh pytanyia. // Pyshchevyye unhyredyenty сыре y dobavky. - 2005. Moskva -№1S.68-69
5. Hoichuk O.I. Prodovolcha bezpeka ta yii zabezpechennia v Ukraini. Visnyk ahrarnoi nauky Prychornomoria. - Vyp.,4. - Mykolaiv, 2001, -6s. 205-211.
6. Parolia O.B. Kachestvo pyshchevoi produktsyy kak element hosudarstvennoi polytyky v sfere povysheniya urovnia zdorovia natsyy. Mezhdunarodnyi nauchno-teoreticheskyi zhurnal Эпизоотология, immunobyolohyia, farmakolohyia, sanytaryia .№ 3, 2004, - S.68-70
7. Vlasenko V.V. Tuberkulez v fokuse problem sovremennosti. Vynnytsa: Nauka. 1998. 35 s.
8. Vlasenko V.V., Bahryi P.Y. Stymuliator rosta vzbudytelia tuberkuleza «Ryдын», pytatelnaia sreda dlia vydeleniia vzbudytelia tuberkuleza, sposob polucheniia pytatelnoi sredy, sposob vy-deleniia vzbudytelia tuberkuleza na pytatel-noi srede. Patent Ukrainy № 43467. Biulleten № 11.17.12.2001.
9. Vlasenko V.V., Lysenko A.P., Dziimak M.A. y dr. Экологический мониторинг пры tuberkulynodyahnostryke krupnoho rohatoho skota. Ahroekolohichnyi zhurnal. 2003. № 1. S. 76-79.

УДК 619:616.982.2

#### **ИССЛЕДОВАНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ МИКОБАКТЕРИЙ ТУБЕРКУЛЕЗА В КОНТЕКСТЕ БИОБЕЗОПАСНОСТИ МОЛОКА / В.В. Власенко, А.П. Лысенко, И.Г. Власенко, А.Н. Притиченк**

В работе исследуется современное состояние и перспективы улучшения качества и безопасности продуктов питания в Украине. Предложены новые подходы детекции возбудителя туберкулеза в пищевом сырье животного происхождения (молоке). Этот метод дает возможность выявления возбудителя туберкулеза независимо от стадии развития его в организме животных за короткий промежуток времени (2-3 суток), тогда как по общепринятой методике нужно 30-90 суток. Установлено, что при стерелизации ППД для млекопитающих и пастеризации молока погибают вегетативные формы патогенных микобактерий и появляются биологические

структуры возбудителя туберкулеза (артроспоры), имеющих екофункциональную устойчивость в окружающей среде.

**Ключевые слова:** качество, безопасность, возбудитель туберкулеза, молоко, туберкулинодиагностика.

**UCC 619:616.982.2**

**INVESTIGATION OF THE STABILITY OF MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS IN THE CONTEXT OF BIOSAFETY MILK / V. Vlasenko, A.P. Lysenko, I.G. Vlasenko, A.N. Prytychenko**

In work examines the current state and prospects for improving the quality and safety of food products in Ukraine .. New approaches for detecting Mycobacterium tuberculosis in raw food of animal origin (milk). This motod enables detection of Mycobacterium tuberculosis regardless of its stage of development in animals in a short period of time (2-3 days), whereas a conventional method to 30-90 days. When sterelizatsiyi tuberculin PPD and milk pasteurization killed vegetative forms of pathogenic mycobacteria appear and biological structure of Mycobacterium tuberculosis (artrospor) having ekofunksionalnu stability in the environment.

**Key words:** quality, safety, causative agent of tuberculosis, milk, tuberculin.

*Рецензент: Палій Г.К., доктор медичних наук,  
Подільський науково-дослідний центр туберкульозу*