



Slovak international scientific journal

№41, 2020

Slovak international scientific journal
VOL.2

The journal has a certificate of registration at the International Centre in Paris – ISSN 5782-5319.

The frequency of publication – 12 times per year.

Reception of articles in the journal – on the daily basis.

The output of journal is monthly scheduled.

Languages: all articles are published in the language of writing by the author.

The format of the journal is A4, coated paper, matte laminated cover.

Articles published in the journal have the status of international publication.

The Editorial Board of the journal:

Editor in chief – Boleslav Motko, Comenius University in Bratislava, Faculty of Management

The secretary of the journal – Milica Kovacova, The Pan-European University, Faculty of Informatics

- Lucia Janicka – Slovak University of Technology in Bratislava
- Stanislav Čerňák – The Plant Production Research Center Piešťany
- Miroslav Výtisk – Slovak University of Agriculture Nitra
- Dušan Igaz – Slovak University of Agriculture
- Terézia Mészárosová – Matej Bel University
- Peter Masaryk – University of Rzeszów
- Filip Kocisov – Institute of Political Science
- Andrej Bujalski – Technical University of Košice
- Jaroslav Kovac – University of SS. Cyril and Methodius in Trnava
- Paweł Miklo – Technical University Bratislava
- Jozef Molnár – The Slovak University of Technology in Bratislava
- Tomajko Milaslavski – Slovak University of Agriculture
- Natália Jurková – Univerzita Komenského v Bratislave
- Jan Adamczyk – Institute of state and law AS CR
- Boris Belier – Univerzita Komenského v Bratislave
- Stefan Fišan – Comenius University
- Terézia Majercakova – Central European University

1000 copies

Slovak international scientific journal

Partizanska, 1248/2

Bratislava, Slovakia 811 03

email: info@sis-journal.com

site: <http://sis-journal.com>

CONTENT

BIOCHEMISTRY AND GENETICS OF ANIMALS

Vuhliar V.

THE USE OF MEDICINAL PLANTS THAT CONTAIN
ESSENTIAL OILS IN THE FEEDING OF FARM

ANIMALS 3

EARTH SCIENCES

Gatsulya O., Bashtannyk V.

THEORETICAL AND METHODOLOGICAL PRINCIPLES OF
PUBLIC ADMINISTRATION REFORM IN THE CONTEXT
OF DECENTRALIZATION..... 9

GENETICS AND BIOTECHNOLOGY

Datsyuk I.

EFFICIENCY OF COMMODITY CARP GROWING 16

PHYSIOLOGY OF ANIMALS

Bilavtseva V.

THE EFFICIENCY OF YOUNG PIGS WHEN FED BVMD
"ENERIC" IN DIFFERENT PERIODS OF THEIR
GROWING 31

Farionik T.

VETERINARY AND SANITARY EXAMINATION OF
CATTLE MEAT WHEN FEEDING
MINERAL SUPPLEMENTS 46

Voititska O.

DIAGNOSTIC VALUE OF BACTERIOLOGICAL
METHODS FOR DETECTING MYCOBACTERIUM
TUBERCULOSIS 39

на 15,8 та 16,2 %; маси туші - на 19,4 та 20,5 %; забійного виходу - на 2,5 та 5,1 %; виходу туші - на 6,4 та 8,6 %.

Список літератури

1. Акімов О.В. Обґрунтування використання об'ємистих кормів у системі органічного виробництва свинини. Ефективні корми та годівля. 2014. № 4. С. 33 – 35.
2. Білявцева В.В., Гуцол А.В. Ефективність використання БВМД «Енервік» при вирощуванні свиней на м'ясо. Аграрна наука та харчові технології. Вінниця, 2016. Вип. 3 (94). С. 18–28.
3. Богданов Г.О. Рекомендації з нормованої годівлі свиней. К.: Аграрна наука, 2012. С.22–42.
4. Богомоллова Р.А. Биологическое действие карнитина на организм с.-х. животных и птицы: монография. Йошкар-Ола, 2006. 236 с.

5. Гетья А.А., Петриченко В.Ф., Тимченко В.Н. Сучасні технології годівлі свиней: рекомендації. Полтава, 2010. 79 с.

6. Голушко В.М., Сидоренко Р.П., Ситько В.А. Применение кормовой добавки карнитина в рационах свиней. Ефективні корми та годівля. 2009. № 8. С. 35– 39.

7. Епифанов В., Фарин П., Бедный С. Целлобактерин повышает эффективность свиноводства. Животноводство России. 2008. №7. С. 58.

8. Козыр В.С. Практические методики исследований в животноводстве. Днепропетровск: Арт-Пресс, 2002. С. 79 – 86.

9. Поліщук А.А., Булавкіна Т.П. Сучасні кормові добавки в годівлі тварин та птиці. Вісник Полтав. ДАА. 2010. №2. С. 66–69.

10. Плохинский Н.А. Руководство по биометрии для зоотехников. М.: Колос, 1969. 352 с.

ДІАГНОСТИЧНА ЦІННІСТЬ БАКТЕРІОЛОГІЧНИХ МЕТОДІВ ВИЯВЛЕННЯ МІКОБАКТЕРІЙ ТУБЕРКУЛЬОЗУ

Войціцька О.М.

Вінницький національний аграрний університет

DIAGNOSTIC VALUE OF BACTERIOLOGICAL METHODS FOR DETECTING MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS

Voititska O.

Vinnitsia National Agrarian University

Анотація

В статті приведено результати огляду літературних даних та порівняння ефективності різних бактеріологічних методів виділення збудника туберкульозу. Розглянуто в яких випадках краще застосовувати той чи інший метод діагностики та його діагностичну цінність, а також позитивні та негативні сторони застосування кожного з них окремо.

Труднощі у виявленні мікобактерій, не дивлячись на збільшення частоти захворюваності туберкульозом, пов'язані з одного боку, з великим відсотком олігобацилярних хворих, а з іншого – з мінливістю збудника, що потрібно враховувати в першу чергу при виборі методу діагностики.

Abstract

The article presents the results of a review of literature data and a comparison of the effectiveness of different bacteriological methods of isolating the pathogen of tuberculosis. It is considered in which cases it is better to apply this or that method of diagnostics and its diagnostic value, and also positive and negative parties of application of each of them separately.

Difficulties in detecting mycobacteria, despite the increase in the incidence of tuberculosis, are associated on the one hand, with a large percentage of oligobacillary patients, and on the other - with the variability of the pathogen, which should be taken into account when choosing a diagnostic method.

Ключові слова: мікобактерії, поживні середовища, бактеріоскопія, прискорені методи виявлення мікобактерій, культуральна діагностика.

Keywords: mycobacteria, culture media, bacterioscopy, accelerated methods for detection of mycobacteria culture diagnosis.

Вступ. На сьогоднішній день туберкульоз продовжує залишатися проблемою багатьох країн. У багатьох частинах світу хвороба вийшла з-під контролю, тому, в квітні 1993 року, ВООЗ проголосила туберкульоз глобальною небезпекою.

Хвороба викликається бактеріями роду *Mycobacterium*, родини *Mycobacteriaceae*, яка налічує велику кількість видів. До цієї родини входять кислото- і спиртостійкі аеробні нерухомі прями чи вигнуті паличкоподібні бактерії. Розміри паличок коливаються в межах 1,0 – 10,0 × 0,2 – 0,6 мкм, кінці

злегка заокруглені, у цитоплазмі містяться зернисті утворення. Мікобактерії здатні утворювати коковидні структури, атакож L- форми, що зберігають свою патогенність.

Кислото- та спиртостійкість бактерій обумовлена високим вмістом ліпідів та міколової кислоти в клітинній стінці. Розмножуються повільно, в середньому 14-18 годин. Оптимальними для культивування є температура 37 -38 °С та рН 7,0-7,2. Для вирощування найчастіше використовують щільні

яєчні середовища, такі як Левенштейна – Єнсена, Фінна – 2 та інші.

Вважається, що майже половина населення світу інфікована мікобактеріями туберкульозу. Щорічно у світі реєструється захворюваність 7-10 млн. чоловік, з них близько 3 млн. помирає від цієї недуги. Туберкульоз на сьогодні не ліквідований в жодній з країн.

Статистичні дані не віддзеркалюють реальної картини щодо захворюваності, оскільки вони ґрунтуються на реєстрації хворих при зверненні їх у лікувальні заклади, а тому фактична кількість хворих та інфікованих може сягнути значно більших показників. Однак, навіть кількість зареєстрованих хворих в Україні сягнула показників епідемії. В нашій країні хворих на туберкульоз 1,2% від всієї кількості населення, а це за показниками ВООЗ вважається епідемією.

На думку деяких авторів зміни в епідеміології туберкульозу в гіршу сторону пов'язані не тільки із зниженням рівня життя людей, а й із змінами характеристик самого збудника. Дані зміни відбуваються на рівні морфології мікобактерій та їх ферментативних систем.

Р. Кох розглядав мікобактерії туберкульозу як дещо стійке і з назавжди закріпленими властивостями. Такі погляди вченого на мономорфізм збудника не покидали його навіть при наявності великої кількості робіт інших дослідників з питань мінливості мікобактерій. Вже в 1883 році Malassez, Vignal описували кокоподібні форми, а в 1887 році Roux, Nocard виявляють наявність в старих культурах мікобактерій форм, що розгалужуються. Кокоподібні форми, а також мікобактерії з включеннями зерен вперше описані Much, і отримали назву зерен Муха.

Однак з періоду великого відкриття Робертом Кохом збудника туберкульозу пройшло багато часу, і погляди на природу і властивості збудника значно змінились.

Вивчення морфології, біохімії та генетики мікобактерій, а також метаболічних процесів, що в ній відбуваються, дало змогу вважати мікобактерію туберкульозу високоорганізованою структурою, що здатна здійснювати широкий діапазон функцій. І все це обумовлено різними формами мінливості збудника. Між окремими видами мікобактерій туберкульозу спостерігаються перехідні форми.

Кислотостійкі патогенні мікобактерії, як й інші мікроорганізми, що взаємодіють із зовнішнім середовищем, змінюються через мінливі умови середовища. Зміни морфологічних, культуральних і біохімічних властивостей при цьому можуть бути як тимчасовими, так і стійкими.

Проблема туберкульозу останніми роками стає дедалі актуальнішою і продовжує загострюватися у всьому світі. Значна частина цієї проблеми пов'язана з мінливістю збудника, яка ускладнює діагностику хвороби загальноприйнятими бактеріологічними методами.

Мікобактерії туберкульозу володіють широким поліморфізмом, який являється однією з най-

більш характерних особливостей даного виду мікроорганізмів. Збудники можуть бути типової форми або зміненої, зокрема L-форма дуже дрібна – фільтрувальна.

На сьогоднішній день існує велика кількість бактеріологічних прийомів для виявлення мікобактерій туберкульозу в біологічному матеріалі. Однак мікробіологічна діагностика займає одне з головних місць і являється основою для подальших методик в процесі постановки діагнозу.

Вважається, що одним з найбільш чутливих методів виділення збудника туберкульозу з матеріалу є культуральний, так як дає можливість отримати результат навіть при малій кількості мікобактерій в досліджуваному матеріалі.

Матеріали та методи. Проведено опрацювання та вивчення різних літературних джерел з питання бактеріологічної діагностики туберкульозу.

Наведено порівняльну характеристику кожного з методів.

Результати дослідження. Бактеріологічні методи дослідження передбачають проведення бактеріоскопії, виділення чистої культури збудника та постановку біопроби.

Кожен із зазначених методів має свої позитивні та негативні сторони. Тому для одержання більш достовірних результатів, при постановці діагнозу на туберкульоз, необхідний комплексний підхід із застосуванням всіх методів.

Клітинна стінка мікобактерій характеризується високим вмістом ліпідів, які не дозволяють застосовувати звичайні анілінові фарби. По методу Грама збудник туберкульозу фарбується важко, однак зазвичай розглядається як грампозитивний. Використовуються спеціальні методи фарбування, які сприяють проникненню фарби в мікробну клітину, але пофарбовані мікобактерії не піддаються знебарвленню навіть за допомогою кислоти та спирту. Така стійкість до знебарвлення кислотою та спиртом отримала назву кислотостійкість. Однак кислотостійкість може бути частково чи повністю втрачена на деяких стадіях розвитку частиною мікробних клітин у окремих видів мікобактерій [1].

Бактеріоскопічний метод охоплює пряму бактеріоскопію мазків забарвлених за Цілем-Нільсеном, бактеріоскопію методом флоатції, люмінесцентну та фазовоконтрастну мікроскопію [2].

Пряма бактеріоскопія один із основних методів виявлення мікобактерій туберкульозу, є простим, загальнодоступним та швидким. Не зважаючи на найновіші досягнення в бактеріології, за основу діагностики туберкульозу і контролю за лікуванням даної хвороби у всьому світі прийняте бактеріоскопічне дослідження мазка мокрот для виявлення кислотостійких бактерій (КСБ) [3]. Даний метод дослідження можна здійснити в умовах будь-якої лабораторії. При прямій бактеріоскопії найбільш вживаним методом є фарбування препаратів за Цілем-Нільсеном. Для цього на фіксований мазок кладуть шматочок фільтрувального паперу, наливають на папір фуксин Ціля і обережно нагрівають його над полум'ям до появи парів, після чого залишають

препарат для охолодження. Потім за допомогою піпета обережно знімають з препарату фільтрувальний папір і промивають скельце до повного видалення барвника. Знебарвлення проводять за допомогою 5% розчину сірчаної кислоти чи 3% розчину солянокислого спирту, які наносять максимум на 3 хвилини. Потім знову скельце ретельно промивається, видаляються залишки води і виконується дофарбовування мазка 0,25% розчином метиленового синього. Мікобактерії туберкульозу зафарбовуються в рубіново-червоний колір, а фон мазка та некислотостійкі мікроорганізми в синій колір. Підготовлені мазки мікроскопують під імерсією. На перегляд препарату зазвичай потрібно біля 15 хвилин. Цього часу достатньо, щоб виявити поодинокі мікобактерії в препараті. В цьому випадку необхідно переглянути не менше 300 полів зору [4].

Слід відмітити, що крім класичного методу Ціля-Нільсена існує ще його модифікація за Власенком-Березовським [5]. Модифікація методу полягає в тому, що замість карболового фуксину застосовують 10% розчин формалінового фуксину, який в якості протравлювача містить не карболову кислоту, а формалін.

Крім багатьох позитивних сторін, існують також фактори, які обмежують використання бактеріоскопічного методу діагностики для виявлення збудника туберкульозу. А саме, метод фарбування за Цілем-Нільсена дає змогу виявити мікобактерії в тих випадках, коли в 1 мл мокротиння міститься близько 5 000-10 000 мікробних тіл [2]. Хоча деякі джерела [6, 7] вказують на те, що пряма мікроскопія дає змогу виявити мікобактерії туберкульозу лише тоді, коли їх концентрація в 1 мл мокротиння становить не менше 100000, в іншому випадку даний метод неефективний.

На ранніх стадіях захворювання масивність бактеріовиділення невисока, відповідно кількість мікобактерій в 1 мл матеріалу, що містить збудника, як правило, нижча можливостей виявлення мікроскопічними дослідженнями. Крім цього, мікроскопія не дозволяє диференціювати збудника туберкульозу з нетуберкульозними мікобактеріями і, відповідно, є недостатньою для достовірного встановлення етіології хвороби.

Даний метод має низьку чутливість, але вона компенсується швидкістю, доступністю, а головне епідеміологічною значимістю даного дослідження. Справа в тому, що позитивний результат говорить про масивне виділення збудника, що становить небезпеку для оточуючих [8].

Однак не слід забувати й про дещо інші тенденції бактеріовиділення, які склались на сучасному етапі розвитку медицини [9,10]. Введення нових сильних туберкуліностаติกів в практику фтизіатрії, а також антибактеріальної терапії призводить до олігобацилярності хворих [1]. Якщо при цьому врахувати невисоку дозвільну здатність бактеріоскопічних методик, стане зрозумілою необхідність їх вдосконалення.

Якщо в дослідному матеріалі мікобактерій мало і їх важко виявити при прямому мікроскопічному дослідженні, то вдаються до різних методів

обробки матеріалу з метою концентрації збудника – методи збагачення. Серед різноманітних методів збагачення найбільше поширення отримав метод флотації, запропонований в 1931 році Pottenger. За даними Pottenger, за допомогою цього методу можливо виявити мікобактерії туберкульозу при їх вмісті 1000 мікробних тіл в 1 мл матеріалу [3].

Для дослідження методом флотації суспензію в об'ємі 12,0–15,0 мл поміщають у колбу 250,0 мл, додають таку ж кількість 0,5% розчину їдкого натрію або калію і для кращої гомогенізації струшують протягом 10–15 хвилин, потім до половини ємності колби наливають дистильовану воду із додаванням 0,5 мл ксилолу чи бензину. Весь вміст струшують 5–10 хвилин, після чого доливають дистильовану воду до повного об'єму – 250,0 мл, через 30–60 хвилин крапельки бензину (ксилолу) спливають на поверхню, захоплюючи за собою МБТ і концентруючи їх у невеликому об'ємі утвореного на поверхні кільця. Флотаційне кільце піпеткою переносять на предметне скельце. Препарат фарбують за Цілем-Нільсеном.

Ще одним методом збагачення, який рекомендований МОЗ України, як найменш трудомісткий та безпечний, є кип'ятіння з содовим розчином [4]. Для цього приготувану 10% суспензію дослідного матеріалу відливають в пробірку в кількості 10–20 мл, до неї додають рівний об'єм стерильного 5,0% розчину харчової соди (бікарбонату натрію), ставлять на водяну баню і кип'ятять протягом 45 хв. з моменту закипання води. Далі вміст виливають в центрифужні пробірки, центрифугують при 1500 об/хв. протягом 25–30 хв., надосягнувши рідину зливають, а з осаду роблять тонкі мазки, фарбують за Цілем-Нільсеном і мікроскопують під імерсійною системою світлового мікроскопу.

Люмінесцентна мікроскопія має більш високу чутливість у виявленні мікобактерій. Метод може бути використаний при різних методах обробки біологічного матеріалу. Простий і надійний метод люмінесцентної мікроскопії може використовуватись в щоденній роботі практичних лабораторій в тих випадках, коли неможливо виявити мікобактерії туберкульозу в мазках пофарбованих за Цілем-Нільсеном.

Даний метод мікроскопії ґрунтується на здатності мікобактерій сприймати люмінесцентні барвники і потім світитися при опроміненні ультрафіолетовими променями. Існує ряд методик забарвлення препаратів для люмінесцентної мікроскопії: акридиновим жовтогарячим; аураміном і родаміном за Боем; аураміном за Хагеманом; аураміном за Хагеманом в модифікації Набонна [4].

За допомогою люмінесцентної мікроскопії можливо виявити мікобактерії при їх кількості від 500 мікробних клітин в 1 мл дослідного матеріалу, що значно підвищує її діагностичну ефективність. Переваги даного методу в тому, що він дозволяє проводити дослідження при менших збільшеннях мікроскопа і, відповідно, переглядати більшу площу мазка в одному полі зору. При застосуванні малих збільшень можливо за один і той же час тестувати

більшу кількість полів зору ніж при світловій мікроскопії.

Однак, слід зазначити, що при люмінесцентній мікроскопії виникає необхідність диференціювати мікобактерії туберкульозу від сапрофітних та умовно-патогенних мікобактерій.

Фазово-контрастна мікроскопія є єдиним мікроскопічним методом дослідження, що дозволяє спостерігати клітини мікобактерій і їх біологічно змінені форми в живому стані. Дана методика мікроскопії здійснюється за допомогою спеціального фазово-контрастного пристосування КФ-4, яке приєднується до звичайного світлового мікроскопа. Для здійснення даної мікроскопії найчастіше застосовують методику дослідження препаратів типу «роздавлена крапля». Для приготування препарату на чисте знежирене предметне скельце наносять краплю рідкої суспензії досліджуваного матеріалу, покривають краплю чистим покривним скельцем так, щоб між предметним і покривним скельцями не було пухирців повітря. Крапля суспензії клітин повинна бути такою, щоб після її роздавлювання рідина не виступала за межі покривного скла. Виготовлені таким чином препарати досліджують відразу, оскільки при зберіганні вони висихають.

При лабораторній діагностиці туберкульозу недостатньо дати відповідь: виявлені чи не виявлені мікобактерії туберкульозу. Для клініки туберкульозу, для детального уявлення про характер мікобактерій і визначення прогнозу захворювання необхідно вивчення різноманітних властивостей культур, виділених із дослідного матеріалу. Вивчають медикаментозну чутливість, ферментативну активність, вірулентність, типове належність виділених штамів. Крім того, хворий на туберкульоз, в процесі антибактеріального лікування, може виділяти мікобактерії туберкульозу (МБТ) морфологічно змінені та в малій кількості, які не можливо виявити бактеріоскопічними методами. Тому в комплексі досліджень, спрямованих на виявлення МБТ, обов'язковим є посів патологічного матеріалу на живильні середовища для виділення культури збудника. Виділення культур МБТ дає змогу визначити життєздатність збудника, його медикаментозну чутливість, ферментативну активність та вірулентність [11,12,13].

На сьогоднішній день існують різноманітні поживні середовища для культивування мікобактерій туберкульозу. Їх приготування базується на застосуванні речовин без яких ріст і розмноження мікроорганізмів неможливі. Безпосередньо після відкриття мікобактерії туберкульозу була поширена думка Коха, згідно з якою мікобактерія являється суровим паразитом і ріст її можливий лише в тваринному організмі чи в такому тваринному субстраті, як сироватка крові.

Однак в 1888 році Г.Д. Павловський показав, що для цієї мети можна застосовувати і рослинний субстрат – гліцеринову картоплю з 0,5% розчином соди. Цим самим було доведено, що пошуки штучних поживних середовищ для вирощування мікобактерій туберкульозу перспективні. Питання їх оп-

тимального складу, які розглядалися протягом багатьох десятиліть, залишаються актуальними і донині.

Починаючи ще з робіт Р. Коха і до 1924 року велися пошуки методів виділення чистих культур мікобактерій, які не мали особливих успіхів. Лише з 1924 року, завдяки працям Lovensteinta Sumiyochu, які встановили, що кислоти і дуги у відомих концентраціях і при визначених експозиціях вбивають супутню мікрофлору, не впливаючи на життєздатність мікобактерій туберкульозу з'явилась можливість виділення культур мікобактерій. В Радянському Союзі перші культури мікобактерій туберкульозу із бактеріоскопічно-позитивного матеріалу були отримані в 1927 році Я.Н. Каган та Л.Л. Зайденберг[3]. На сьогоднішній день, діючі в Україні інструкції з бактеріологічної діагностики туберкульозу, рекомендують для передпосівної обробки біологічного матеріалу застосовувати трьохзаміщений фосфорнокислий натрій, гідроокис натрію, сірчану кислоту [4]. Найбільш зручним і поширеним є метод обробки за допомогою трьохзаміщеного фосфату натрію. При цьому допустима тривала експозиція патологічного матеріалу з реактивом без порушення життєздатності *M. tuberculosis*(2-3 доби). Крім того, трьохзаміщений фосфат натрію добре пригнічує супутню мікрофлору і гомогенізує матеріал.

Розрішення багатьох питань культивування мікобактерій туберкульозу стало можливим після того, як була детально вивчена біохімія живлення мікробної клітини, потреби її в тих чи інших поживних речовинах, які являються необхідним будівельним матеріалом та джерелом енергії. Дані потреби найбільш великі для одержання першої генерації мікобактерій туберкульозу, так як мікроорганізм при цьому здійснює перший крок з умов тваринного організму в нові, незвичні для нього пробіркові умови.

Крім того, отримання чистих культур мікобактерій із біологічного матеріалу має ряд труднощів. Вони пов'язані з тим, що дослідний матеріал майже завжди виявляється контамінованим супутньою мікрофлорою. Проте успіх виділення мікобактерій туберкульозу залежить не тільки від раціональної обробки біологічного матеріалу, а й від вірного підбору поживного середовища. Ріст мікробної популяції залежить від якості поживного середовища.

Труднощі у виявленні мікобактерій, не дивлячись на збільшення частоти захворюваності туберкульозом, пов'язані з одного боку, з великим відсотком олігобацилярних хворих, а з іншого – з мінливістю збудника. Крім того, такі біологічні особливості МБТ, як повільний ріст (3-4 тижні) й особливі поживні середовища, також вносять ряд складностей у діагностику туберкульозу [14].

В медичній та ветеринарній практиці для виявлення мікобактерій традиційно використовують яєчні поживні середовища: Левенштейна-Єнсена, Гельберга, Петраньяні, Фінна-2, «Нове» (Мордовського) [15]. Однак, дані середовища мають ряд недоліків, наприклад неоднорідність складу, яка пов'язана перш за все з різним поєднанням білка та

жовтка. На думку Л.М. Моделя [16], білок взагалі повинен бути виключений із складу яєчних поживних середовищ. Оскільки рН білкової маси близький до лужної і знаходиться в межах 8,0 – 8,3, що може значно гальмувати ріст мікобактерій туберкульозу. К. Долінов (1934) вказує на те, що рН білкової плазми свіжих яєць складає 8,0 – 8,3, жовткової – 5,8 – 6,3, з плином часу рН яєчного білка досягає 9,7.

Жодне з існуючих поживних середовищ не відповідає оптимальним вимогам, у зв'язку з чим, для підвищення результативності методів бактеріологічної діагностики рекомендують користуватися паралельно двома – трьома середовищами [17].

При конструюванні нових поживних середовищ, для культивування мікобактерій більшість дослідників обов'язково включають яєчний жовток і вважають можливою відмову від білка (А.З. Смолянська, 1958; С. Лаанес, Е. Тальмейстер, 1956; Matula, Nemeicova, 1968) [18].

Культуральний метод дослідження безумовно має ряд переваг перед бактеріоскопічним. Однак, йому властиві і недоліки, які обумовлені тривалістю термінів появи видимих колоній мікобактерій туберкульозу. Ріст мікобактерій на середовищі Левенштейна-Єнсена зазвичай виявляється після 3-6 тижнів у вигляді безпігментних колоній. Однак контроль за пробірками здійснюється кожних 7-10 днів протягом 3-х місяців. Лише при відсутності колоній після 3 місяців культивування посів вважається від'ємним. Позитивну відповідь лабораторії видають лише після мікроскопічної ідентифікації отриманих культур мікобактерій туберкульозу [19].

Крім тривалого росту, можливі негативні результати культурального дослідження у випадках позитивної бактеріоскопії [20]. Дане явище може бути обумовлене різними причинами. У хворих, які отримували хіміотерапію, збудник міг втратити здатність до росту на поживних середовищах. Це може свідчити про те, що такі хворі в період обстеження виділяють або вже мертві мікобактерії туберкульозу (деякі з них за Ціль-Нільсеном фарбуються так як і живі) або змінені, мало життєздатні, не здатні до розмноження на штучних поживних середовищах. У хворих, які не лікувались, дане явище може пояснюватись впливом сонячних променів і тепла на дослідні проби, або їх тривалим зберіганням [20].

У зв'язку з актуальністю даної проблеми багато вчених працюють над удосконаленням і винаходом більш ефективних поживних середовищ, які б могли компенсувати всі негативні сторони застосування відомих на сьогодні поживних середовищ.

Однак, не зважаючи на всі недоліки, широке застосування в гуманній і ветеринарній медицині отримало середовище Левенштейна-Єнсена, яке рекомендоване ВООЗ для всіх координаційних лабораторій і вважається «золотим стандартом» в Україні. Дане середовище ще в 1965 році було прийняте як міжнародне, оскільки на ньому найбільш часто спостерігалась підвищена висіваємість мікобактерій туберкульозу [18].

Спроби створити поживне середовище не менш чутливе, ніж середовище Левенштейна – Єнсена, закінчилось розробкою середовища Фінна-2 [21]. Воно відрізняється від середовища Левенштейна-Єнсена тим, що не містить висококошторисну складову L-аспарагін. На цьому середовищі ріст мікобактерій, як правило, з'являється на декілька днів раніше, ніж на середовищі Левенштейна-Єнсена. Використання двох середовищ одночасно підвищує відсоток виділення *M. tuberculosis* з патологічного матеріалу і є обов'язковим [22].

Такий недолік культурального методу діагностики, як повільний ріст мікобактерій туберкульозу і звідси запізниті результати, змусили вдаватися до принципово нових методів. Так було запропоновано метод мікрокультур чи метод Прайса [8].

Метод Прайса заснований на мікрокультивуванні мікобактерій на предметних скельцях, в глибині рідкого середовища. Як живильне середовище використовується свіжа цитратна гемолізована донорська кров, термін придатності якої для росту мікобактерій - не більше 10 діб. Кров від донора збирається в стерильну колбу з 5,0 % розчином цитрату натрію (на 100,0 мл крові 10,0 мл цитрату). Цитратна кров гемолізується стерильною дистильованою водою у співвідношенні 1:10 - 1:5 (в залежності від дати взяття крові). Гемолізована кров над полум'ям пальника розливається по 5,0 мл у стерильні пробірки.

Облік результатів проводиться через 8-10 діб інкубації в термостаті при 37°C. Після закінчення цього терміну пробірки з мазками автоклавують, обережно відмивають водою від крові, підсушують, фіксують над полум'ям, фарбують за Цілем-Нільсеном і мікроскопують під малим збільшенням мікроскопа. При позитивному результаті в мазках одержують характерні мікроколонії, що представляють собою забарвлені в червоний колір переплетені джгути, так звані "коси", які складаються з великої кількості щільно притиснутих одна до одної клітин, їх можна побачити, перевівши об'єктив на імерсійну систему. Корд-фактор (тригалола-6,6-диміколат), що забезпечує зближення бактеріальних клітин у мікроколоніях, забезпечує ріст у вигляді серпантинovidних "кіс" і має відношення до вірулентності збудника. Слід зазначити, що предметне скельце повинно бути лише новим, без подряпин, добре відмитим, знежиреним в суміші Нікіфорова і простерилізованим [23].

Крім методу Прайса для мікрокультивування *M. tuberculosis* також застосовують напівсинтетичне середовище Школьнікової до складу якого входить: калій фосфорнокислий однозаміщений - 1,5 г, натрій фосфорнокислий двоаміщений - 2,5 г, магній сірчанокислий - 0,5 г, натрій лимоннокислий - 1,5 г, лимоннокислоаміачне залізо - 0,05 г, L-аспарагін - 1,0 г, гліцерин - 30,0 мл, вода дистильована до 1000,0 мл, нативна бичача сироватка та пеніцилін [4].

Найбільш швидким культуральним методом на сьогоднішній день є ВАСТЕС – рідко-культуральна система, яка дозволяє одержати ріст мікобактерій через 10-14 днів. [24].

Серед інших швидких культуральних методів слід зазначити *Micobacteria Growth Indicator Tube* (MGIT), які дозволяють виявляти МБТ по забарвленню або флюорисцируванню внаслідок утворення CO_2 або споживання O_2 у процесі життєдіяльності мікобактерій. Ці системи дозволяють одержати результати через 11-18 днів [24].

Вищезгадані автоматизовані системи дають змогу не лише прискорити етап дослідження на виявлення росту МБТ, а також значно раніше виявити медикаментозну чутливість до антибактеріальних препаратів.

Однак, не зважаючи на великі досягнення в автоматизації діагностики, нові культуральні системи звичайно використовуються паралельно з посівом на тверде середовище Левенштейна-Єнсена для досягнення оптимальної чутливості.

Поряд із широкими можливостями сучасної діагностики, бактеріологічна діагностика туберкульозу безперечно має ряд складностей. Вельми актуальна сьогодні проблема мінливості збудника туберкульозу.

В останні роки у зв'язку з широким використанням лікувальних препаратів у 19,0-20,0% випадків спостерігається диспропорція між виявленням МБТ при бактеріоскопічному дослідженні та їх ростом при посіві патологічного матеріалу на живильні середовища. Це явище спричинене тим, що МБТ, які спостерігають під мікроскопом, не ростуть на загальноприйнятих живильних середовищах [25]. Така дисоціація зумовлена впливом на мікобактерії туберкульозу лікарських препаратів.

Дослідники дотримуються думки про те, що наявність у хворих клінічних ознак туберкульозу при негативних бактеріоскопії та посіві вимагає доповіжних методів дослідження для виявлення змінених форм збудника туберкульозу [26].

Одним з таких методів можна вважати середовище ВКГ із стимулятором росту, запропоноване українським науковцем В.В. Власенко. Даний метод заслуговує уваги і рекомендований для впровадження в практику регіональних бактеріологічних лабораторій [27]. Середовище ВКГ із стимулятором росту розроблене на основі детального вивчення стадій біологічного розвитку мікобактерій туберкульозу і його застосування науково обґрунтовано [27].

Для культуральної діагностики, особливо позалеженої локалізації туберкульозу, застосовують широкий комплекс живильних середовищ. Це пов'язано з частою олігобацилярністю, а також пониженою життєздатністю і ферментативною активністю МБТ. Для отримання більш достовірних результатів доцільно проводити посів крові хворого на живильне середовище ВКГ, що дає можливість виділити збудника туберкульозу зі зниженою життєздатністю і ферментативною активністю [25,26,27] та з паралельним використанням класичних поживних середовищ. Ріст перших колоній на класичних середовищах з'являється через 30-90 діб, тоді як на середовищі ВКГ через 2-3 доби. Даний метод можна вважати досить чутливим мікробіологічним експрес-тестом. Однак, межі його чутливості й специфічності ще не достатньо вивчені

[28]. На думку деяких вчених, допрацювання потребує метод ідентифікації виділеного збудника та інтерпретація отриманих результатів.

Біологічний метод діагностики туберкульозу, як вказують Е.А. Финкель, Л.В. Михайлова [29], являється найбільш чутливим діагностичним тестом виявлення туберкульозних мікобактерій і є основним в дослідженнях з визначення типів мікобактерій, їх вірулентності та при вивченні атипичних культур.

Для експериментального відтворення туберкульозу найчастіше використовують морських свинок, які відрізняються надзвичайно високою чутливістю до туберкульозних мікобактерій [29]. У цих тварин досить низький імунологічний захист і достатньо ввести їм одиничні вірулентні мікобактерії туберкульозу, щоб отримати у відповідь розвиток генералізованого туберкульозу [3]. Однак, доцільно проводити одночасно зараження морських свинок і посів. Поєднання обох методів дає більше можливостей виявити мікобактерії в патологічному матеріалі [4].

Для зараження відбирають порівняно молодих свинок вагою 280-330 г., нещодавно народжені та старі тварини для цієї мети не придатні. Матеріал морським свинкам зазвичай вводять підшкірно в пахову зону. При малій кількості патологічного матеріалу застосовується внутрішньобрюшинне зараження. По даним С.Х. Лаанес та Е.І. Тюрі (1961), Е.І. Тюрі і М.Е. Тюрі (1964), інтратестикулярне зараження морських свинок підвищує чутливість методу при наявності в патологічному матеріалі слабовірулентних мікобактерій туберкульозу [3].

При розвитку туберкульозу, на місці введення матеріалу до кінця місяця пропальповуються збільшені лімфатичні вузли.

Алергічна реакція, в період розвитку у свинок туберкульозного процесу, проявляється приблизно через місяць після зараження. Зараженій морській свинці проводять туберкулінову пробу. При позитивних туберкулінових пробах і наявності місцевих реакцій, морських свинок забивають через 1-1,5 місяців після зараження, при відсутності – через 3 місяці [3].

Іноді, при обстеженні олігобацилярних хворих, при посіві матеріалу мікобактерії не висіваються, а при зараженні морської свинки можуть визначитися незначні зміни в регіонарному лімфатичному вузлі або в органах. У таких випадках варто зробити посів органів свинки для одержання культури і її подальшого вивчення [4].

Висновки.

1. Пряма бактеріоскопія один із основних методів виявлення мікобактерій туберкульозу, є простим, загальнодоступним та швидким методом, однак дає змогу виявити мікобактерії в тих випадках, коли в 1 мл мокротиння міститься близько 5 000-10 000 мікробних тіл.

2. Люмінесцентна мікроскопія має більш високу чутливість у виявленні мікобактерій у порівнянні з прямою бактеріоскопією.

3. Метод культивування дає можливість вивчення властивостей культур, виділених із дослідного матеріалу. Вивчають медикаментозну чутливість, ферментативну активність, вірулентність, типову належність виділених штамів. Крім того,

хворий на туберкульоз, в процесі антибактеріального лікування, може виділяти мікобактерії туберкульозу (МБТ) морфологічно змінені та в малій кількості, які не можливо виявити бактеріоскопічними методами.

4. Однак отримання чистих культур мікобактерій із біологічного матеріалу має ряд труднощів. Вони пов'язані з тим, що дослідний матеріал майже завжди виявляється контамінованим супутньою мікрофлорою.

5. Біологічний метод діагностики туберкульозу являється найбільш чутливим діагностичним тестом виявлення туберкульозних мікобактерій і є основним в дослідженнях з визначення типів мікобактерій, їх вірулентності та при вивченні атипичних культур.

Список літератури

1. Ротов В.И. Туберкулёз сельскохозяйственных животных / В.И. Ротов. – К.: Урожай, 1978. – 240 с.
2. Фтизиатрия / [Петренко В.І., Москаленко В.Ф., Фещенко Ю.І. т. ін.]; за ред. В.І. Петренка. – Вінниця: Нова книга, 2006. – С. 73.
3. Ященко Т.Н. Руководство по лабораторным исследованиям при туберкулезе / Т.Н. Ященко, И.С. Мечева. – М.: Медицина, 1973. – 260 с.
4. Наказ МОЗ України №45 від 6.02.2002.
5. Березовський І. В. Мікобактерії туберкульозу: поліморфізм та детекція збудника, удосконалення живильних середовищ : автореф. дис. ... канд. вет. наук : 16.00.03 / Березовський Ігор Васильович ; Одес. держ. аграр. ун-т. - О., 2011. - 20 с.
6. Перельман М.И. Фтизиатрия: учебник./М.И. Перельман, В.А. Корякин. – М.: Медицина, 1996. – 336 с.
7. Фещенко Ю.І. Хіміорезистентний туберкульоз / Фещенко Ю.І., Мельник В.М., Кобилянська А.В. – К.: Здоров'я, 2003 – 136 с.
8. Маянский А.Н. Микобактерии: туберкулёз и микобактериозы // Н.Новгород – 2000. – 74 с.
9. Фещенко Ю.І. Питання епідеміології та програмний принцип боротьби з туберкульозом в сучасних умовах / Ю.І. Фещенко, В.М. Мельник, В.П. Костроміна, О.В. Деркач, О.О. Речкіна // Укр. пульмонологічний журнал. – 2000. – № 3 (29). – С. 5-7.
10. Чернушенко Е.Ф. Діагностика персистенції мікобактерій туберкульозу / Е.Ф. Чернушенко, М.Г. Клименко, О.А. Журило // Лабораторна діагностика. – Київ, 2000. – № 3. – С. 49-54.
11. Савченко П.Е. Лабораторная диагностика туберкулеза животных / П.Е. Савченко. – Чернигов. – 1998. – 64 с.
12. Рудой Н.М. Лекарственная устойчивость микобактерий туберкулеза / Н.М. Рудой. – М.: Медицина, 1969. – 288 с.
13. Драбкина Р.О. Вирулентность полирезистентных штаммов микобактерий туберкулеза / Р.О. Драбкина, М.Т. Клименко // Пробл. туберкулеза. – 1978. – № 11. – С. 70-75.
14. Гольшевская В.И. Организационно – методические подходы к совершенствованию микробиологической диагностики туберкулеза в России [Текст] / В.И. Гольшевская, М.В. Шульгин, Э.В. Севастьянов // Проблемы туберкулеза и болезней легких. – 2002. - №12. – С. 3 -7.
15. Ткаченко О. Проблема атипичних мікобактерій і зумовленої ними мікобактеріозної інфекції / О. Ткаченко // Ветеринарна медицина України. – 1999. – № 3. – С. 26-27.
16. Модель Л.М. Биология и биохимия туберкулезных микобактерий. – М.: Издательство АМН СССР, 1952. – 248 с.
17. Журило О.А. Сучасні методи бактеріологічної діагностики туберкульозу і визначення медикаментозної стійкості збудника до антимікобактеріальних препаратів [Текст] / О.А. Журило, А.І. Баррובה, С.В. Миронченко // Актуальні питання фтизіатрії. – 2009. - №1. – С. 8 – 12.
18. Финкель Е.А. Сухие питательные среды для диагностики туберкулеза / Е.А. Финкель, Ю.Б. Погребинская. – Ф.: Кыргызстан, 1977. – С. 9-11.
19. Бліхар Є. Фтизіатрія: Підручник. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2002.- С. 99.
20. Томан К. Туберкулёз: выявление и химиотерапия. Вопросы и ответы / Томан К. – Женева: Всемирная организация здравоохранения, 1980. – С.59.
21. Романенко В.Ф. Характеристика различных видов микобактерий туберкулеза, культивированных на не свойственном им хозяине [Текст] / В.Ф. Романенко, А.М. Дяченко, В.С. Козлов // Проблемы туберкулеза и болезней легких. – 1997. - №2. – С. 49 – 51.
22. Власенко В.В. Мікробіологічна експрес-діагностика туберкульозу / Власенко В.В., Конопко І.Г., Василенко С. П. – Вінниця, 2000. - с.4-5.
23. Власенко В.В. Внутрішньоклітинний розвиток збудника туберкульозу в системі крові / В.В. Власенко, І.Г. Власенко // Науковий вісник Львівської національної університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім. С.З.Гжицького. – Львів, 2009. – Т. 11, № 2 (41). Частина 2 – С. 46-51.
24. Стандарти діагностики і лікування туберкульозу [Текст]: методичні рекомендації / Інститут фтизіатрії і пульмонології ім. Ф.Г. Яновського АМН України. – Київ, 2004. – С. 17.
25. В.В. Власенко, І.В. Березовський, І.Г. Конопко, Сучасні підходи діагностики туберкульозу (рекомендації) – Вінниця: «ГІПАНІС», 2001. – С. 28-29.
26. Мельник Е.Г., Плоскирев Н.В., Розенблат В.М. Сравнительное изучение новой сухой аспарагиново-глицериновой среды для выращивания микобактерий туберкулеза // ЖМИЭ. – 1970. - №7. – С. 63-65.
27. Власенко В.В. Туберкулёз в фокусе проблем современности / В.В. Власенко. – Винница: Наука, 1998. – 35с.
28. Фещенко Ю.І. Клінічна оцінка швидкого виявлення мікобактерій на живильному середовищі ВКГ / Ю.І. Фещенко, В.М. Мельник, Л.В. Турченко, В.В. Власенко // Український пульмонологічний журнал. – 2003. – № 2. – С. 15-16.
29. Финкель Е.А. Биологический метод исследований при туберкулезе / Е.А. Финкель, Л.В. Михайлова– Фрунзе, 1976. – 159 с.

№41, 2020
Slovak international scientific journal

VOL.2

The journal has a certificate of registration at the International Centre in Paris – ISSN 5782-5319.

The frequency of publication – 12 times per year.

Reception of articles in the journal – on the daily basis.

The output of journal is monthly scheduled.

Languages: all articles are published in the language of writing by the author.

The format of the journal is A4, coated paper, matte laminated cover.

Articles published in the journal have the status of international publication.

The Editorial Board of the journal:

Editor in chief – Boleslav Motko, Comenius University in Bratislava, Faculty of Management

The secretary of the journal – Milica Kovacova, The Pan-European University, Faculty of Informatics

- Lucia Janicka – Slovak University of Technology in Bratislava
- Stanislav Čerňák – The Plant Production Research Center Piešťany
- Miroslav Výtisk – Slovak University of Agriculture Nitra
- Dušan Igaz – Slovak University of Agriculture
- Terézia Mészárosová – Matej Bel University
- Peter Masaryk – University of Rzeszów
- Filip Kocisov – Institute of Political Science
- Andrej Bujalski – Technical University of Košice
- Jaroslav Kovac – University of SS. Cyril and Methodius in Trnava
- Paweł Miklo – Technical University Bratislava
- Jozef Molnár – The Slovak University of Technology in Bratislava
- Tomajko Milaslavski – Slovak University of Agriculture
- Natália Jurková – Univerzita Komenského v Bratislave
- Jan Adamczyk – Institute of state and law AS CR
- Boris Belier – Univerzita Komenského v Bratislave
- Stefan Fišan – Comenius University
- Terézia Majercakova – Central European University

1000 copies

Slovak international scientific journal

Partizanska, 1248/2

Bratislava, Slovakia 811 03

email: info@sis-journal.com

site: <http://sis-journal.com>