

Лекція 1

СИСТЕМАТИКА, МОРФОЛОГІЯ ТА ФІЗІОЛОГІЯ

МІКРООРГАНІЗМІВ.

План

- 1. Предмет та завдання мікробіології**
- 2. Систематика бактерій**
- 3. Морфологія мікроорганізмів**
- 4. Фізіологія мікроорганізмів**

Рекомендована література

Базова

1. Ветеринарна мікробіологія. / Скибіцький В.Г., Власенко В.В., Козловська Г.В., Ібатулліна Ф.Ж., Ташута С.Г., Мельник М.В. / К.: ТОВ «Дорадо-Друк», 2012. – 367 с.
2. Бортнічук В.А., Скибіцький В.Г., Ібатулліна Ф.Ж. Ветеринарна мікробіологія /Практикум для вузів/. К., 1993. – 178 с.
3. Методологія і методи наукових досліджень у тваринництві та ветеринарній медицині: Навчальний посібник. Друге видання / Укладачі: професор В.А.Яблонський, професор О.В.Яблонська.–Київ: 2014.– 512 с. -укр.
4. .Бортнічук В.А., Скибіцький В.Г., Ібатулліна Ф.Ж. Ветеринарна мікробіологія (практикум). Вінниця, «Нова книга», 2007
-239 с.
5. Демченко А.В., Бортнічук В.А., Скибіцький В.Г., Апатенко В.М. Ветеринарна мікробіологія та імунологія. –К.: «Урожай», 1996.– 368 с.
6. Скибіцький В.Г., Власенко В.В. Власенко І.Г.,Мельник М.В.,Ібатулліна Ф.Ж.,Соломон А.М., Козловська Г.В. Мікробіологія молока та молочних продуктів. Вінниця, «Едельвейс і К», 2008. – 412 с.

1.Предмет та завдання мікробіології

Мікробіологія (грец. mikros – маленький, bios – життя, logos – наука) – наука, що вивчає систематику, морфологію, фізіологію та генетику мікроорганізмів, поширення і роль їх у природі, можливості використання на користь людини.

Завдання мікробіології багатопланові, можуть бути вирішеними лише шляхом реалізації різних напрямів наукових досліджень.

Останнє сприяло диференціації мікробіології на загальну, медичну,

ветеринарну, сільськогосподарську, технічну та ін.

Загальна мікробіологія вивчає морфологію, фізіологію, генетику та інші біологічні властивості мікроорганізмів, а також їх екологію, роль у перетворенні речовин у природі, систематику.

Медична мікробіологія вивчає мікроорганізми, які викликають захворювання людини, розробляє методи їх лабораторної діагностики, терапії і специфічної профілактики.

Ветеринарна мікробіологія вивчає мікроорганізми – збудники інфекційних хвороб тварин. Вона тісно пов'язана із медичною мікробіологією, тому, що немало збудників інфекційних захворювань є спільними для людини і тварини.

Сільськогосподарська мікробіологія вивчає мікроорганізми, які мають відношення до мінералізації органічних речовин, збагачення ґрунту речовинами, дефіцитними для рослин, що сприяє с врожайності сільськогосподарських і технічних культур.

Технічна мікробіологія вивчає мікроорганізми, які здатні синтезувати амінокислоти, білкові препарати, мікробні добрива, біологічно активні речовини (антибіотики, вітаміни, ферменти), розробляє технології виробництва названих речовин, а також вина, пива, молочних продуктів; пропонує методи запобігання корозії металів, захисту від пошкодження мікроорганізмами продуктів харчування, будівельних матеріалів, різноманітних конструкцій.

2.СИСТЕМАТИКА БАКТЕРІЙ

важливим елементом будь-якої природничої науки є пізнання та упорядкування відповідних. Упорядкуванням (групуванням) живих істот, зокрема мікроорганізмів, займається спеціальна галузь біології – *систематика*. Процес встановлення належності живих істот до

певної групи (таксону) зветься *класифікацією*.

Нині відомі класифікації рослин та тварин. Під час їх створення враховувались родинні зв'язки представників таксономічних груп. Що ж стосується мікроорганізмів зробити це нелегко. Ще Карл Ліней (1707 – 1778), відомий систематик живих істот, відмовився від будь якої класифікації мікроорганізмів, надавши їм назву „хаос”, тобто безладдя. Тривалий час дискутувалась природа мікроорганізмів. Одні дослідники відносили їх до рослинного світу (царства рослин), інші до тваринного – царства тварин.

Пізніше було запропоновано спеціально для мікроскопічних організмів власне царство, назване Protista (від грецького protos - найпростіший).

При вивченні мікроорганізмів виявилось, що серед Protista є надзвичайно прості та складні за будовою істоти і їх поділили на дві великі групи: прокаріоти і еукаріоти. Підставою для такого поділу послужили роботи американського мікробіолога Р.Стейнієра (1916-1982), в яких було показано, що структура ядра і спосіб його поділу – найбільш характерні ознаки, за якими еукаріотичні організми відрізняються від прокаріотичних.

Прокаріотами (Procaryotae — доядерні) називають мікроорганізми, які не мають чітко диференційованого ядра, а містять його аналог — **нуклеоїд**. До них належать бактерії і синьо-зелені водорості, які ще називають ціанобактеріями. Вважають, що прокаріоти — похідні первісних істот, які існували понад три мільярди років тому. До прокаріотів відносять і недавно відкриті архебактерії.

Еукаріотами (Eucaryotae — ядерні) називають всі одноклітинні і багатоклітинні організми, які мають сформоване ядро, відмежоване від цитоплазми ядерною мембраною. До еукаріотів, що їх вивчають у

мікробіології, належать представники грибів, водоростей і найпростіших.

Еукаріотична клітина має ядро, відокремлене (в інтерфазі) від цитоплазми ядерною оболонкою. В ядрі міститься 1-2 ядерця, що є центрами синтезу рибосомальної РНК і хромосом – носіїв спадкової інформації, які складаються з дезоксирибонуклеїнової кислоти (ДНК) і білка. Ядро має по дві хромосоми кожного виду, отримані від обох батьків. Хромосоми вдається побачити лише під час поділу ядра

Мітоз забезпечує передачу повного набору хромосом кожній з дочірніх клітин. У клітинах цього типу є ендоплазматична сітка, виявляються лізосоми, апарат Гольджі та ін. В еукаріотичних клітинах виявлено два типи пластид - мітохондрії й хлоропласти. Мітохондрії беруть участь у процесах дихання й продукування енергії. Хлоропласти є у водоростей. У вищих рослин вони виявляються в тканинах, які здійснюють фотосинтез. Їх функція полягає в трансформації енергії світла в хімічну.

ттів іотичних клітин.

Таблиця 1.1.

Основні відмінності будови клітин прокаріот та еукаріот

Ознака	Прокаріотична клітина	Еукаріотична клітина
Ядерний апарат	Нуклеоїд. Немає	Ядро містить
Локалізація ДНК	В нуклеоїді й плазмідах, не	В ядрі і деяких органелах
Набір хромосом	Гаплоїдний	Гаплоїдний або
Склад хромосом	Складається з ДНК	Молекули ДНК
Синтез білка	На рибосомах 70S типу.	На рибосомах 80S типу, які можуть

Фотосинтез	Хлоропластів немає. Відбувається в	У хлоропластах, що містять
Клітинна стінка	Ригідна, містить полісахариди та амінокислоти.	Клітинні стінки зелених рослин і грибів ригідні і
Фіксація N ₂	Деякі мають цю здатність	Жоден організм не здатний до фіксації
Джгутики	Прості, мікротрубочок немає,	Складні, мають мікро-
Розмір клітини	Діаметр - 0,5-5,0 мкм	Діаметр - до 40 мкм; об'єм клітини

на суттєвих відмінностях в організації еукаріотичних і прокаріотичних клітин, Р.Мюррей (1968 р.) запропонував виділити прокаріоти в окреме царство - *Procaryotae* (гр. pro – до, karion – ядро). Рослини й тварини об'єднувалися в царство *Eucaryotae*. У цей же час (Р.Віттекер, 1969) запропонував живі істоти згрупувати у п'ять царств : царство рослин, царство тварин, царство грибів, царство найпростіших, царство бактерій. Пізніше було запропоновано «консенсусний» варіант таксономії живої природи, що викладений нижче.

1. Неклітинні (*Acellularia*)

1.1. Віруси

2. Клітинні (*Cellularia*)

2.1. Без'ядерні, доядерні (*Procaryotae*, *Archicaryotae*)

2.1.1 Археї (*Archaea*)

2.1.2 Еубактерії (*Eubacteria*)

2.2. Ядерні (*Eucaryotae*, *Nuclearia*)

2.2.1. Протисти (*Protista*)

2.2.2. Вищі рослини (*Cormophita*)

2.2.3. Гриби (*Mycota, Fungi*)

2.2.4. Тварини (*Animalia, Zoa*)

Таксономічна класифікація живих об'єктів постійно вдосконалюється у зв'язку з зрозумілим бажанням дослідників запропонувати таку, яка б максимально враховувала філогенез (принцип теорії походження видів). Вводяться нові поняття, здійснюється ревізія і модифікація відомих таксонів і організація нових. Так, в таксономії живої природи (*Systema Naturae* 2000) поряд з доменами *Bacteria*, *Archaea* з'явився новий таксон *Biota*, куди віднесли неклітинні форми життя - віруси. Раніше для останніх пропонували інші таксони :*Aphanobionta*, *Acytota* та ін.

Запропонувати єдину природну класифікацію для усіх мікроорганізмів поки-що не вдається. У зв'язку з цим були розроблені класифікації для окремих їх груп, зокрема бактерій і грибів. Класифікації будуються за принципом ієрархічної системи. У мікробіології, як і в систематиці вищих істот, основним таксоном вважається *вид*. Згідно з мікробіологічною термінологією, прийнятою в Україні, (ДСТУ , 1994) «вид» визначається як «таксономічна одиниця, що об'єднує організми на основі морфологічних, фізіолого-біохімічних, генетичних та інших ознак». Останній може поділятися на підвиди, біовари, штами, антигенні групи і варіанти. Близькоспоріднені види об'єднуються у роди. Останні, на основі спільності певних ознак, згруповані у родини, далі - порядки, класи, царства.

Називати вид прийнято за бінарною номенклатурою К.Ліннея латинською мовою. Спочатку вказують рід, потім вид . Наприклад: *Escherichia coli*, *Bacillus anthracis*, *Streptococcus equi*. Назва роду пишеться з великої літери, а назва виду – з маленької. При наявності

підвиду (subspecies) його теж вказують, наприклад : *Streptococcus equi* subsp. *zooepidermicus*, *Leuconostok mesenteroides* subsp. *dextranicum*. Деякі види мікроорганізмів можуть включати різні біовари (biovar), які відрізняються поміж собою за певними біологічними властивостями (*Rhizobium leguminosarum* biov. *Phaseoli* і ін.)

Існуючі класифікації мікроорганізмів у значній мірі штучні, хоч характерною є постійна тенденція систематиків до максимальної їх натуралізації – формування за філогенезом. Створюючи класифікації мікроорганізмів, дослідники нерідко користуються ознаками, що не належать до філогенетичних, але є зручними і допомагають у розпізнанні їх. Для чого потрібні класифікації? – Перш за все для розпізнавання мікроорганізмів, тобто для визначення їх виду (ідентифікації). Це непросте завдання. Багато мікроорганізмів – збудників різноманітних хвороб і таких, що не здатні викликати захворювання, чи, навіть, є корисними, можуть мати подібні ознаки. Розроблені класифікації фігурують у спеціальних посібниках для визначення мікроорганізмів. Їх кілька. Раніше широко використовували «Определитель бактерий и актиномицетов» М.О. Красильникова (1949), «Определитель бактерий» Р.А.Циона, 1948. Нині широко використовують визначники бактерій Д.Х.Бергі (1860 – 1937). Перше видання визначника Д.Х.Бергі з'явилося ще у 1923 р. Дев'яте видання « *Bergeus manual of systematic bacteriology* » видруковано у 1984 р. Визначник постійно удосконалюється і видається Американським товариством бактеріологів за участю провідних систематиків всього світу. В останньому виданні визначника всі бактерії об'єднані у царство *Procariotae* та розділені на чотири відділи: *Gracilicutes*, *Firmacutes*, *Tenericutas*, *Mendosicutes*.

Відділ *Gracilicutes* (лат. *gracilis* – тонкий, *cutes* - шкіра) об'єднує еубактерії, що мають клітинну стінку грамнегативного типу. Клітини

можуть бути овальної форми, прямі чи злегка зігнуті палички, або ж у вигляді спіралей чи тонких ниток. Розмножуються переважно шляхом бінарного поділу, деякі брунькуванням, шляхом множинних внутрішніх поділів з утворенням дрібних сферичних клітин – беоцитів (наноцитів). Є рухомі та нерухомі види. До цього відділу належать систематичні групи 1 - 16.

Група 1. Спірохети.

Група 2. Аеробні (мікроаерофільні, рухомі, спіралеподібні) віріюючі грамнегативні бактерії.

Група 3. Нерухомі (або рідко рухомі) грамнегативні зігнуті бактерії.

Група 4. Грамнегативні аеробні палички та коки.

Група 5. Факультативно-анаеробні грамнегативні палички.

Група 6. Грамнегативні, анаеробні, прямі, зігнуті й спіральні бактерії.

Група 7. Бактерії, які здійснюють дисиміляційне відновлення сульфату або сірки.

Група 8. Анаеробні грамнегативні коки.

Група 9. Рикетсії та хламідії.

Група 10. Аноксигенні фототрофні бактерії.

Група 11. Оксигенні фототрофні бактерії.

Група 12. Аеробні хемолітотрофні бактерії і родинні мікроорганізми.

Група 13. Бактерії, які брунькуються і або мають вирости.

Група 14. Бактерії, які мають чохол.

Група 15. Нефотосинтетичні ковзні бактерії, які не утворюють плодових тіл.

Група 16. Ковзні бактерії, які утворюють плодові тіла: міксобактерії.

Відділ *Firmacutes* (лат. лат. *firmus* – сильний, могутній) включає еубактерії, які мають клітинну стінку грампозитивного типу. Сюди віднесені аспорогенні та спороутворюючі бактерії, а також актиноміцети. Основні систематичні групи:

Група 17. Грампозитивні коки.

Група 18. Грампозитивні палички і коки, які утворюють ендоспори.

Група 19. Грампозитивні неспороутворюючі палички правильної форми.

Група 20. Грампозитивні неспороутворюючі палички неправильної форми.

Група 21. Мікобактерії.

Групи 22. – 29. Актиноміцети.

До відділу *Tenericutes* належать еубактерії, які не мають клітинної стінки – мікоплазми. Цитоплазма оточена лише елементарною мембраною. Надзвичайно поліморфні. Розмножуються брунькуванням, бінарним поділом, фрагментацією ниткоподібних форм чи шляхом складних морфологічних перетворень. Переважно нерухливі. Грамнегативні. Віділ представлений єдиною групою (група 30).

Група 30. Мікоплазми (або молікүти): бактерії без клітинної стінки.

Відділ *Mendosicutes* об'єднує прокаріоти в структурі клітинної стінки яких не виявляється істиний пептидоглікан. У грампозитивних видів є псевдомуреїн, метанохондріотин та гетерополісахарид. Форма клітин буває різною: сферичною, паличкоподібною, спіральною. Серед них є надзвичайно термореzистентні види, здатні рости при температурі понад 100°C, розмножуватись у гіперсолоній воді. До відділу належать систематичні групи 31 – 35.

Група 31. Метаногени.

Група 32. Сульфатредукуючі археї.

Група 33. Екстремально галофільні аеробні архебактерії (галобактерії).

Група 34. Архебактерії, позбавлені клітинної стінки.

Група 35. Екстремальні термофіли і гіпертермофіли, які метаболізують S.

У визначнику Бергі представлена лише частина мікроорганізмів, що циркулюють у природі. Це ті види, що досить добре вивчені та являють собою предметний інтерес для фахівців. Мікробіологам ще потрібно багато попрацювати, щоб включити до визначника всі можливі види мікроорганізмів. Це буде зроблено поетапно. Кожне наступне видання його включатиме щойно вивчені види. Міжнародний комітет з таксономії та номенклатури мікроорганізмів постійно аналізує здобутки дослідників мікросвіту та корегує і надає необхідну інформацію фахівцям, котрі мають справу з мікроорганізмами, зокрема спеціалістам ветеринарної медицини.

3.МОРФОЛОГІЯ МІКРООРГАНІЗМІВ

Морфологія бактерій

Бактерії (лат. bacteria – паличка) – це одноклітинні прокаріотичні мікроорганізми розміром 0,1 – 28 мкм, які часто утворюють специфічні угруповання. Найбільш розповсюдженими є кулясті (коки), паличкоподібні (циліндричні) та звивисті форми бактерій. Їх прийнято називати основними. Крім названих існують також і інші форми бактерій.

Кулясті бактерії або коки (лат. coccus – ягода, зерно) – мікроби кулястої (шароподібної), бобоподібної та ланцетоподібної форми розміром біля 1 мкм. В залежності від розміщення клітин після

розмноження коки поділяються на:

- *мікрококи* (лат. *micros* - дрібний) – поодинокі розміщені кулясті клітини. Як правило, це сапрофітні мікроорганізми і за звичайних умов не викликають захворювань у людини і тварини. До них належать, зокрема *M. lysodeikticus*, *M. varians*, *Azotobacter chroococcum* - типові мешканці води, ґрунту та повітря (рис.2.1).

Диплококи (лат. *diplo* – подвійний) – група коків, які після поділу не розходяться, а існують парами. Типовими представниками диплококів є збудники епідемічного цереброспинального менінгіту та гонореї. Ці мікроорганізми мають характерну бобоподібну форму в мазках, увігнутими сторонами повернуті один до одного. Збудники крупозної пневмонії у людини та диплококової інфекції у тварин також належать до диплококів, але мають ланцетоподібну форму. Зустрічаються диплококи і серед сапрофітів (*Azotobacter chroococcum* , рис. 4.2.).

Стрептококи (лат. *streptos* – ланцюг, намисто) – мікроби, які після поділу в одній площині не розходяться, а формують ланцюжки, що складаються з 3-4, а деколи з десятків клітин круглої або еліпсоподібної форми. Частина їх є сапрофітами, представниками нормальної мікрофлори людини і тварин , інші викликають тяжкі гнійно-септичні процеси (пневмонію, менінгіт, мастит тощо). Представники: *S. faecalis*, *S. lactis*, *S. .*

Тетракоки (гр. *tetra* - чотири) – клітини, розміщені по чотири, як наслідок поділу материнської клітини в двох взаємно перпендикулярних площинах. Як правило, ці мікроорганізми непатогенні для людини та тварин. Представники: *Stomatococcus mucilaginosus*, *Pediococcus damnosus*.

Сарцини (лат. *sarcio* – зв’язую) - коки розташовані у взаємно перпендикулярних площинах у вигляді пакетів з 8, 16, 32, 64 клітин. Патогенних представників серед них не виявлено. Представник: *Sarcina ventriculi*.

Стафілококи (лат. *staphylos* – гроно винограду) – коки, які діляться в кількох різних площинах. Клітини розташовуються хаотично, у вигляді скупчень. В мазках із культури нагадують виноградне гроно.

Зустрічаються в повітрі, ґрунті, організмі людини і тварин. Чисельні їх представники спричиняють різноманітні гнійно-септичні захворювання: фурункульоз, карбункульоз, нефрит, холецистит, менінгіт, пневмонію, мастит тощо.

Представники: *S. epidermidis*, *S. Saprophyticus*, *Staphylococcus aureus* (рис.2.5).

Паличкоподібні бактерії.

Розмір паличкоподібних бактерій коливається в межах 0,8 -11 мкм. Діаметр їх не перевищує 0,5 – 1,2 мкм.

Паличкоподібні форми прийнято розрізняти на такі, що не утворюють спор – *бактерії* та палички, що здатні утворювати спори, – *бацили*. В разі, коли спори перевищують діаметр самої палички їх називають *кlostридіями* (*Clostrum* – ракетка). Паличкоподібні форми бактерій в мазках можуть бути розташовані поодинокі, у вигляді ланцюжків чи мати унікальне розташування – подібне до букв X, V.

Паличкоподібні бактерії можуть мати різноманітну форму : пряма коротка чи, навпаки, товста паличка, злегка зігнута паличка, еліпсоподібна, веретеноподібна, у вигляді барабанної палички або тенісної ракетки та ін. Кінці їх можуть бути нібито обрублені (збудник сибірки), або рівні, заокруглені (кишкова паличка, сальмонели та ін.). Зустрічаються паличкоподібні форми із загостреними кінцями (фузобактерії), булаво-подібними потовщеннями на них. Інколи

трапляються мікроби, що мають розгалуження.

Хоча спороутворювальні бактерії є більш пристосованими до існування в несприятливих умовах, аспорогенні бактерії більш розповсюджені (*Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Serratia marcescens* та ін.)

Escherichia coli – кишкова паличка - один із постійних мешканців шлунково-кишкового тракту людини і тварин. Роль її в організмі надзвичайно важлива : синтезує вітамін К, сприяє формуванню тканинного імунітету, являється антагоністом багатьох патогенних мікроорганізмів. Проте, за певних обставин, може обумовити захворювання та, навіть, смерть людини і тварин.

Serratia marcescens (*Bacterium prodigiosum*) – чудесна паличка. Поява цього мікроорганізму на продуктах харчування, іконах, вівтарях супроводжувалась панікою, тому що цей мікроб синтезує криваво-червоний пігмент, і вигляд ікон, що ніби-то плачуть кривавими сльозами, або хліба з такими плямами, сприймалася людьми як страшне знамення. Існує давній переказ, що під час осаду Тіру у війську О. Македонського виникла паніка через те, що на хлібі з'явилися "криваві" плями. Але мудрець заспокоїв солдат, пояснивши "криваві" плями тим, що їх чекає кривава розправа над ворогом.

Серед неспороутворювальних паличок є бактерії, які викликають такі розповсюджені захворювання як дизентерія, туберкульоз, бешіха свиней, лістеріоз та ін.

Серед спороутворюючих паличок – бацил та клостридій також є чимало видів, які викликають тяжкі захворювання у людини і тварин. До них належать, зокрема, збудники сибірки, правця, ботулізму.

Звивисті форми бактерій. Мають унікальну зігнуту, хвилясту чи штопороподібну форму. У залежності від кількості витків, товщини та довжини клітини звивисті форми бактерій поділяють на вібріони, спірили

та спірохети .

Вібріони (лат. *vibrare* – коливатись, тремтіти) – зігнуті палички, які нагадують кому. Ці бактерії широко розповсюджені в морях та витоках річок, на поверхні морських тварин та у вмістимому кішківника. Деякі види виявлені також у прісній воді. Біля 10 видів є патогенними для людини, декілька видів викликають захворювання морських хребетних та безхребетних. Найбільш відомими збудниками захворювань людини є *Vibrio cholerae* – збудник холери, *V. parahaemolyticus* – збудник харчових отруєнь.

Спірили (лат. *spira* – завиток, спіраль) – на відміну від вібріонів, їх клітини товщі, довші та більш звивисті. Спірили– бактерії, які мають декілька вигинів, що надає їм форму англійської букви S. Патогенним представником є спірила, яка викликає у людини содоку (хворобу укусу щурів). До цієї групи мікроорганізмів належать також кампілобактерії та гелікобактерії, які здатні спричиняти у людини захворювання шлунково-кишкового тракту, сечостатевої системи. Спірили можуть мати від 1 до 8-10 витків. Переважно це сапрофіти, які мешкають у стоячих, забруднених водоймах, а також гниючих рештках рослинного та тваринного походження, зокрема: *S. volutans*, *S. minus* *S. volutans* – зустрічаються у стоячих прісних водоймах.

Мають понад 8 -10 і більше витків. Довжина їх клітини може сягати 500 мкм, проте діаметр збудників не перевищує - 0,3-1,5 мкм.

Зовні спірохети вкриті тонкою зовнішньою мембраною, яка обгортає протоплазматичний циліндр – цитоплазму з ядерною ділянкою, оточеною цитоплазматичною мембраною. Спіралью закручений протоплазматичний циліндр обвитий периплазматичними аксіальними нитками. Один кінець кожної нитки закріплений поблизу полюса протоплазматичного циліндра, а

інший – залишається вільним. З обох кінців клітини відходить однакова кількість ниток. Загальна кількість аксіальних фібрил варіює від 2 до 100 і більше, що визначається видовою належністю. Аксіальні нитки є компонентом рухового апарату клітини. Серед спірохет є сапрофіти, які зустрічаються у прісних та солоних озерах, донних відкладеннях (*Spirochaeta plicatilis*, *S. isovalerica*) та види, зокрема трепонеми (трепо - повертати, пемо - нитка), борелії (за прізвиськом французького бактеріолога А. Борреля) і лептоспіри (leptos - тонкий, ніжний). Трепонеми викликають у людини сифіліс, борелії - поворотний тиф, лептоспіри у людини і тварин - лептоспіроз (рис. 2.7).

В патології тварин найбільше значення мають лептоспіри.

Інші форми бактерій У природі існує немало бактерій, які не відповідають зовсім або ж частково критеріям, притаманним вищеописаним основним морфологічним групам. В окрему морфологічну групу можуть бути виділені мікобактерії *Mycobacterium tuberculosis*, *M. leprae*. Це прямі, або зігнуті палички, інколи ниткоподібні або ж міцелієподібні. Останні дві структури легко розпадаються на палички або коки.

Існують бактерії, що отримали назву нитчастих. Нитчасті бактерії - переважно паличкоподібні одноклітинні і багатоклітинні організми, їхні нитки утворені багатьма клітинами, з'єднаними за допомогою слизу, чохлів, піхв, плазмодесмів тощо. Нитчасті бактерії частіше всього можна зустріти у воді (ціанобактерії та ін.).

Виявлені бактерії, які мають вигляд зімкненого або розімкненого кільця (тороїдна форма), правильної шестикутної зірки, трикутника, плоских квадратних пластинок, гантелей та бактерій, що утворюють вирости - простеки (рис.2.8). Останні отримали назву *простекобактерії* Це переважно одноклітинні організми трикутної

або іншої форми. У деяких з них виявлена променева симетрія. Вони нерухливі, спор не утворюють.. Виявляються у водоймах та ґрунтах.

Форма клітин прокаріотів визначається твердою (ригідною) оболонкою. Для більшості клітин бактерій форма є сталою видовою ознакою. Однак є й деякі винятки з цього правила. У циклі розвитку низки бактерій спостерігається зміна форми клітин, наприклад у представників роду *Arthrobacter*. Для мікоплазм і L-форм бактерій, які не мають щільної оболонки, а оточені лише мембраною, властива здатність приймати різні форми, тобто для них є характерним явище плеоморфізму.

Залежить форма у багатьох випадках і від середовища, у якому перебуває мікроорганізм. Немало видів бактерій, вирощених на штучних живильних середовищах, суттєво відрізняються від тих, що перебувають в організмі людини чи тварин (збудник сибірки, збудник пастерельозу та ін.). Останнє слід мати на увазі під час ідентифікації бактерій. В історії мікробіології зустрічались дослідники, які категорично заперечували мінливість мікроорганізмів .- Це мономорфісти. Інші, навпаки, гіперболізували останню. Вони відомі як плеоморфісти. Нижче будуть детально охарактеризовані фактори, які впливають на мінливість мікроорганізмів, проте і на етапі знайомства з матеріалом цього розділу слід зрозуміти , що механізми спадковості і мінливості – притаманні всьому живому атрибуту, забезпечують продовження виду, який постійно еволюціонує разом з еволюцією всього живого на планеті.

Ультраструктура бактеріальної клітини. Бактеріальні клітини є прокаріотичними живими системами. Між ними та еукаріотами існують суттєві відмінності, які дозволяють віднести бактерії до самотійного царства. Слід пам'ятати, що у вищих еукаріотів тканини та органи складаються з окремих клітин, що знаходяться у

фізіологічній метаболічній залежності і не можуть існувати окремо. Мікробна клітина - абсолютно автономний складний організм, здатний до самостійного, індивідуального існування

Найбільш суттєвою ознакою прокаріотів є відсутність структуризованого ядра. Його роль відіграє нуклеоїд - ядерна речовина, яка розташована в цитоплазмі та не відмежована від неї каріолемою. У бактерій немає таких органел, як мітохондрії, апарат Гольджі, ендоплазматичний ретикулум, хлоропласти, мікротільця. Проте вони мають мезосоми, функція яких аналогічна мітохондріальній, рибосоми константа седиментації яких складає 70S, в той час як в еукаріотів – 80S. Існують і інші суттєві відмінності.

Незважаючи на згадані кардинальні відмінності в структурі клітин різних систем, загальний план їх будови залишається подібним. Прокаріотний організм містить основні притаманні клітинам еукаріотів елементи: оболонку, цитоплазму, ядерний апарат, включення (рис.2.9).

Нуклеоїд - ядерний апарат бактеріальної клітини займає її центральну частину, має неправильну форму і не відмежовується від цитоплазми оболонкою. Він складається з однієї суперспіралізованої дволанцюгової ДНК діаметром до 2 нм, замкнутої в кільце, інтегрованої з РНК-полімеразою. Довжина цієї гігантської молекули може сягати 3 мм. Молекулярна маса нуклеоїда коливається в межах $(1-3) \times 10^9$ дальтон, і містить він до 8×10^9 пар нуклеїнових основ. Вміст пар основ А+Т і Г+Ц в молекулі кожної клітини є постійним для певного виду бактерій.

Як правило, в клітині нуклеоїд представлено однією копією, проте під час поділу клітини число цих копій може збільшуватись до 2-9.

Досить часто бактерії поруч із хромосомною містять позахромосомну ДНК значно менших розмірів, також скручену в кільце і локалізовану в цитоплазмі. Такі елементи одержали назву *плазмід*. Вони детермінують синтез деяких речовин, ферментів, токсинів, забезпечують стійкість бактерій до антибіотиків та ін.

Ядерну субстанцію мікробів можна виявити в ультратонких зрізах при дослідженні їх в електронному мікроскопі, за допомогою імунофлуоресцентної, радіоімунної мікроскопії, радіоавтографії, а також забарвлюючи її за методами Робіноу-Фельгена, Пікарського тощо.

Цитоплазма бактерійних клітин має рідку консистенцію, прозора, гомогенна, відмежовується від зовнішнього середовища цитоплазматичною мембраною. Вона є колоїдним розчином органічних сполук у воді та розчином мінеральних сполук: білків, ліпідів, ДНК і РНК, вуглеводів, полісахаридів та ін. В'язкість її у 800-8000 разів перевищує аналогічний показник води.

Структура і консистенція цитоплазми залежать від віку мікроба - гомогенна у молодих клітин, вона поступово набуває дрібнозернистого вигляду в старих, стає схожою з щільниками. У ній з'являються вакуолі, волокнисті утворення, збільшується її густина, за консистенцією вона нагадує гель.

При ультрацентрифугуванні цитоплазми можна одержати "розчинну" фракцію, до якої входять різноманітні ферменти, і фракцію "часток" з мембран та рибосом. Рибосоми виконують роль фабрики синтезу білка, їх розмір досягає 16x18 нм. Складаються вони з двох білкових субодиниць 30S-50S. Клітина може містити до 5000-50000 рибосом, число їх збільшується при активному синтезі білка.

Часом рибосоми збираються у скупчення, які називають полірибосомами або полісомами.

У процесі життєдіяльності мікроорганізмів у цитоплазмі з'являються морфологічно диференційовані частки, які називають включеннями. Вони бувають різними за своєю природою і виконують різноманітні функції.

Запасні речовини прокаріотів представлено полісахаридами, ліпідами, поліпептидами, поліфосфатами, сіркою. Як полісахариди вони відкладаються у крохмаль, глікоген, гранульозу. У несприятливих умовах вони забезпечують клітину вуглецем та енергією.

Ліпіди можуть накопичуватись у вигляді гранул оксимасляної кислоти, їх можна побачити навіть при звичайній мікроскопії, забарвлюючи препарати Суданом III або Суданом чорним.

Широко розповсюджений тип поживних речовин - поліфосфати. Вони містяться у гранулах, які називають волютиновими, і використовуються клітинами як джерело фосфору. Крім того, вони мають макроенергічні фосфатні зв'язки, отже, забезпечують потреби клітини в енергії. Зерна волютина називають ще метакроматичними включеннями, тому що вони забарвлюються в колір, невластивий основному барвнику. Наприклад, метиленова синька забарвлює їх у темно-фіолетовий колір, в той час як цитоплазму клітини - в голубий. Вперше включення такого типу було знайдено у *Spirillum volutans*, звідки вони й одержали таку назву. Наявність зерен волютину характерна для коринебактерій, зокрема, для збудника дифтерії.

Аналогічну функцію забезпечення енергетичних потреб клітини можуть виконувати включення колоїдної сірки, а в деяких анаеробних мікроорганізмів вона виступає ще й донором електронів у біохімічних процесах.

Деколи у бактерій з'являються особливі утворення, які називають вакуолями, їм відводять роль сховища різноманітних бактеріальних ферментів, а також резервуара, де скупчуються непотрібні клітині продукти обміну.

Оболонка бактерій складається з цитоплазматичної мембрани, клітинної стінки, а у деяких видів також і з капсули.

Цитоплазматична мембрана знаходиться на межі цитоплазми мікробної клітини та клітинної стінки. Цю структуру прийнято називати елементарною мембраною. Її будова у прокаріотів і еукаріотів подібна. Мембрана - обов'язковий структурний компонент мікробної клітини, без неї вони гинуть. За хімічним складом вона є білково-ліпідним комплексом із невеликою кількістю вуглеводів. Формуючи всього 8-15% маси клітини, мембрана містить до 70-90% її ліпідних субстанцій.

Дослідження під електронним мікроскопом показали, що мембрана є багатошаровим утворенням. Вона складається з подвійного шару фосфоліпідних молекул. Гідрофобні їх кінці спрямовані всередину, а гідрофільні - назовні. Такий тип розташування стабілізує мембрану. В цей шар вмонтовано інтегральні білки, які пронизують його наскрізь. Деякі групи білків прикріплюються до поверхні мембрани, тому їх називають периферійними. Деколи мембрана покривається ще одним особливим типом білка - поверхневим.

Елементарна мембрана здатна утворювати інвагінації, які називаються **мезосомами**. Останні відіграють велику роль у життєдіяльності клітини, постачаючи її енергією та беручи активну участь у процесах реплікації нуклеоїда.

Функції мембранного комплексу різноманітні: він забезпечує селективну проникність та транспорт різноманітних речовин із зовні всередину клітини і навпаки, завдяки існуванню в ньому особливих білків-ферментів *пермеаз*; здійснює транспорт електронів та окисне фосфорилування субстратів; генерує електрохімічну енергію трансмембранного потенціалу; виділяє гідролітичні ферменти; проявляє біосинтетичну активність; є місцем прикріплення джгутиків.

Виявити цитоплазматичну мембрану можна в ультратонких зрізах бактерій під електронним мікроскопом.

Клітинна стінка. Клітинна стінка створює захисний шар, який зрівноважує високий внутрішній осмотичний тиск бактерій (5-20 атмосфер). Таку міцність забезпечує речовина - *муреїн*, *пептидоглікан*.

Хімічний склад та будова клітинної стінки постійні для певного виду бактерій і є важливою діагностичною ознакою. Залежно від будови клітинної стінки бактерії поділяють на дві групи – грампозитивні та грамнегативні. Метод диференційного фарбування був запропонований Х. Грамом у 1884 р. Суть методу полягає в тому, що деякі компоненти клітинної стінки при взаємодії з барвниками трифенілметанового ряду (кристалічний фіолетовий, генціановий фіолетовий) у поєднанні з йодом утворюють стійкий комплекс, який не знебарвлюється спиртом (або ацетоном). Ці бактерії отримали назву грампозитивних. У грамнегативних бактерій відбувається вимивання цього комплексу, такі клітини сприймають додатковий (контрастний) барвник (наприклад, розчин фуксину). Клітинні стінки грампозитивних та грамнегативних прокаріот відрізняються як за хімічним складом (табл. 2.1), так і за ультраструктурою (рис. 2.11). Основною складовою частиною клітинної

стінки, як грампозитивних, так і грамнегативних прокаріот є біополімер мукопептид (пептидоглікан, муреїн). Молекула пептидоглікану має скелет, який утворюється залишками N-ацетилглюкозаміну і N-ацетилмурамової кислоти, з'єднаних між собою β -1,4-глюкозидними зв'язками. *N-ацетилглюкозамін* – це похідне глюкози, в якому гідроксильна група при другому атомі вуглецю заміщена аміногрупою. Молекула *N-ацетилмурамової кислоти* – це ефір N-ацетилглюкозаміну і молочної кислоти. Ця сполука є унікальною, зустрічається лише у прокаріот. До карбоксильної групи молочної кислоти в молекулі N-ацетилмурамової кислоти приєднується пептидний залишок (у більшості випадків тетрапептид), який включає L- та D-форми амінокислот (L-аланін, D-глютамін, m-діамінопімелінова кислота, D-аланін), що чергуються між собою.

Таблиця 2.1.

**Хімічний склад клітинних стінок грампозитивних і
грамнегативних прокаріот**

Компоненти клітинної стінки	Грам- позитивні прокаріоти	Грамнегативні прокаріоти	
		вн. шар	зовн. шар
- Пептидоглікан	+	+	-
- Тейхоеві кислоти	+	-	-
- Полісахариди	+	-	+
- Білки	\pm	-	+
- Ліпіди	\pm	-	+
- Ліпополісахариди	-	-	+
- Ліпопротеїди	-	\pm	\pm

У грампозитивних прокаріот клітинна стінка щільно прилягає до ЦПМ і під електронним мікроскопом має вигляд гомогенної електронно-щільної структури товщиною 20-80 нм. На долю пептидоглікану (основної складової клітинної стінки прокаріот) припадає 50-90 %. У грамнегативних бактерій клітинна стінка має багат шаровий склад. Електронно-щільний шар товщиною 2-3 нм не щільно прилягає до ЦПМ.

Назовні від пептидоглікану розташована зовнішня мембрана, яка має хвилястий вигляд. Між ЦПМ та зовнішньою мембраною клітини грамнегативних бактерій є електронно-прозорий проміжок, який називають периплазматичним . Пептидними містками такі гетерополімерні ланцюги зв'язуються між собою, утворюючи гігантський муреїновий мішок. Те, що до складу бактерій входять речовини, відсутні в тваринних і рослинних клітинах (N-ацетилмурамова кислота і N-ацетилглюкозамін), створює можливість цілеспрямованого знищення бактерій деякими антибіотиками (пеніциліни, цефалоспорины), оскільки клітинні стінки еукаріотів при цьому не пошкоджуються.

Створена з муреїну структура виконує функцію опорного каркасу, надаючи форму мікробній клітині, крім того, з ним зв'язуються інші речовини.

За особливостями будови мікробного муреїнового каркасу і вмістом деяких речовин у клітинній стінці можна відрізнити так звані грампозитивні бактерії від грамнегативних. Вміст пептидоглікану в грамнегативних значно менший – від 1 % до 10 % .

У грампозитивних бактерій муреїновий шар складає 30-70 % маси клітинної стінки, утворюючи до 40 шарів. Замість мезодіамінопімелінової кислоти в ньому міститься LL-діамінопімелінова кислота або лізин. Суттєвою особливістю є

наявність особливих тейхоєвих кислот.

Під електронним мікроскопом таку клітинну стінку видно як губчасту структуру з порами діаметром 1-6 нм.

Грамнегативні бактеріальні клітини мають значно складнішу будову стінки. До її складу входить велике розмаїття біологічних молекул. *Муреїновий шар* у них одношаровий, складає до 10 % маси сітки. Він містить мезодіамінопімелінову кислоту, немає лізину, а міжпептидні містки відсутні. Тейхоєвих кислот у стінці також немає. Зовні до муреїнового шару прилягає шар *лінопротеїну*, який переходить у *зовнішню мембрану*, що складається з білків, фосфоліпідів і ліпополісахаридів, типових для елементарних мембран. Над мембраною, інтегруючись із нею, розміщується *ліпополісахарид*. Він має внутрішнє й зовнішнє полісахаридне ядро, пов'язане з ліпідом А. За зовнішніми специфічними боковими ланцюгами ліпополісахаридів збудники можна диференціювати один від іншого, що використовується при ідентифікації. Ліпід А забезпечує токсичні властивості мікробної клітини, викликаючи в людини та тварини підвищення температури, пронос та інші прояви хвороби.

Клітинна стінка, крім опорної та захисної, виконує ще ряд важливих функцій. Зокрема, вмонтовані у фосфоліпідний шар трансмембранні білки (порини) – це заповнені водою канали, через які проходять низькомолекулярні сполуки. Периплазматичний простір між цитоплазматичною мембраною та клітинною стінкою у грамнегативних бактерій являється сховищем для різноманітних ферментів – деполімераз, протеїназ, нуклеаз, рестрикційних ферментів, відіграє важливу роль у забезпеченні осморегуляції.

Під впливом різноманітних речовин клітинна стінка може бути зруйнована. Так, при дії лізоциму на суспензії грампозитивних мікрококів виникає їх швидкий лізис і просвітління середовища.

Аналогічний ефект спричиняє пеніцилін. Лізоцим розриває в муреїні глікозидні зв'язки, а пеніцилін перешкоджає утворенню пептидоглікану, що супроводжується руйнуванням клітинної стінки. При цьому утворюються чутливі до осмотичних умов округлі клітини - *протопласти*, у яких повністю втрачена клітинна стінка. Під час дії вказаних препаратів на грамнегативні бактерії формуються клітини, які зберігають рештки клітинної стінки, їх називають *сферопластами*. Протопласти і сферопласти належать до субклітинних форм бактерій.

Вони мають круглу форму, високочутливі до осмотичних умов середовища, утворюють спори, якщо був ініційований процес споруляції, але не мають здатності до розмноження. Сферопласти, на відміну від протопластів, здатні адсорбувати на своїй поверхні бактеріофаги і відновлюватись у вихідні форми у разі відміни дії чинників, які викликали їх утворення.

В організмі людей і тварин при антибіотикотерапії (пеніцилін, бацитрацин, новобіоцин) створюються умови для порушення синтезу пептидоглікану, а бактерійні клітини, втрачаючи свою клітинну стінку, перетворюються в L-форми. Це клітини до 50 мкм у діаметрі, які зберігають тенденцію до перетворення у вихідні форми, продукують токсини, гіалуронідазу. Виявлені такі форми у збудників туберкульозу, бруцельозу, черевного тифу, гонореї та інших. Вони здатні викликати у людини і тварини захворювання, які супроводжуються тривалим перебігом. Утворення таких форм мікроорганізмів вважають за спосіб переживання несприятливих факторів зовнішнього середовища.

Слід відзначити, що в природі існують мікроорганізми, у яких немає клітинної стінки. Вони називаються мікоплазмами, останні мають виражені патогенні властивості – є збудниками ряду захворювань у людини, тварин та рослин.

Клітинну стінку мікробів можна зруйнувати також лугом, ультразвуком, механічним методом. Виявити її можна різними способами: спостерігаючи в електронному, фазовоконтрастному та аноптральному мікроскопах, при мікроскопії автолізованих бактерій, застосовуючи спеціальні методи забарвлення (шафраніном, синьою вікторією). У лабораторних умовах легко дослідити наявність клітинної стінки, використовуючи явище плазмолізу. При цьому клітину занурюють у гіпертонічний розчин хлориду натрію або 0,2М розчин нітрату калію. Вода за градієнтом концентрації виходить із клітини назовні, цитоплазматична мембрана разом із цитоплазмою зморщуються, відшаровуючись від стінки, яка зберігає форму бактеріальної клітини і стає доступною для розгляду під мікроскопом.

Капсула. Зовні бактеріальна клітина може бути вкрита речовиною слизового характеру (рис.2.13). Вона не має для мікроба життєзабезпечуючого значення, однак захищає його від дії несприятливих факторів зовнішнього середовища, надає стійкості до фагоцитозу, захищає від проникнення бактеріофагів, забезпечує вірулентні властивості збудників. Розрізняють: мікрокапсули – товщиною до 200 нм, невидимі в оптичному мікроскопі; макрокапсули – більше 200 нм; слизові чохла – утвори, розміри яких у багато разів перевищують розміри бактеріальної клітини. За хімічним складом капсули у різних видів бактерій можуть відрізнятись.

Найпоширенішими є капсули полісахаридної природи. У багатьох

Рис. 2.13. Капсули *Bacillus megaterium*.

бацил капсула складається з поліпептидів. У деяких мікроорганізмів речовина капсули представлена гетерополісахаридами, ліпідами та іншими високомолекулярними сполуками. При дослідженні у звичайному світловому мікроскопі капсули мають вигляд гомогенних структур. При електронній мікроскопії можна виявляти фібрили, розташовані перпендикулярно або паралельно клітинній стінці. Зрідка

фібрили утворюють сітчасту структуру. Капсульна речовина погано фарбується, тому для її виявлення використовують спеціальні методи фарбування, які базуються на явищі метакромазії. Краще за все капсули помітні в мазках із бактерій, взятих з органів або тканинної рідини. Характерним для капсули є наявність великої кількості води. У деяких мікроорганізмів капсула утворюється тільки в організмі тварини або людини (збудники сибірки, пневмококи, чуми та ін.), у інших (клебсієли) вона присутня постійно, навіть коли збудник росте на живильному середовищі. Інколи капсула оточує разом декілька клітин, тоді такі утворення називають *зооглеями*. Стафілококи, збудники дифтерії, деякі стрептококи та інші бактерії здатні утворювати *мікрокапсули*, особливо при культивуванні на середовищах, багатих на вуглеводи.

Капсулу можна розглядати у звичайному світловому мікроскопі, якщо забарвлювати нативні препарати простим методом. Однак для виявлення капсул частіше використовують метод Буррі-Гінса, при якому фон препарата створюють тушшю, а мікроорганізм додатково забарвлюється фуксином. У таких випадках на темному фоні видно червону паличку, яка оточена світлим ободком – капсулою. На щільному середовищі капсуло утворюючі бактерії ростуть у вигляді блискучих S- типу колоній.

Джгутики. Поверхня мікробної клітини може бути вкрита особливими виростами, що називаються джгутиками, які забезпечують локомоторну функцію; їх число, спосіб розміщення, довжина є постійними ознаками для певного виду бактерій, що враховується при проведенні систематики прокаріотичних організмів (рис.2.14).

Довжина джгутиків сягає 20 мкм, тоді як товщина - всього 12-18 нм, що лежить за межами роздільної здатності світлового мікроскопа.

Джгутики бактерій складаються із спірально закручених ниток особливого білка флагеліну, який утворює спіраль навколо внутрішнього порожнистого простору. У них виділяють три основні частини: спіральну нитку, гак та базальне тіло (два - чотири спеціальних кільця з центральним стержнем), за допомогою яких джгутик закріплюється у цитоплазматичній мембрані та клітинній стінці.

Джгутики асоціюють з білковим H-антигеном мікробної клітини, визначення якого має певне значення в лабораторній діагностиці інфекційних хвороб.

За способом розташування джгутиків мікроорганізми поділяють на *монотрихи*, *лофотрихи*, *амфітрихи* та *перитрихи*.

Монотрихи - бактерії, що містять джгутик на одному з полюсів клітини (холерний вібріон). Такі мікроорганізми найрухоміші серед інших: за 1 с вони здатні переміщуватись на віддаль, яка у 20 разів перевищує довжину їх тіла. *Лофотрихи* мають пучок джгутиків на одному з полюсів (псевдомонади). У *амфітрихів* джгутики або їх пучки розташовані на обох полюсах (спірили). *Перитрихи* мають джгутики, розміщені по всій поверхні тіла мікроба (протей, ешерихії, сальмонели), число їх може сягати 1000.

Виявити джгутики можна за допомогою прямих та непрямих методів. У першому випадку джгутики забарвлюють барвниками або солями металів, попередньо наносячи на них протраву для збільшення у розмірах, або досліджують на ультратонких зрізах під електронним мікроскопом.

При використанні непрямих методів спостерігають за рухом мікроорганізмів у темному полі мікроскопа, у "висячій" чи "роздавлених" краплях, за допомогою фазово-контрастної, аноптимальної мікроскопії.

Рух джгутиків забезпечується енергією трансмембранного потенціалу, яка генерується на цитоплазматичній мембрані. У більшості мікробів із полярним розташуванням джгутиків вони обертаються зі швидкістю 3000 обертів за 1 хв.

Джгутики надають клітині змогу переміщуватись у рідкому середовищі в пошуках більш сприятливих умов існування. У відповідь на зовнішні подразнення (хімічні речовини, температура тощо) спонтанно здатні змінювати характер свого обертання і напрям руху. Це називають *таксисом*. Відповідно до факторів, що його викликають, розрізняють хемотаксис, фототаксис, аеротаксис.

До поверхневих структур бактерійної клітини належать також пілі (лат. pilus - волос). Пілі (ворсинки, фімбрії) – прямі циліндричні структури білкової природи, значно дрібніші за джгутики. Довжина їх коливається в межах 0,3 – 4 мкм, діаметр - 3-25 нм. Їх число може перевищувати 10000, Описані ворсинки двох типів. Пілі загального типу (1-го класу) забезпечують адгезію (прикріплення) мікроба до субстрату, через них у середину клітини можуть проникнути деякі метаболіти і навіть бактеріофаги. Пілі другого типу (2-го класу) – статеві, беруть участь у передачі генетичної інформації від клітини до клітини при кон'югації.

Спороутворення. На певній стадії свого розвитку бацил, коли запаси поживних речовин вичерпуються, бактерії всередині формують спору (ендоспору) округлої форми. Від вегетативних форм вони відрізняються пригніченням функціонування генетичного апарату, майже повною відсутністю обміну речовин (стан анабіозу), малою кількістю вільної води, підвищеною концентрацією іонів кальцію, появою у їх складі дипіколінової кислоти, з якою пов'язують терmostійкість спор. Для них характерна поява додаткових оболонок, які запобігають дифузії та проникненню речовин із зовні, більш

висока стійкість до пошкоджуючих факторів зовнішнього середовища і здатність тривалий час зберігати свою життєздатність. Спори утворюють переважно представники двох родів грампозитивних паличок - *Bacillus* (спора за діаметром менше поперечника палички) і *Clostridium* (спора перевищує розміри палички), здатний до спороутворення і деякі інші (*Sarcina ureae*, *Desulfovibrio desulfuricans*). Спори утворюються тільки при певних умовах. Так, збудник сибірки утворює спори лише у присутності атмосферного кисню, в температурних межах 12 – 42 °С. На відміну від грибів вони не виконують функцію розмноження. Процес спороутворення триває кілька годин (переважно 2 - 8) і включає ряд стадій: підготовчу, передспори, утворення оболонки і дозрівання. Існує думка, що спороутворення у деяких видів мікроорганізмів є важливим

компонентом їх розвитку і може відбуватись незалежно від впливу факторів зовнішнього середовища. Здатність до спороутворення детермінується комплексом генів – споруліном. Так, відомо, що *B.subtilis* має 42 оперони, кожен з яких включає 3 гени. В цілому, *B. subtilis*, має 150 – 200 генів, які контролюють процес споруляції. Події, що відбуваються в процесі спороутворення, цілком залежать від активності генів з різних оперонів.

Спочатку в клітині при інвагінації мембрани виділяється особливе *термінальне ядро*, яке містить один клітинний геном, компоненти апарата синтезу білка і енергетичну систему. Воно вкривається власною мембраною та мембраною материнської клітини, які утворюють стінку спори. Остання складається з нормального пептидоглікану. Стінку оточує *кора*, яка містить незвичний, чутливий до лізоциму, пептидоглікан (автоліз його відіграє вирішальну роль у процесі проростання спори). *Оболонка* спори складається з кератиноподібного білка, і зумовлює практичну непроникність для рідини, що зумовлює

стійкість його до хімічних речовин. *Екзоспорій* оточує всю спору і складається з ліпопротеїнів. Спори різних видів бактерій відрізняються за формою, розмірами та локалізацією в клітині. В залежності від локалізації розрізняють бацилярне, клостридіальне та плектридіальне розміщення спор.

При *бацилярному* розміщенні спора локалізується центрально (*Bacillus subtilis*), ексцентральна (*Bacillus megaterium*) або субтермінальна (*B. thuringiensis*) і не деформує клітину.

При *клостридіальному* типі локалізації спора розташовується центрально або ексцентральна, але має місце роздування спорангія, що змінює форму вегетативної клітини – вона набуває вигляду веретена (*Amphibacillus, Clostridium*).

Латеральне розташування спори характерне для *B. laterosporus*. При цьому має місце роздування клітини з одного боку – латерально.

При *плектридіальному* розташуванні спора локалізується термінально і деформує клітину таким чином, що вона нагадує барабанну паличку (*Clostridium, Desulfotomaculum, Sporohalobacter, Sporolactobacillus, Sulfobacillus, Syntrophospora*).

Спори тривалий час зберігаються в стані анабіозу. У ґрунті вони можуть вживати понад 200 років. Знайдено спорові мікроорганізми у льодовиках Антарктиди, вік яких оцінюється в 12 тис років.

Ендоспори бактерій характеризуються високою термостійкістю. Наприклад, спори сінної палички витримують кип'ятіння протягом 3 год. Саме резистентність спор примусила мікробіологів винайти автоклав, розробити надійні способи стерилізації. При автоклавуванні під тиском 1,5-2 атмосфери і температурі 127-132 °C спори гинуть, протягом 0,5-1 год.

Процес проростання спори відбувається у декілька етапів (фаз, стадій). На *ініціальній* (початковій) стадії спора за сприятливих умов

починає проростати, поглинає воду, руйнується пептидоглікан кори. На стадії *росту* внаслідок руйнування оболонки утворюється нова вегетативна клітина. Процес триває 4-6 годин.

Виявлення здатності до спороутворення у бактерій може мати діагностичне значення.

Спори мають здатність сильно заломлювати світло, тому на незафарбованих препаратах вони мають вигляд блискучих зерен. У зв'язку з тим, що спори стійкі до дії несприятливих факторів зовнішнього середовища, вони погано фарбуються. Для виявлення спор використовують, зокрема, метод Ожешко, при якому спори попередньо протравлюють соляною кислотою, а потім забарвлюють за методом Ціля-Нільсена. Спори при цьому набувають червоного, а вегетативна клітина - голубого забарвлення.

Цисти як форми спокою виявляються в різних груп бактерій: азотобактера, спірохет, міксобактерій, рикетсій. У більшості міксобактерій утворення цист (міксоспор) - це одна зі стадій життєвого циклу. Після завершення стадії активного розмноження клітини міксобактерій групуються й утворюють так звані плодові тіла, що являють собою масу слизу, в який занурені клітини. В середині плодових тіл клітини переходять у стан спокою.

Утворення міксоспор супроводжується синтезом специфічного білка. ДНК не синтезується, а переходить із вегетативної клітини. Міксоспора може мати три-чотири копії хромосоми. Цисти міксоспор більш стійкі до нагрівання, висушування, дії фізичних факторів, ніж вегетативні клітини. У деяких видів бактерій цисти морфологічно не відрізняються від вегетативних клітин, але в більшості випадків їх утворення супроводжується помітними морфологічними й структурними змінами: потовщується стінка вегетативної клітини, внаслідок чого утворюються оптично щільні структури, які сильно

заломлюють світло.

У представників роду *Azotobacter* утворення цист супроводжується зміною морфології клітини, втратою джгутиків, накопиченням у цитоплазмі гранул ПОМК, синтезом додаткових покривів: зовнішніх (екзини) і внутрішніх (інтини). Ці оболонки (покриви) відрізняються між собою як структурно, так і за хімічним складом.

Форми спокою деяких ціанобактерій називають акінетами. Вони більші за вегетативні клітини, мають подовжену або сферичну форму, товсту оболонку. Утворюються акінети в період затримки росту культури. Клітина при цьому збільшується в розмірах, у цитоплазмі накопичуються гранули запасних речовин (глікоген, поліфосфати, ціанофіцинові гранули), а також утворюються карбоксисоми. Одночасно потовщується пептидоглікановий шар, ущільнюється слизовий чохол. У цілому оболонки акінети містять більше ліпідів і полісахаридів, а цитоплазма - менше води, ніж вегетативна клітина. У процесі формування акінет збільшується вміст ДНК, кількість рибосом, зменшується кількість хлорофілу і фікобілінових пігментів.

Сформовані форми спокою протягом різного часу можуть зберігати свою життєздатність і проростають у відповідних умовах з утворенням активних (щодо метаболізму) клітин.

4.ФІЗІОЛОГІЯ МІКРООРГАНІЗМІВ

Бактерії є складними живими організмами, в яких відбуваються різноманітні біохімічні перетворення. Вони ростуть, розмножуються, продукують ферменти, токсини та інші біологічно активні речовини, які відповідають за регуляцію функціональної активності клітин, їх високу пластичність і здатність адаптуватись до умов зовнішнього середовища.

Щоб зрозуміти суть фізіологічних процесів мікроорганізмів потрібно ознайомитись, перш за все з їх хімічним складом.

5.1.Хімічний склад бактерій

Як і всі живі істоти, бактерійна клітина складається з чотирьох основних елементів - азоту, вуглецю, водню, кисню. Вуглець складає 45-55 % сухого залишку клітини, кисень - 25-30 %, азот - 8-15 % , водень - 6-8 %. Ці органогени служать матеріалом, з якого побудовано всі складові компоненти клітини: нуклеїнові кислоти, білки, ліпіди, вуглеводи, численні ферментні системи тощо.

Залежно від виду бактерії містять від 70 до 90 % води. Вона може знаходитись у вільному (в цитоплазмі) або зв'язаному стані. Вільна вода є середовищем, в якому відбувається розмаїття біохімічних перетворень (розщеплення й синтез речовин) внаслідок дії гідролітичних ферментів, в ній спостерігається рух іонів, вона виступає розчинником багатьох речовин, що надходять у клітину, забезпечує колоїдний стан цитоплазми.

Зв'язана вода - також необхідний компонент цитоплазми, проте вона не може служити розчинником. Втрата води клітиною призводить до її загибелі. Якщо бактерію помістити в гіпертонічний розчин, вода починає виходити з неї, цитоплазма зморщується, відшаровується від стінки, набуває вигляду дрібної грудочки, а клітина гине.

Сухий залишок становить 10-30 %. Він складається з білків, нуклеїнових кислот, ліпідів, вуглеводів, полісахаридів, низькомолекулярних органічних речовин і солей.

Білок складає до 55 % сухого залишку клітини. Він представлений простими та складними білками. Прості білки називають протеїнами. За своїм складом вони суттєво не відрізняються від білків еукаріотичних організмів. Основна їх маса міститься в цитоплазмі клітини, цитоплазматичній мембрані, клітинній стінці грамнегативних мікробів,

нуклеоїді.

Складні білки - протеїди свою назву отримали за здатність сполучатися з іншими речовинами. Так, білки, зв'язані з нуклеїновими кислотами, одержали назву нуклеопротеїди, з вуглеводами - гліко- і протеїди, ліпідами - ліпопротеїди, залізом, міддю - хромопротеїди. Вони відіграють важливу роль у життєдіяльності клітини. Так, нуклеопротеїди забезпечують суперспіралізацію нуклеїнових кислот; глікопротеїди входять до складу клітинної стінки капсули й виконують захисну функцію, забезпечують особливості будови клітинних антигенів; ліпопротеїди зумовлюють токсичні властивості бактеріальних ендотоксинів, отже, вірулентність мікробів; хромопротеїди відповідають за дихальну функцію клітини, є переносниками кисню.

Нуклеїнові кислоти. Всі без винятку мікроорганізми містять дезоксирибонуклеїнову (ДНК) та рибонуклеїнову (РНК) кислоти. Їх вміст коливається в межах 25-30 % сухої маси. ДНК виконує функцію генетичного матеріалу та входить до складу нуклеїну мікробної клітини.

Окрім “ядерної” (нуклеоїдної) ДНК мікробні клітини можуть містити також і позахромосомну ДНК – у вигляді плазмід.

Аналогічно з РНК клітин макроорганізмів, РНК мікроорганізмів також різноманітна за морфо-функціональною характеристикою. Розрізняють: рибосомальні РНК, транспортні РНК і інформаційні РНК. Інформаційна РНК - форма, що утворюється в процесі біосинтезу білка. Вона забезпечує синтез білка поліпептидних ланцюгів з певним розташуванням амінокислот. Рибосомальні РНК входять до складу великих і малих субодиниць рибосом. Транспортні РНК здатні зв'язуватись із амінокислотами, що накопичуються в цито-

плазмі, й доставляти їх до рибосом, на яких відбувається процес синтезу білків.

Вуглеводи становлять 12-20 % сухого залишку, їх представлено різноманітними цукрами, багатоатомними спиртами, оліго- та поліозидами, полісахаридами, іншими сполуками. Їх роль у забезпеченні життєдіяльності клітини важко переоцінити, оскільки вони входять до складу будь-яких структур клітини. Крім того використовуються клітиною як джерело енергії та вуглецю. Вуглеводи, сполучені з білками зумовлюють синтетичну специфічність мікроорганізмів та нерідко патогенні їх властивості.

Ліпіди. У клітині міститься звичайно до 10% ліпідів. Однак в окремих груп мікроорганізмів (мікобактерії, рикетсії) ця частка збільшується до 40%. У грамнегативних бактерій в зв'язку з особливостями будови клітинної стінки їх у 2-5 разів більше, ніж у грампозитивних.

У середньому в клітині є біля 20 млн. молекул різноманітних ліпідів. Представлено їх, в основному, насиченими й ненасиченими жирними кислотами, ефірами жирних кислот і гліцерину, восками, фосфоліпідами. Більшість ліпідів знаходяться у складі клітинної стінки та цитоплазматичної мембрани мікробної клітини. Вони зумовлюють захисні властивості клітини (кислотостійкість), її токсичні функції, беруть участь у метаболізмі.

Важливою складовою частиною будь-якої мікробної клітини є **мінеральні елементи**. Вони входять до складу вітамінів, ферментів, білків і можуть знаходитись у вільному стані в цитоплазмі. Без них не обходяться біохімічні реакції. Загальна їх кількість у мікробах може досягати 2-4 % сухого залишку. Зокрема, сірка і фосфор, їх похідні за рахунок здатності утворювати макроергічні (багаті на енергію) зв'язки

постачають клітину енергією. Калій і натрій, необхідні для нормальної життєдіяльності бактерій, забезпечують функціонування натріє-калієвого насосу. Магній і кальцій здатні активувати багато ферментів; залізо – невід'ємний складник цитохромів.

Кількість різних хімічних елементів у мікробіологічній клітині відносно стабільна, проте залежить також і від вмісту їх у середовищі, в якому вони ростуть і розвиваються.

5.2. Ферменти мікроорганізмів

Всі процеси, що відбуваються в мікробних клітинах, відбуваються за участю ферментів (ензимів) — біологічних каталізаторів.

Ферменти беруть участь у розщепленні та синтезі речовин. Вони специфічні, тобто виявляють свою активність щодо певних сполук, нестійкі до впливу несприятливих «зовнішніх» факторів: руйнуються при температурі 60 °С, а також під дією лугів, кислот, солей важких металів тощо. Розрізняють *ендоферменти* та *екзоферменти*. Перші міцно зв'язані з цитоплазмою і здійснюють перетворення поживних речовин у складі частини клітини. Другі виділяються в живильне середовище, розчиняються в ньому, проходять через бактеріальні фільтри, розкладають складні сполуки на прості. Останні є пластичним матеріалом для будови тіла мікробної клітини.

Ферменти в основному білкові комплекси, що мають велику молекулярну масу (від 10000 до кількох мільйонів Д). Ферменти бувають одно- і двокомпонентними. До складу останніх входять білок-носій і простетична, або активна, група. Білковий носій називається *апоферментом*, активна група — *коферментом*. Власне ні білкова, ні

протестична група не мають ферментативної активності і тільки разом вони набувають її.

Каталітичну дію ферментів визначають надзвичайно малі їх кількості: 1 г амілази може розщепити 1т крохмалю, а 1г хімозину може зумовити зсідання 12 т молока; 1 г пепсину здатний розщепити 50 кг коагульованого білка, 1 молекула каталази при 40 °С за 1 с руйнує 550 тис. молекул пероксиду водню.

Ферменти діють при певному рН: пепсин активний тільки в кислому середовищі (рН 1,5—2,5), трипсин — слабо-лужному (рН 7,8—8,7), каталаза і уреаза — нейтральному (рН 7,0).

Деякі ферменти знаходяться у мікробній клітині постійно. Це так звані *конструктивні ферменти*. Інші з'являються лише тоді коли є відповідний субстрат, їх називають адаптивними (індукованими) ферментами. Більшість мікробних ферментів є конструктивними, тобто постійно присутні у певного виду мікроорганізмів, незалежно від середовища у якому вони перебувають. Завдяки цьому, зокрема, ферментативну здатність мікроорганізму широко використовують під час його ідентифікації (розпізнання).

Ферменти не змінюються до кінця реакції, не входять до складу кінцевих продуктів. Вони не токсичні. Ця важлива властивість має велике значення для багатьох галузей народного господарства, особливо харчової промисловості і медицини.

На сьогодні відомо близько 2000 ферментів, які за класифікацією, розробленою Міжнародним біохімічним товариством (1961), об'єднані в шість класів: оксидоредуктази, трансферази, гідролази, ліази, ізомерази, лігази, або синтетази.

1. Оксидоредуктази – окислювально-відновні ферменти, що прискорюють процеси окислення і відновлення різних сполук, беруть

участь у процесах дихання мікробів. Ця група включає більше 200 ферментів. Наприклад, дегідрогенази — ферменти, що обумовлюють процес біологічного окислення шляхом відняття водню від субстрату донора і приєднання його до кисню або іншого акцептора. Розрізняють аеробні і анаеробні дегідрогенази. *Аеробні дегідрогенази* переносять водень безпосередньо до молекулярного кисню або інших систем, їх називають оксидазами (аеробіоз). *Анаеробні дегідрогенази* взаємодіють із субстратом, віднімають від нього водень і передають акцептору — ненасиченим речовинам. У результаті утворюються органічні кислоти і спирти (анаеробіоз).

2. Трансферази — ферменти переносу. Вони переносять окремі групи, радикали і атоми як між окремими молекулами, так і всередині них (метильні, карбоксильні та ін.). Представниками цього класу є амінотрансферази, фосфотрансферази та ін. Амінотрансферази переносять аміногрупу з однієї амінокислоти на іншу, фосфотрансферази — фосфатний залишок з АТФ на глюкозу і фруктозу.

3. Гідролази — ферменти, що прискорюють гідроліз — реакцію обмінного розкладу між водою і різними сполуками. Вони є у багатьох мікроорганізмів. Гідролази об'єднують більше 200 ферментів. У цю групу входять естерази, фосфатази, глюкозидази, що відповідно розщеплюють складні ефіри, глюкозидні зв'язки у вуглеводах та їх похідних; пептидази, що прискорюють гідроліз пептидних зв'язків у білках; амідази, які регулюють гідроліз амідів, амінокислот та інших сполук.

4. Ліази – ферменти, що негідролітичним шляхом відщеплюють від субстратів яку-небудь групу (реакція між вуглецем і киснем, азотом, сіркою, галогеном). Цей клас ензимів об'єднує близько 90

ферментів. Найважливіше значення з них мають карбоксилаза, альдегід-ліаза (альдолаза) та ін.

5. Ізомерази — ферменти, які каталізують реакції ізомеризації — переміщення всередині молекул водню, фосфору, що має важливе значення в обміні речовин. До цієї групи відносяться фосфорогексоізомераза, тріозофосфорізомераза та ін.

6. Лігази, або синтетази – ферменти, що прискорюють синтез складних сполук за рахунок розпаду пірофосфорних зв'язків у АТФ або інших багатих на енергію пірофосфатів. Лігази беруть участь у синтезі білків, нуклеїнових, жирних кислот та інших речовин.

Ферменти мікробного походження широко застосовують у харчовій промисловості, сільському господарстві, особливо тваринництві, медицині, а також інших галузях народного господарства. Наприклад, амілази використовуються при ферментативному одержанні глюкози з крохмалю, глюкозної та мальтозної патоки, в спиртовій, пивоварній та хлібопекарській промисловості, ветеринарній медицині. РЕСТРИКТАЗИ?

5.3. Живлення мікроорганізмів

Обмін речовин у мікроорганізмів представлений процесами, відомими як асиміляція та дисиміляція.

Сукупність усіх біохімічних перетворень у клітині називається метаболізмом. Він відбувається за двома основними напрямками. Перший забезпечує синтез складних клітинних сполук із більш простих. Тому одержав назву *біосинтез, конструктивний метаболізм, або анаболізм*. Оскільки переважна більшість реакцій синтезу й розпаду потребує енергетичного забезпечення, у мікробній клітині

існує механізм її накопичення і використання. Цей механізм реалізується через потік реакцій, що супроводжуються накопиченням електрохімічної енергії, яка потім використовується клітиною і називається енергетичним метаболізмом або катаболізмом.

Конструктивний та енергетичний метаболізм – тісно пов'язаний між собою комплекс перетворень. Часто їх шляхи співпадають і одні й ті ж речовини використовуються для різних потреб. У цьому випадку такі субстрати називаються *амфіболітами*, а шляхи - амфіболічними.

Метаболічні цикли мікробів надзвичайно різноманітні. Вони здатні використовувати різні види енергії й численні вихідні субстрати для побудови власних структур. Саме цим зумовлюється убіквітарність їх розповсюдження.

Конструктивний метаболізм прокаріотів. Для того, щоб клітина могла існувати, повинен відбуватись постійний обмін речовин із навколишнім середовищем. У клітину ззовні мусить надходити пластичний матеріал, з якого вона синтезує всі необхідні їй молекули.

У конструктивному метаболізмі провідна роль належить сполукам вуглецю, з якого побудовано всі живі організми. Залежно від того, який вуглець засвоюють бактерії, вони поділяються на дві групи: автотрофи і гетеротрофи.

Автотрофи (autos - сам, trophe - живлення) здатні синтезувати всі необхідні їм органічні сполуки з CO₂ як єдиного джерела вуглецю. *Гетеротрофи* (heteros - інший) - мікроорганізми, джерелом вуглецю для яких є органічні сполуки. Вони здатні споживати будь-які прості й складні вуглецеві сполуки - цукри, амінокислоти, багатоатомні спирти, парафіни та ін.

Більшість мікроорганізмів здатні асимілювати живильні компоненти авітального походження. Їх прийнято називати *метатрофами*. Це переважно сапрофіти – мікроорганізми, які не здатні обумовити хворобу. Проте частина гетеротрофів може існувати паразитуючи на інших живих істотах. Їх називають *паратрофами*.

Ступінь вираження гетеротрофії у бактерій може бути найрізноманітніша. Найвищу гетеротрофність мають прокаріотичні організми, які здатні жити тільки всередині живих клітин (рикетсії, хламідії), їх метаболічні шляхи повністю залежать від організму хазяїна. Такі мікроорганізми називають облігатними (суворими) паразитами.

Однак багато мікробів можна вирощувати на штучних живильних середовищах, до складу яких входять білки, пептиди, вітаміни, фрагменти нуклеїнових кислот. Такі форми бактерій, здатних рости поза клітинами людини або тварин при створенні необхідних умов, називають факультативними паразитами.

Більшість бактерій, що населяють земну кулю (понад 99 %), належать до сапрофітів. Вони безпосередньо від живих організмів не залежать і живляться за рахунок мертвих органічних залишків.

Мікроорганізмам необхідний азот для синтезу азотомістких сполук. Джерела його можуть бути різноманітними. Одні бактерії здатні засвоювати молекулярний азот повітря (бульбочкові мікроби), інші використовують різноманітні субстрати. Бактерії, як правило, засвоюють азот у відновленій формі - це солі амонію, сечовини, органічні сполуки (амінокислоти, пептиди). Однак окислені форми азотистих сполук (нітрати) також можуть бути засвоєні мікробами. У

клітині вони відновлюються до аміаку за допомогою ферментів нітратредуктази й нітритредуктази.

Дикі штами бактерій здатні синтезувати всі необхідні їм речовини з обмеженого числа органічних сполук, наприклад, глюкози та солей амонію. Вони називаються *прототрофами*. Окремі мікроорганізми (варіанти прототрофів) втратили здатність до синтезу деяких необхідних їм ростових факторів, отже, не можуть рости на мінімальних живильних середовищах, їх називають *ауксотрофними* організмами.

Процес живлення потребує використання енергії. Залежно від джерела енергії, що засвоюють мікробні клітини, їх поділяють на фототрофи і хемотрофи.

Фототрофні бактерії (фотосинтезуючі бактерії) здатні використовувати як джерело енергії електромагнітні промені (світло). Патогенних для людини і тварин серед них не виявлено. Інші прокаріоти, які одержують енергію за рахунок окисно-відновних реакцій в субстратах, називаються *хемотрофами*.

Для здійснення різноманітних реакцій клітині необхідні електрони. Речовини, які в процесах біохімічних перетворень віддають електрони, називаються донорами. Молекули, які одержують електрони, називаються акцепторами.

Мікроорганізми, для яких джерелом електронів є неорганічні сполуки типу H_2 , H_2S , NH_3 , CO та ін., називаються *літотрофами* (гр. *litos* - камінь). Інші бактерії, для яких донором електронів виступають органічні речовини, називаються *органотрофами*.

Залежно від способу одержання енергії та донора електронів мікроорганізми поділяють на чотири групи: фотолітотрофи, фотоорганотрофи, хемолітотрофи та хемоорганотрофи.

Для здійснення своїх метаболічних перетворень і забезпечення життєдіяльності клітина потребує і неорганічних речовин. Так, сірка входить до складу деяких амінокислот (метионін, цистеїн), вітамінів та кофакторів (біотин, ліпоєва кислота, кофермент А), а без фосфору неможливо синтезувати нуклеїнові кислоти, він необхідний компонент фосфоліпідів, коферментів. Мікроорганізми засвоюють сірку з природних джерел, де вона знаходиться у формі неорганічних солей (сульфатів, сульфідів) або елементарної сірки, а потреби у фосфорі задовольняються за рахунок засвоєння неорганічних фосфатів.

Усі необхідні іони металів клітина одержує за рахунок неорганічних сполук. Деякі елементи (магній, кальцій, калій, залізо) потрібні в досить великих концентраціях. Потреби в інших (цинк, марганець, молібден, ванадій, кобальт) незначні. Проте їх роль у клітині надзвичайно різноманітна, тому що вони входять до складу основних клітинних метаболітів, виконуючи життєво важливі функції. При культивуванні бактерій, крім білків, жирів та вуглеводів, які потрапляють у клітину з навколишнього середовища, до живильних середовищ додають речовини, які виконують функцію стимуляторів росту. Вони включаються до складу клітинних метаболітів, каталізують біохімічні перетворення. Такими факторами є деякі вітаміни (біотин, тиамін, пантотенова кислота, холін, ціанокобаламін, нікотинова та фолієва кислоти), пуринові та піримідинові основи, жирні кислоти, гемін, коензим ферменту дегідрогенази.

Механізм надходження речовин у клітину. Мікробам притаманний *голофітний* тип живлення, вони здатні поглинати живильні речовини тільки в розчиненому вигляді.

Однак деякі субстрати не розчиняються у воді (білки, полісахариди) або утворюють колоїдні розчини, які не проникають у клітину. В такому випадку клітинні екзоферменти, які виділяються в навколишнє середовище, гідролізують ці субстанції, розщеплюючи їх до більш простих і дрібних молекул і переводять в розчинний стан.

Виділяють декілька механізмів проникнення речовин. Поживні речовини надходять в середину мікробної клітини, проходячи через її навіпроникну клітинну стінку та цитоплазматичну мембрану. Остання є основним елементом клітини через яку трансформуються живильні речовини та виводяться продукти життєдіяльності.

Механізм надходження поживних речовин у клітину пов'язані з осмотичним тиском всередині клітини та поза нею. У зв'язку з різницею концентрації поживних речовин відбувається рух води і розчинених у ній речовин. При цьому вода рухається у бік більш високої, а солі – навпаки, - меншої їх концентрації. Цей механізм надходження живильних речовин у мікробну клітину зветься *пасивною дифузією* (неспецифічне проникнення речовин в клітину). Вона відбувається пасивно, тому що не вимагає затрат енергії. *Полегшена дифузія* здійснюється за рахунок особливих білків - пермеаз, які містяться в цитоплазматичній мембрані. Цей процес також не вимагає енергетичного забезпечення. Однак більшість поживних речовин, метаболітів, іонів проникають у клітину за допомогою *активного транспорту*. Його також забезпечують білки-пермеази, але вони є високо-специфічними й здатні переносити тільки певні субстрати. Цей процес відбувається за рахунок енергії, яку генерує клітина, тому можливий перенос і проти градієнта концентрації речовини. Якщо цьому процесу передують певні хімічні модифікації молекули, його називають *транслокацією хімічних груп*.

Виділяють також механізм *іонного транспорту*, при якому відбувається перенос у клітину окремих неорганічних іонів.

Конструктивний метаболізм. Обмін білків у мікроорганізмів відбувається за двома основними напрямками: розщеплення поліпептидів до амінокислот і біосинтетичні процеси, пов'язані з конструюванням нових молекул. Перший напрямок забезпечують ферменти екзопротеази, що виділяються в навколишнє середовище, та ендопротеази, які нагромаджуються в клітині. Кінцеві продукти - амінокислоти, що утворюються під час цього процесу, можуть зазнавати дезамінування та декарбоксилювання, перетворюючись на аміак, вуглекислий газ, оксикислоти.

Біосинтетичні процеси відбуваються за участю переважно готових амінокислот. Деякі мікроорганізми здатні синтезувати амінокислоти з простих сполук азоту. Необхідно зазначити, що мікроорганізми, на відміну від клітин організму людини і тварин, здатні синтезувати незамінні амінокислоти - лізин, метионін, триптофан.

Вуглеводний обмін забезпечується або гідролітичним розщепленням молекул із утворенням глюкози й мальтози, або фосфоролізом. І в одному, і в іншому випадках процеси не супроводжуються вивільненням енергії. Це відбувається при бродінні - окисновідновних реакціях анаеробного розщеплення органічних речовин, головним чином, вуглеводів. Метаболіти, які утворюються під час бродіння, використовуються для біосинтетичних процесів. Продуктами бродіння є різні органічні кислоти (молочна, масляна, оцтова, мурашина), спирти (етиловий, бутиловий, пропіловий), ацетон, диоксид вуглецю, водень. Залежно від того, який основний продукт накопичується в середовищі, розрізняють молочнокисле,

маслянокисле, мурашинокисле, спиртове та інші види бродіння. При бродінні вивільняється незначна частка енергії, яка накопичена в речовині. Як правило, на 1 молекулу субстрату утворюється 2 молекули аденозинтрифосфornoї кислоти (АТФ).

Синтез вуглеводів відбувається або з вуглекислого газу (автотрофи), або за рахунок вуглецемістких органічних сполук.

Як було зазначено, ліпіди мікроорганізмів представлено насиченими та ненасиченими жирними кислотами, фосфоліпідами, стеринами, восками, каротиноїдами та іншими речовинами. Мікроорганізми здатні до синтезу вищих жирних кислот, який відбувається за участю особливих білків, що переносять ацильні фрагменти. Синтезовані ліпіди включаються до складу фосфоліпідів. Розщеплення ліпідів відбувається за участю ліпаз та інших ліполітичних ферментів.

Енергетичний метаболізм прокаріотів. За своїм об'ємом реакції, що забезпечують клітину внутрішньою енергією, значно перевищують біосинтетичні процеси.

Мікроорганізми можуть використовувати не всі форми енергії, що існують у природі. Вони здатні користуватись тільки енергією сонячного світла (фотосинтезуючі бактерії) та хімічною (хемотрoфні мікроби). Недоступні для них ядерна, механічна та теплова енергії.

Явище нагромадження енергії розглядається як перенос іонів водню шляхом окремого транспорту протонів та електронів; протони при цьому виділяються в навколишнє середовище, а електрони передаються на відповідні молекули-акцептори.

В процесі еволюції бактерії виробили три способи одержання енергії: бродіння, дихання і фотосинтез.

При бродінні в анаеробних умовах у певних окислювально-відновних реакціях утворюються нестабільні молекули, фосфатна група яких містить багато вільної енергії. Вона переноситься на молекулу аденозиндифосфорної кислоти (АДФ), яка перетворюється в АТФ. Реакції, в яких енергія запасється на АТФ, одержали назву субстратного фосфорилування. Відновлювач, який при цьому утворюється (НАДН₂, відновлений ферредоксин), переносить електрони на ендogenousний акцептор (піруват, ацетальдегід) або звільняється у вигляді водню.

Окислення відбувається внаслідок переносу електронів через спеціальний електронотransпортний ланцюг, локалізований на мембрані. Він складається з набору переносників і здебільшого спричиняє відновлення молекулярного кисню до Н₂О.

Основою фотосинтетичних процесів у представників мікробного світу є поглинання сонячної енергії різними пігментами: флавопротеїнами, хінонами, цитохромами і білками, що містять негемове залізо. Вони й забезпечують перенос електронів і, відповідно, вивільнення енергії.

Енергія, яку генерує клітина, запасється у формі електрохімічного трансмембранного градієнта іонів водню - Дцн⁺ або в молекулах АТФ.

Прокаріоти містять декілька сполук із високоенергетичними фосфатними зв'язками - ацилфосфати, фосфоенолпіруват, аденозинфос-фосульфат, а також сполуки з тіоефірним зв'язком - ацилтіоефіри. У цих речовинах одна з груп має великий енергетичний потенціал. Перенос її веде до розриву зв'язку, з'єднуючого з молекулою, отже, до різкого зменшення вільної енергії, накопиченої в клітині. Приєднання такої групи до молекули акцептора підвищує

рівень його вільної енергії, переводячи молекулу в активовану форму, що здатна брати участь у біосинтетичних реакціях.

Найголовніше місце в переносі хімічної енергії належить системі АТФ. Вона утворюється при субстратному та мембранозалежному фосфорилуванні. При цьому від субстрату відщеплюється фосфатна група і переноситься на молекулу АДФ. Вона містить два макроергічних зв'язки, які при гідролізі звільняють 31,8 кДж/моль енергії. Молекули АТФ вважають енергетичною валютою клітини, а малі розміри дозволяють їм легко дифундувати в ті ділянки клітини, де необхідна енергія. Підраховано, що для подвоєння клітинної маси молекула АТФ повинна біля 10000 разів брати участь у процесах гідролізу й синтезу.

На прикладі *E. coli* визначено, скільки необхідно енергії, щоб синтезувався 1 г клітинної речовини. Це потребує 37 ммоль АТФ, із них 20 ммоль використовується на синтез білка, 7 ммоль - на синтез ДНК і РНК, 2 ммоль - для полімеризації цукрів. Решта іде на підтримання життєдіяльності - осмос, рух клітини тощо.

Іншою універсальною клітинною енергією є енергія трансмембранного потенціалу $\Delta\psi$. Це здійснюється за допомогою спеціальної "петлі", локалізованої в цитоплазматичній мембрані. Переносники хінони забезпечують рух двох атомів водню від внутрішньої сторони ЦПМ назовні. Потім цитохроми повертають у клітину два електрони, а протони вивільняються в зовнішнє середовище.

При такому переносі в зовнішнє середовище клітини накопичують іони водню, середовище підкислюється, а в цитоплазмі їх число зменшується, і вона набуває більш лужного характеру. Виникає орієнтований поперек ЦПМ градієнт іонів водню. Оскільки

H^+ - хімічні частинки з позитивним зарядом, то їх накопичення з обох сторін ЦПМ викликає створення не тільки концентраційного градієнта часток, але й орієнтованого поперек мембрани електричного поля. Напруга потенціалу $\Delta\psi^+$ досягає 200-250 мВ.

Енергія трансмембранного потенціалу може розряджатись за участю локалізованого в мембрані протонного АТФ-синтетазного комплексу. Це створює можливість з АДФ та неорганічного фосфату без будь-яких проміжних сполук утворити молекули АТФ. Однак процес може проходити і в протилежному напрямку. Тоді при гідролізі АТФ зростає енергія $\Delta\psi^+$ на ЦПМ.

Таким чином, дані реакції є природними механізмами, які з'єднують процеси окислення з фосфорилуванням. Енергія, яка накопичується на мембрані, та енергія АТФ забезпечують різні потреби клітини. Перша поглинається ДНК при генетичній трансформації, зумовлює рух бактерій за допомогою джгутиків, забезпечує активний перенос речовин та іонів через мембрану, а енергія АТФ - синтетичні процеси в клітині.

Але ні енергія $\Delta\psi^+$, ні АТФ не можуть нагромаджуватись і зберігатись в клітині достатньо довгий строк, адже тривалість життя молекули АТФ всього 1/3 с. Для консервування енергії прокаріоти створили механізм синтезу високополімерних молекул, полісахаридів, ліпідів або поліпептидів. Ці речовини упаковуються в спеціальні гранули, вкриваються оболонкою і зберігаються в неактивному стані.

5.4. Дихання бактерій

Це один із шляхів біологічного окислення, який відбувається з утворенням молекул АТФ, тобто супроводжується нагромадженням

енергії. Під час цього процесу одні речовини (органічні та неорганічні сполуки) являються донорами електронів і при цьому окислюються, акцепторами електронів виступають неорганічні сполуки, які відновлюються. В одних мікроорганізмів кінцевим акцептором електронів виступає кисень, у інших - неорганічні сульфати, нітрати, карбонати. Л. Пастером було вперше помічено, що деякі мікроби одержують енергію без участі кисню. У 1863 р. він запропонував терміни "аероб" та "анаероб".

Залежно від умов одержання енергії (способу дихання), прокаріоти поділяються на ряд груп. *Облігатні аероби* - мікроорганізми, для оптимального росту яких необхідно 21 % кисню. До них належать збудники туберкульозу, чуми, холерний вібріон та ін. *Облігатні анаероби* - бактерії, які ростуть при відсутності вільного молекулярного кисню, за рахунок процесів бродіння. Вони одержують кисень із органічних сполук у процесі їх метаболізму. Деякі з них не переносять навіть незначної кількості вільного кисню. Такими бактеріями є збудники правця, ботулізму, газової анаеробної інфекції, бактеріїди, фузобактерії та ін. Окремі клостридії можуть бути аеротолерантними. Для культивування їх використовують спеціальні живильні середовища й апарати (анаеростати), в яких створюються анаеробні умови за рахунок поглинання кисню або заміни його індиферентними газами (азотом, воднем). *Факультативні анаероби* (факультативні аероби) пристосувались, залежно від умов середовища (наявності або відсутності кисню), переключати свої метаболічні процеси з використанням молекулярного кисню на бродіння та навпаки. Групу факультативних анаеробів формують численні представники родини кишкових бактерій (ешеріхії, сальмонели, шигели), стафілококи та деякі інші бактерії. *Мікроаерофіли* - особлива

група мікробів, для яких концентрація кисню при культивуванні може бути зменшена до 2 %. Вищі його концентрації здатні затримувати ріст. Ця група представлена молочнокислими, азотфіксуючими бактеріями. *Капнеїчними* називають такі мікроорганізми, які потребують, крім кисню, ще й до 10 % вуглекислого газу. Типовими представниками останніх є збудник бруцельозу бичачого типу.

В облігатних аеробів кисень використовується як кінцевий акцептор електронів у реакціях, що каталізуються цитохромоксидазами та оксигеназами. У клітинах факультативних анаеробів також є цитохромоксидази, проте в облігатних анаеробів ферментів, які каталізують взаємодію з молекулярним киснем, немає.

Детальне вивчення механізмів дихання у бактерій довело, що першими мікроорганізмами на земній кулі були анаероби, тому що до виникнення фотосинтезуючих еукаріотів вміст кисню в атмосфері був незначним порівняно із сьогоденням. За розрахунками, щоб відбулось переключення механізму бродіння на аеробне дихання, достатньо було 0,2 % кисню в атмосфері (на сьогодні його концентрація становить 21 %). У свою чергу зростання вмісту кисню призвело до зміни характеру атмосфери із відновлювальної на окисну за рахунок відповідних реакцій. В умовах безкисневої атмосфери існував дефіцит акцепторів електронів, а з появою кисню ця проблема була розв'язана.

5.5. Ріст і розмноження бактерій

Будь-яка жива істота здатна до росту та розмноження. Під *ростом* розуміють координоване відтворення бактеріальних структур і відповідно збільшення маси мікробної клітини. *Розмноження* - це

здатність мікробів до самовідтворення, при цьому збільшується кількість особин у популяції на одиницю об'єму середовища.

Розмноження бактерій - складний процес, пов'язаний із синхронною взаємодією багатьох їх структур. Починається воно з відтворення генетичного матеріалу - ДНК, яка локалізована в нуклеоїді. Спочатку відбувається реплікація (подвоєння) генетичного матеріалу напівконсервативним шляхом. Розпочинається вона з реплікативної точки на ДНК, розташованої в місці з'єднання мезосоми з цитоплазматичною мембраною. Нуклеїнова кислота деспіралізується, й нитки ДНК розходяться. Кожна з них є матрицею, на якій за принципом комплементарності синтезуються їх копії, які згодом об'єднуються у двониткову ДНК. Синтез дочірніх ниток ДНК відбувається ступенево, невеликими фрагментами по 1-2 тис нуклеотидів, які пізніше зшиваються ферментом лігазою. Залежно від умов, реплікація може тривати 20-40 хвилин.

Паралельно з реплікацією починається утворення поперечної перегородки за рахунок цитоплазматичної мембрани. Потім вона оточується пептидогліканом. Під час реплікації та утворення перегородки клітина росте, синтезуються біополімери, з яких складатимуться цитоплазматична мембрана, рибосоми, цитоплазма. Клітини відділяються одна від іншої, а в грамнегативних мікробів синтезується додатково зовнішня мембрана. Якщо клітини зберігають зв'язки, утворюються ланцюги з кокоподібних чи паличкоподібних форм.

Як правило, бактерії розмножуються простим поділом, що відбувається в різних площинах. Це сприяє, зокрема, утворенню різних морфологічних типів кокоподібних мікроорганізмів - диплококів, стафілококів, тетракоків, сарцин. Актиноміцети можуть

розмножуватись шляхом фрагментації ниткоподібних клітин, брунькуванням. Можливе утворення клітин, подібних до спор, конідій.

Облігатні внутрішньоклітинні паразити - хламідії - розмножуються, проходячи ряд стадій: елементарні тільця, ініціальні тільця, проміжні тільця. Саме останні є тим джерелом, з якого формується нове покоління елементарних тілець. Тривалість циклу складає 40-48 годин.

Мікоплазми також можуть утворювати особливі елементарні тіла, що здатні до розмноження фрагментацією або брунькуванням. Однак вони можуть розмножуватись і простим бінарним поділом. Швидкість розмноження бактерій залежить від багатьох факторів: віку культури, складу живильного середовища, його рН, окисно-відновного потенціалу, температури, аерації тощо.

Бактерії розмножуються у геометричній прогресії. Якщо вважати, що за оптимальних умов бактерія подвоюється кожні 30 хвилин, то за годину їх буде 4, через дві години - 16, через 4 - 256, через 15 - мільйони. Через 35 год їх об'єм становитиме до 1000 м^3 , а маса – понад 400 т.

При внесенні у живильне середовище бактерії розмножуються за певними закономірностями. Вони ростуть і розмножуються, досягаючи певного максимуму до того часу, поки не будуть вичерпані запаси живильних речовин. Якщо не видаляти кінцеві продукти обміну і не додавати необхідні речовини, то можна одержати *періодичну культуру* (популяція в обмеженому просторі). Мікроорганізми в такій культурі поводять себе як багатоклітинні системи з генетично обмеженим ростом.

Крива, яка описує залежність логарифму числа живих клітин від часу культивування, називається *кривою росту*.

Розрізняють чотири основні фази росту періодичної культури: *початкову (лагфаза)*, експоненціальну (*логарифмічна*), стаціонарну та відмирання.

Початкова або лаг-фаза охоплює проміжок між інокуляцією бактерій і досягненням найвищої швидкості їх поділу. В цей період відбувається адаптація бактерій до умов існування. В клітині у 8-12 разів зростає кількість РНК, збільшується концентрація ферментів. Тривалість фази 1-2 год.

Експоненціальна (логарифмічна) фаза характеризується постійною максимальною швидкістю поділу клітин і зростанням їх кількості у геометричній прогресії. Вона залежить від віку мікробів і складу середовища. Так, ентеробактерії діляться кожні 15-30 хв, стрептококи - 30 хв, а ґрунтові нітробактерії й збудники туберкульозу - 5-18 год. Час, протягом якого відбувається поділ мікроба, називається часом генерації.

Стаціонарна фаза настає тоді, коли число клітин перестає збільшуватись. Настає рівновага між кількістю живих мікробів і тих, що відмирають. Цьому сприяє висока щільність популяції, дефіцит живильних речовин у середовищі, низький парціальний тиск кисню, накопичення токсичних продуктів обміну. Однак кількість біомаси в цей період сягає найвищого рівня, тому концентрацію клітин позначають як *максимальну (М-)* концентрацію, а величину біомаси - терміном *вихід* або *урожай*. Ця ознака є специфічною й характерною для кожного виду бактерій. Триває фаза 6-7 год.

Фаза відмирання супроводжується різким зменшенням числа живих клітин. Цьому сприяють значний дефіцит поживних речовин у

середовищі, нагромадження кислот, автоліз під впливом власних ферментів.

Отже, у періодичній культурі умови культивування весь час змінюються: густина мікробів зростає, а запаси живильних речовин зменшуються. Однак у багатьох випадках необхідно підтримувати клітини у фазі експоненціального росту та М-концентрації, тому що саме в цей період вони найбільш фізіологічно і функціонально активні: синтезують багато білка, продукують велику кількість різноманітних ферментів, токсинів, антибіотиків, інших біологічно активних речовин. Це досягається постійним виділенням популяцій бактерій, що ростуть, оновленням живильного середовища, додатковою аерацією (для аеробних бактерій). Саме за такими принципами працюють хемостати і турбідостати - прилади, які дозволяють проводити безперервне культивування у промислових і лабораторних умовах.

Ріст мікробів на твердих живильних середовищах відбувається за аналогічними закономірностями, однак щільність клітин значно вища.

5.6. Культивування бактерій

Для вирощування бактерій у лабораторних умовах, дослідження їх різноманітних властивостей, тривалого зберігання використовують живильні середовища. Вони повинні відповідати певним стандартам, створюючи оптимальні умови для росту, розмноження й життєдіяльності мікроорганізмів.

В першу чергу бактерії потребують **азоту, вуглецю та водню** для побудови власних білків. Водень і кисень для клітин постачає вода. Джерелом азоту виступають численні речовини, в основному, тваринного

походження (м'ясо яловиче, риба, м'ясо-кісткове борошно, казеїн), а також білкові гідролізати, пептиди, пептони. Можна використовувати й замітники м'яса - плаценту, кров'яні згустки, дріжджі. Отже, до складу середовищ повинні бути введені джерела живильних речовин і води, а також ростові фактори (вітаміни, ферменти). Універсальним джерелом їх є екстракти з білків тваринного й рослинного походження, білкові гідролізати. Для мікробів з більш складними харчовими потребами до складу середовищ включають нативні субстрати - кров, сироватку, асцитичну рідину, яєчний жовток, кусочки печінки, нирок, мозкової тканини та ін.

Середовища повинні бути збалансованими за мікроелементним складом і містити іони заліза, міді, марганцю, цинку, кальцію, натрію, калію, мати у своєму складі неорганічні фосфати.

Допустимим є вживання речовин, які усувають дію інгібіторів росту і токсинування мікробів (окремі амінокислоти, твіни, активоване вугілля тощо). Важливим є стабілізація оптимуму рН середовища, його буферності. Середовища повинні мати певну в'язкість, густину (рідкі, напіврідкі, щільні), бути ізотонічними, прозорими й обов'язково стерильними.

Численні потреби мікроорганізмів зумовлюють велике розмаїття живильних середовищ, а для окремих видів бактерій існують спеціальні середовища. Частина їх готують у лабораторіях безпосередньо перед посівом, але з кожним роком з'являються все нові середовища заводського виготовлення (сухі), які здатні задовільнити найвибагливіші потреби мікробіологів. Вони зберігаються тривалий час, мають стандартний склад.

Залежно від густини, середовища поділяються на рідкі, напіврідкі й щільні. Напіврідкі та щільні середовища готують з рідких,

додаючи відповідно 0,3-0,7% та 1,5-2,0% агару. Останній представляє собою волокнистий матеріал, який добувають з морських водоростей. Складається він з полісахаридів (70-75 %) та білків (2-3%) . При 100⁰С агар розчиняється (розплавляється) у воді а, застигаючи при 42 -46⁰ С, в разі достатньої концентрації (близько 2%), обумовлює щільність середовища. Саме за цю властивість він набув широкого розповсюдження у мікробіологічній практиці. Для створення щільних середовищ використовують також желатин (10-15 %), згорнуту сироватку крові.

Середовища поділяються на природні та штучні. Як природні використовують згорнуту сироватку, молоко, яйця, м'язову тканину. Штучні середовища створюють шляхом комбінування різноманітних субстратів, що забезпечують ті чи інші потреби мікроорганізмів.

Залежно від потреб бактеріологів існуючі живильні середовища поділяються на чотири основні групи.

Перша група – *універсальні (прості) середовища*. До них належать прості середовища: м'ясо – пептонний бульйон (МПБ) та м'ясо – пептонний агар (МПА). Вони придатні для культивування багатьох видів бактерій.

Друга група – *спеціальні середовища*. Вони використовуються в тих випадках, коли мікроорганізми не ростуть на простих. До них належать кров'яний, сироватковий агари, сироватковий бульйон, асцитичний бульйон та асцит-агар.

Третя група – *селективні середовища*, їх використовують для ціле-спрямованого виділення та накопичення бактерій з матеріалу, який містить багато сторонніх мікробів. Створюючи такі середовища, враховують біологічні особливості бактерій певного виду, які відрізняють їх від інших. Наприклад, елективним для холерних

вібріонів є 1 % лужна пептонна вода, середовища Ру та Леффлера – для збудників дифтерії, середовище Плоскирева – для дизентерійних паличок. Гарний ріст стафілококів спостерігається на середовищах, у складі яких є до 10 % хлориду натрію. Мікрококи та коринебактерії ростуть на агарі, що містить фуразолідон.

Додавання антибіотиків до складу живильних середовищ робить їх елективними відносно антибіотикостійких штамів.

Четверта група – *диференціально-діагностичні середовища*. Це середовища, які дозволяють визначити певні біохімічні властивості мікроорганізмів і здійснювати їх первинну диференціацію. Вони поділяються на середовища для визначення протеолітичних, пептолітичних, цукролітичних, гемолітичних, ліполітичних, редукуючих властивостей тощо.

На поверхні щільного живильного середовища мікроорганізми можуть утворювати суцільний, густий ріст або ізольовані колонії. *Колонія* - це видимі неозброєним оком скупчення бактерій на поверхні або в товщі живильного середовища. Як правило, кожна колонія формується з нащадків однієї мікробної клітини (клон), тому їх склад досить однорідний. Утворення її є проявом культуральних властивостей бактерій. Характеристика колоній - важлива складова частина роботи бактеріолога а, адже мікроорганізмам кожного виду притаманні свої особливі колонії (рис. 3.2).

Характеризувати колонії можна за різними ознаками. За розміром(діаметром) вони поділяються на великі (4-6 мм і більше), середні (2-4 мм), дрібні (1- 2 мм), карликові або точкові (менше 1 мм). Форма колоній може бути найрізноманітнішою: правильно кругла, неправильна (амебоподібна), ризоїдна. Вони бувають прозорими, напівпрозорими, непрозорими - мутними. За рельєфом і контуром

форми у вертикальному розрізі колонії поділяються на плоскі, опуклі, куполоподібні, каплеподібні, конусоподібні, плоскоопуклі, плоскі, що стеляться по поверхні середовища, із вдавленим центром, з припіднятою у вигляді соска серединою.

Поверхню колоній вивчають спочатку неозброєним оком, а потім за допомогою лупи чи малого збільшення мікроскопа. Вона може бути матовою або блискучою, з глянцем, сухою або вологою, гладенькою або шорсткою. Гладенькі колонії позначають як S-форми (smooth - гладенький), а шорсткі - R-форми (rough - шорсткий, нерівний).

Форма шорстких поверхонь також може бути різноманітною: зморшкуватою, бородавчастою, мати радіальну посмугованість тощо. Переважна більшість мікроорганізмів утворює безбарвні колонії або мутно-молочного кольору. Однак деякі з них формують кольорові колонії, їх колір визначається пігментом, який синтезують бактерії: білі, кремові, жовті, золотисті, сині, червоні тощо. Структуру колоній досліджують у прохідному світлі при малому збільшенні мікроскопа. Вони можуть бути зернисті, ниткоподібні і волокнисті, які характеризуються наявністю переплечених ниток у товщі колоній. При доторканні до колонії петлею можна визначити її консистенцію: пастоподібна, в'язка або слизова, суха, крихка тощо. На рідких живильних середовищах бактерії також можуть рости по-різному, хоча особливості проявів росту бідніші, ніж на щільних. Бактерії здатні викликати дифузне помутніння середовища, колір його при цьому може не змінюватись або набувати кольору пігменту. Такий характер росту найчастіше спостерігається у більшості факультативно-анаеробних мікроорганізмів. Деколи відбувається утворення осаду на дні пробірки. Він може бути крихтоподібним, гомогенним, в'язким, слизистим та ін. Якщо мікроби пігменту не утворюють, осад має сірувато-білий або

жовтуватий колір. Подібним чином ростуть, як правило, анаеробні бактерії. Пристінковий ріст проявляється утворенням пластівців, зерен, прикріплених до внутрішніх стінок пробірки. Середовище при цьому залишається прозорим. Аеробні бактерії мають тенденцію до поверхневого росту. Часто утворюється ніжна безбарвна або голубувата плівка у вигляді ледь помітного нальоту на поверхні, яка зникає при струшуванні або збовтуванні середовища. Плівка може бути волога, товста, мати в'язку, слизову консистенцію та прилипати до петлі, тягнучись за нею. Однак, зустрічається й щільна, суха, крихка плівка, колір якої залежить від пігменту, що виробляється мікроорганізмами.

Лекція 2

РОЗПОВСЮДЖЕННЯ І РОЛЬ МІКРООРГАНІЗМІВ У КРУГОВОРОТІ РЕЧОВИН У ПРИРОДІ

План

- 1. Мікроорганізми як природний фактор**
- 2. Мікрофлора ґрунту, води та повітря**
- 3. Роль мікроорганізмів у кругообігу речовин у природі**
- 4. Процеси гниття.**

Рекомендована література

1. Бортинічук В.А., Скибіцький В.Г., Ібатулліна Ф.Ж. Ветеринарна мікробіологія (практикум). Вінниця, «Нова книга», 2007. 239 с.
2. Демченко А.В., Бортинічук В.А., Скибіцький В.Г., Апатенко В.М. Ветеринарна мікробіологія та імунологія. К.: «Урожай», 1996. 368 с.
3. Скибіцький В.Г., Власенко В.В., Власенко І.Г., Мельник М.В., Ібатулліна Ф.Ж., Соломон А.М., Козловська Г.В. Мікробіологія молока та молочних продуктів. Вінниця, «Едельвейс і К», 2008. 412 с.
4. Скибіцький В.Г., Власенко В.В., Козловська Г.В., Ібатулліна Ф.Ж., Ташута С.Г., Мельник М.В. Ветеринарна мікробіологія. К.: ТОВ «Дорадо-Друк», 2012. 367 с.
5. Фаріонік Т.В., Бондар М.М. Методичні вказівки з дисципліни «Загальна мікробіологія та мікологія» до лабораторних занять для студентів освітнього ступеня «Бакалавр» денної форми навчання за спеціальністю 212 «Ветеринарна гігієна, санітарія і експертиза» Вінниця: ОЦ ВНАУ, 2018. 50с
6. Фаріонік Т.В., Бондар М.М. Методичні вказівки з дисципліни «Мікробіологія» до виконання лабораторних робіт для студентів освітнього ступеня «Бакалавр» денної форми навчання за спеціальністю 204 – «Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва» Вінниця: ОЦ ВНАУ, 2018. 49с.
7. Яблонський В.А., Яблонська О.В. Методологія і методи наукових досліджень у тваринництві та ветеринарній медицині: Навчальний посібник. Київ: 2014. 512 с.

1. Мікроорганізми як природний фактор

Планета Земля має чотири сфери, що відрізняються одна від одної як за речовинною різноманітністю, так і за своєю структурою: літосферу, або земну кору; гідросферу — океани, моря і частина

інших геосфер, куди проникає вода; атмосферу і біосферу, яка складається з живих організмів та їх оточення, і в межах якої існує життя.

Всю сукупність організмів біосфери видатний геохімік В. І. Вернадський назвав живою речовиною, що перетворює сонячне випромінювання на потенційну, а потім кінетичну енергію біогеохімічних процесів. За підрахунками вчених, живу речовину біосфери утворюють 1,8 млн. видів, загальний об'єм яких становить 2488 км^3 , а загальна маса — 2423 млрд. т. Біомаса рослин (фітомаса), включаючи і мікроорганізми, у 2500 разів перевищує загальну масу тварин (зоомасу). Життя переважно зосереджене в тій частині біосфери, яка одержує сонячну енергію. Це атмосфера, поверхня суші, верхні орні шари ґрунту і води в океанах, морях, прісноводних екосистемах.

Відомо, що мікроорганізми убіквітарні, тобто вони практично всюдиусі. У величезних кількостях вони зустрічаються в ґрунті, воді й повітрі. Середовищем їх проживання є рослини, холонокровні й теплокровні тварини, організм людини. І скрізь бактерії знаходяться у вигляді мікробіоценозів. Сучасні мікробні біоценози сформувались у результаті довготривалої еволюції.

Взаємовідносини (співіснування) різних видів мікроорганізмів між собою, а також із іншими формами життя називають *симбіозом*. Види симбіозів досить різноманітні.

1. *Нейтралізм* - існуючі в одному біотопі популяції мікробів не стимулюють і не пригнічують один одного.

2. *Мутуалізм* - взаємовигідне співіснування, коли одна популяція синтезує речовини, які є основою живлення іншої (наприклад, бульбочкові бактерії та бобові рослини, аеробні й анаеробні мікроби в організмі людини чи тварини).

3. *Коменсалізм* - така форма симбіозу, коли мікроби живляться залишками їжі хазяїна, злущеним епітелієм кишечника тощо, але не завдають йому шкоди.

4. *Антагонізм* - пригнічення однієї популяції іншою. Мікроби-антагоністи виділяють антибіотики, бактеріоцини та інші речовини, які викликають загибель інших видів або затримують їх розмноження.

5. *Паразитизм* - вид симбіозу, при якому одна популяція (паразит) завдає шкоди хазяїнові, маючи для себе вигоду. До мікробів-паразитів відносять збудників інфекційних хвороб.

У природних умовах мікроорганізми змушені боротись за існування, неконкурентоспроможні - неминуче зникнуть із спільноти.

При *пасивному антагонізмі* спостерігають витіснення одного мікроорганізму іншим, якщо збільшення чисельності обох видів лімітовано одним і тим самим життєво важливим ресурсом, кількість та (або) доступність якого обмежені. Так, при вирощуванні на штучному поживному середовищі туберкульозних бактерій та

сапрофітної мікрофлори переважно розвиваються сапрофіти через значно більшу швидкість їх росту та розмноження. Експериментально було доведено, що при зміні умов досліду можна змінити кінцевий результат конкурентних взаємовідносин симбіонтів. Так, при сумісному культивуванні *Spirillum sp.* та *Pseudomonas sp.* за температури 16°C і вище перевага була за *Spirillum sp.*, тоді як за зниження температури до 2°C на тому самому субстраті швидше розвивались *Pseudomonas sp.*

Активний антагонізм зумовлений виділенням бактерицидних речовин. Такими речовинами можуть бути неспецифічні продукти обміну (органічні кислоти, спирти, аміак, феноли, пероксид водню та ін.) або специфічні (антибіотики). Такі продукти обміну, як кислоти та спирти, токсичні для будь-якої клітини. Так, при розвитку бактеріальних популяцій у молоці спочатку спостерігається незалежний розвиток різних видів мікроорганізмів. Але за наявності бактерій, які здійснюють молочнокисле бродіння, молоко поступово підкислюється і перевага залишається за кислотостійкими молочнокислими коками та паличками. З часом молочнокислі палички, які є більш кислотостійкими, витісняють і коки. Оцтовокислі бактерії можна підтримувати в чистій культурі, не здійснюючи особливих заходів проти їх контамінації. Висока концентрація оцтової кислоти в середовищі запобігає розвитку інших мікроорганізмів. Уролітичні бактерії в процесі гідролізу сечовини сприяють накопиченню аміаку, за рахунок якого середовище стає сильно лужним. Висока лужність та висока концентрація аміаку в середовищі запобігають розвитку інших мікроорганізмів.

Дія специфічних продуктів обміну (антибіотиків) спрямована на пригнічення чутливих до них мікроорганізмів. Проте остаточної думки з приводу значення для мікроорганізму продукції антибіотиків не існує. У природних умовах антибіотики, як правило, не можуть бути накопичені в такій концентрації, щоб здійснити нейтралізуючий вплив на інші мікроорганізми. Так, наприклад, *Streptomyces olivocinereus* - продуцент геліоміцину - пригнічує в нестерильному ґрунті популяцію *Arthrobacter crystallopoietes*, але ефект пригнічення спостерігається за щільності продуцента не менш як 10⁶ колонієутворювальних одиниць в 1 г ґрунту. В іншому випадку одночасно проводили культивування кишкової палички та стрептоміцета, який продукує антибіотик, що пригнічує ріст *Escherichia coli*. При їх сумісному вирощуванні з'являються стійкі до дії цього антибіотика мутанти кишкової палички. З часом швидкоростучі кишкові палички повністю витісняють клітини стрептоміцета, які характеризуються більш повільним ростом.

Існує припущення, що деякі антибіотики можуть здійснювати регуляцію певних процесів у їх продуцентів. Синтез поліпептидних антибіотиків ендоспороутворювальними бактеріями, наприклад, збігається з інтенсивним спороутворенням. Розглядаються антибіотики і як випадкові продукти метаболізму, які не мають значення для організмів, що їх продукують. Хоча питання про біологічне значення антибіотиків остаточно не вирішене, проте в деяких випадках доведено, що їх накопичення сприяє виживанню мікроорганізму в природному середовищі.

Найбільш яскраво конкуренція проявляється у формі паразитизму та хижацтва. Між цими типами взаємовідносин важко провести чітку межу, оскільки і паразити, і хижаки задовольняють

свої харчові потреби за рахунок жертви. Різниця між ними полягає в тому, що хижаки вбивають свою жертву досить швидко, тоді як паразити живляться за рахунок живого організму.

Паразитизм мікроорганізмів на мікроорганізмах спостерігається досить рідко. Так, *Vampirovibrio chlorellavorus* є облігатним паразитом одноклітинної водорості *Chlorella*. Цей вібріон не здатний розвиватись на органічних середовищах і навіть на мертвих клітинах хлорели. Бактерії прикріплюються до оболонки водорості. До однієї клітини може прикріпитись декілька десятків вібріонів. Прикріплені вібріони збільшують проникність оболонки водорості й ростуть за рахунок речовин, що надходять у клітину водорості. З часом клітина водорості припиняє ріст і гине. Проте за допомогою антибіотиків, наприклад пеніциліну, можна вбити бактерії-паразити, не зашкодивши водорості. Вилікувані клітини хлорели здатні далі нормально розвиватись.

Інший вібріон (*Bdellovibrio*) може розглядатись як справжній хижак. Клітини бделовібріона можуть прикріплюватися до клітин інших бактерій і проникати в них. Після проникнення хижак росте, використовуючи вміст клітини-жертви як поживний субстрат, і ділиться. З часом клітина-жертва лізується, а хижак знаходить нову жертву. Коло можливих жертв досить широке, але найчастіше це представники кишкових бактерій.

Позитивні взаємовідносини між різними видами мікроорганізмів можна характеризувати як синтрофію. *Синтрофія* - це здатність двох або декількох видів бактерій здійснювати сумісно такий процес, який жодний з них не здатен здійснити самотійно. Основою таких взаємовідносин може бути передача факторів росту, утворення одним організмом субстрату, придатного для розвитку іншого, видалення

одним організмом продуктів, токсичних для іншого. Декілька механізмів можуть діяти одночасно. Синтрофія, основою якої є обмін субстратом, спостерігається, наприклад, при руйнуванні мікроорганізмами целюлози в середовищі, яке не містить зв'язаного азоту. Целюлозоруйнівні бактерії не здатні до фіксації молекулярного азоту. Вони отримують продукти фіксації азоту від азотфіксуючих бактерій. У той же час останні не можуть використовувати клітковину як джерело енергії та вуглецю. Вони використовують продукти їх гідролізу від целюлозоруйнівних бактерій. Для цієї спільноти, що розвивається в аеробних умовах, важливим є також поглинання кисню целюлозоруйнівними аеробами, оскільки знижений вміст кисню в середовищі є сприятливим для азотфіксації.

У деяких випадках симбіотичні взаємовідносини призводять до формування консорціуму (лат. *consortium* – співучасть, співтовариство), в якому клітини двох видів об'єднані нібито в один організм. Такий консорціум утворюють бактерії роду *Desulfotomaculum* та клітини *Chlorobium phaeobacteroides*. У центрі асоціації містяться сульфатредуктори *Desulfotomaculum*, а на поверхні - фотосинтезуючі сіркобактерії. Перебуваючи у світлій зоні водойм в анаеробних умовах, фотосинтезуючі бактерії забезпечують сульфатредукуючі бактерії органічними речовинами та окисненою сіркою, а *Desulfotomaculum* виділяє сірководень і забезпечує фотосинтезуючі бактерії відновником. У результаті таких взаємовідносин консорціум може розвиватись у таких водоймах, де в анаеробній зоні присутні лише сліди сірководню. Консорціум проявляє фотохемотаксис. Ділення організмів, які входять у консорціум, відбувається синхронно, що свідчить про високий ступінь їхньої інтеграції.

Якщо наявність симбіонта необхідна лише одному з партнерів, тоді говорять про коменсалізм. Наприклад, навколо колонії мікроорганізмів, що активно синтезують ціанкобаламін, можуть розвиватись мікроорганізми, які не здатні синтезувати його самостійно, але потребують для свого розвитку. Існування симбіонта для мікроорганізму - продуцента вітамінів залишається непомітним. Або інший приклад - руйнування пеніциліну пеніциліназою аеробних спороутворювальних бактерій дає можливість розвиватись чутливим до пеніциліну мікроорганізмам.

Механізми "взаємодопомоги" у бактерій можуть бути пов'язані не лише з живленням. Так, патогенна для людини нерухома *Veillonella parvula* у ротовій порожнині прикріплюється до поверхні представників нормальної мікрофлори рота, здатних до ковзного типу руху, і таким чином направляється до ділянок сприятливої для її розвитку.

Явище *синергізму* (в асоціантів відбувається підсилення фізіологічних функцій) знайшло застосування в біотехнології при проведенні мікробіологічного синтезу біологічно активних сполук. Сумісне культивування двох культур актиноміцетів - *Streptomyces rimosus* (продуцент протеаз) і *S. violacinereus* (не синтезує ферменти) супроводжується збільшенням виходу ферменту в шість разів. Виявилося, що *S. violacinereus* продукує стимулятор, який впливає на розвиток продуцента ферменту.

Прикладами синтрофічних взаємовідносин можуть бути також полімікробні інфекції, зокрема газова гангрена, зумовлена дією декількох видів роду *Clostridium* в асоціації зі стафілококами та стрептококами.

Таким чином, між мікроорганізмами в природних асоціаціях існують певні динамічні взаємовідносини, які часто не мають чітких меж. Причини, які сприяють прояву тих або інших форм взаємовідносин, зумовлені конкретними умовами існування, а також особливостями обміну речовин самих мікроорганізмів.

2. Мікрофлора ґрунту

Земля є найбільшим і найважливішим середовищем існування мікроорганізмів. Перші бактерії, як і все живе, з'явилися у воді, однак у пізніші геологічні періоди, коли на поверхні земної кори утворився ґрунт, саме він став основним вмістилищем мікроорганізмів й основною ареною його життєдіяльності.

Кількість мікробів в 1 г ґрунту може бути дуже велика: від 200 млн до 10 млрд. Удобрювані орні землі населені мікроорганізмами найбільш густо. Ґрунти лісів, піски пустинь і кам'яністі ґрунти містять мало бактерій. Самий поверхневий шар землі (кірочка товщиною 2-3 мм) містить мало мікробів, оскільки висихання і сонячні промені згубно впливають на них. Основна маса їх знаходиться на глибині 10-20 см. На глибині 1-2 м непорушеної землі бактерії майже не зустрічаються.

Мікрофлора ґрунту дуже різноманітна, представлена кількома сотми видів. Тут зустрічаються нітрифікуючі, денітрифікуючі, азотофіксуючі бактерії, численні сірко-, залізобактерії, гриби, найпростіші, віруси. Вони відіграють колосальну роль у кругообігу речовин у природі, підвищують урожайність полів, забезпечують життя на Землі. Мікроорганізми ґрунту беруть активну участь у всіх процесах трансформації речовин і енергії: здійснюють синтез біомаси,

біологічну фіксацію азоту, бродіння, гниття, денітрифікацію, кругообіг сірки, заліза, фосфору та інших елементів. Із виділеннями людей і тварин у ґрунт можуть потрапляти і зберігатися протягом деякого часу збудники правця, газової гангрени, сибірки, черевного тифу, дизентерії, холери, деякі віруси. Для бацил ботулізму й окремих видів грибів земля є природним середовищем їх проживання. Особливого епідеміологічного значення набуває мікрофлора ґрунту під час воєн, коли при масових пораненнях значно зростає небезпека забруднення ран землею, яка містить спори анаеробних бактерій, у результаті чого можуть виникати такі тяжкі ранові інфекції, як правець і газова гангрена.

Санітарно-показовими бактеріями ґрунту є кишкова паличка, ентерокок, *Costridium perfringens* і термофільні мікроорганізми. За наявності перших трьох видів роблять висновки про ступінь фекального забруднення ґрунту. Точніша оцінка проводиться при визначенні кількості бактерій групи кишкової палички в 1 г ґрунту. (колі-індекс). Визначають також загальне мікробне число (ЗМЧ) - кількість сапрофітних бактерій в 1 г землі.

Ґрунт вважають чистим, якщо його коли-індекс не перевищує 1000, а кількість термофільних бактерій знаходиться в межах 100-1000. За епідемічними (епізоотичними) показниками ґрунт ще досліджують на наявність патогенних бактерій (сальмонел, шигел, паличок правця, газової гангрени, ботулізму, сибірки) та ентеровірусів.

Мікрофлора води

Вода морів, океанів, річок і озер, як і ґрунт, є природним середовищем для існування багатьох видів бактерій, грибів, найпростіших, а також мікроскопічних водоростей. У ґрунтових водах містяться поодинокі мікроорганізми. Основний фактор, який визначає кількість мікробів у воді, – наявність у ній необхідних живильних субстратів. Чим більше вода забруднена органічними речовинами, чим більше в неї потрапляє відходів і нечистот, тим більше в ній бактерій. Отже, вода рік, які протікають через населені пункти і вбирають масу стоків і каналізаційних вод, містить величезну кількість мікроорганізмів.

Мікрофлора води поділяється на власну (автохтонну) і випадкову (заносну). До постійних бактерій належать актиноміцети, мікрококи, псевдомонади, спірохети, непатогенні вібріони. Із морської води прибережних зон систематично висіваються вібріони, які спричиняють у людей гострі гастроентерити від вживання малосольної морської риби, креветок, мідій.

При забрудненні водоймищ стічними водами виявляють багато кишкових паличок, ентерококів, клостридій, спірил, вібріонів, ентеровірусів і ротавірусів. Анаеробні бактерії у воді зустрічаються рідко. Інколи в неї заносяться і певний час зберігаються хвороботворні мікроорганізми. Так, спори сибіркових бацил зберігаються у воді роками, ентеровіруси, вірус гепатиту А, лептоспіри - кілька місяців, а збудники дизентерії, холери, бруцельозу - ще менше (дні, тижні). Отже, вода може стати фактором передачі багатьох інфекційних хвороб.

Санітарно-показовим мікробом для води є кишкова паличка (*Escherichia coli*). Доброякісна питна вода повинна відповідати певним вимогам державного стандарту. Наказом МОЗ України від 23.12.1996

р. затверджено Державні санітарні правила і норми "Вода питна. Гігієнічні вимоги до якості води централізованого господарсько-питного водопостачання". Вимоги їх обов'язкові для всіх органів, установ, організацій та закладів, посадових осіб і громадян, причетних до забезпечення водою населення України. Наводимо основні мікробіологічні показники, які регламентують безпеку питної води (табл. 4.1).

Таблиця 7.1

Мікробіологічні показники безпеки питної води

№	Показники	Одиниці виміру	Нормативи
1.	Число бактерій в 1 см ³ води (ЗМЧ)	КУО/см ³	не більше 100
2.	Число бактерій групи кишкових паличок в 1 дм ³ води (індекс БГКП)	КУО/дм ³	не більше 3
3.	Число патогенних бактерій в 1 дм ³ води	КУО/дм ³	відсутність
4.	Число патогенних бактерій в 1 дм ³ води	КУО/дм ³	відсутність
5.	Число коліфагів в 1 дм ³ води	КУО/дм ³	відсутність

Примітки: КУО - колонієутворюючі одиниці (мікроорганізми);

БУО - бляшкоутворюючі одиниці

Мікрофлора повітря

Атмосферне повітря є несприятливим середовищем для розмноження мікроорганізмів. У ньому відсутні поживні речовини, часто недостатня вологість і неоптимальна температура, а висушування і

сонячне проміння згубно впливають на бактерії та віруси. У повітря мікроби потрапляють, головним чином, із ґрунту, рослин і тварин, продуктів і відходів деяких виробництв. Видовий і чисельний склад мікрофлори повітря незначний. Він дуже варіабельний, динамічний і значною мірою залежить від опадів, температури, інтенсивності сонячної радіації та наявності диму, пилу, кіптяви. Найчастіше в атмосферному повітрі знаходять актиноміцети, сарцини, мікрококи, бацили, гриби. Кількість мікроорганізмів у робочих і житлових приміщеннях тісно пов'язана з санітарно-гігієнічним режимом. При скупченні людей, поганій вентиляції, неправильному прибиранні кількість бактерій у повітрі зростає. В закритих приміщеннях у повітряний простір мікрофлора потрапляє в основному з поверхні шкіри і верхніх дихальних шляхів людини чи тварин. Патогенні мікроорганізми потрапляють у повітря від хворих людей та тварин або бактеріоносіїв при чханні, кашлі. Розсіювання бактерій і вірусів найбільш інтенсивно відбувається при чханні. Навіть короткого перебування збудників у повітрі досить для того, щоб передати їх від хворої до здорової людини (тварини). Так, повітряно-краплинним способом передаються дифтерія, коклюш, скарлатина у людини, інфекційний ринотрахеїт, парагрип у великої рогатої худоби, туберкульоз, аденовірусна інфекція та ін. у людини і тварин.

Оцінку чистоти повітря закритих приміщень проводять на основі визначення загальної кількості мікробів в 1 м³ і наявності санітарно-показових бактерій – гемолітичних стрептококів і золотистих стафілококів. Особливо важливий контроль за мікробним забрудненням повітря у хірургічних, акушерських та дитячих стаціонарах, де виникнення госпітальних інфекцій найбільш небезпечно. На жаль, державний стандарт для оцінки мікробного

обміненія повітря лікарняних закладів ще не розроблено. Для основних приміщень хірургічних відділень і пологових будинків запропоновано тимчасове положення про нормування мікробного забруднення повітряного середовища. Згідно з цим положенням, загальна кількість бактерій в операційній не повинна перевищувати 500 в 1 м³, а після операції – 1000. Гемолітичні стрептококи і золотисті стафілококи не повинні виявлятися в 250 л повітря.

Для знезараження повітря лікарняних закладів використовують ультрафіолетове і кварцове опромінювання, аерозолі дезінфікуючих розчинів.

Значення мікроорганізмів у природі

Біосфера сформувалась біля 3 млрд років тому. Тоді єдиними "жителями" Землі були прокаріотичні бактерії, які відіграли велику роль у її створенні. Сьогодні сумарна маса мікроорганізмів планети складає понад 740 млрд т, тоді як всіх рослин - 550, тварин - лише 15 млрд т. При цьому ферментативна активність біомаси бактерій у десятки разів перевищує цей процес у рослин і тварин. Таке широке розповсюдження мікроорганізмів, участь у глибокому розщепленні різноманітних органічних сполук зумовлює їх колосальну роль у кругообігу речовин і енергії в природі. Із трупами тварин і рослин у ґрунт і воду постійно надходить велика кількість органічних сполук, переважно білкової і вуглеводневої природи. Із виділеннями людей і тварин у довкілля потрапляє сечовина, сечова кислота, продукти білкового розкладу. Ці азотовмісні сполуки безперервно розкладаються бактеріями й повністю мінералізуються до амонійних і азотнокислих солей. Мікроорганізми - чудові санітари Землі. Вони очищають нашу планету від нечистот,

розкладають їх до мінеральних солей і природа знову дістає можливість творити дивовижний органічний світ. Деякі мікроби здатні засвоювати з повітря елементарний азот і відкладати його у вигляді складних азотистих сполук, що збагачує ґрунт і підвищує врожайність полів. Усі ці процеси розкладу і синтезу азотистих речовин лежать в основі грандіозного кругообігу азоту в природі. Існують мікроорганізми, які з діоксиду вуглецю, карбонатів і мінеральних речовин синтезують вуглеводи. Інші види в результаті бродіння знову перетворюють їх у діоксид вуглецю і карбонати. Ці процеси складають кругообіг вуглецю. Подібна трансформація відбувається з сіркою, залізом, фосфором та іншими елементами. Надзвичайно важливо оберігати екологічну рівновагу в біосфері, захищати від промислових викидів групи мікроорганізмів, які здійснюють кругообіг речовин у природі. Адже шкідливі впливи порушують екологічний баланс, пригнічують життєдіяльність корисних організмів у екосистемах, і вони часто гинуть.

3. РОЛЬ МІКРООРГАНІЗМІВ У КРУГООБІГУ РЕЧОВИН У ПРИРОДІ

Мікроорганізми є облігатним компонентом біосфери планети та мають суттєве значення в кругообігу речовин у природі. Щоб ознайомитись з названою функцією мікроорганізмів важливо

проаналізуємо їх роль у перетворенні азоту, вуглецю та деяких інших речовин.

Роль мікроорганізмів у кругообігу вуглецю.

Як відомо, зелені рослини за допомогою енергії Сонця синтезують з вуглекислого газу повітря і води різні органічні речовини, зокрема вуглеводи. Приблизний розрахунок синтезованих рослинами вуглеводів сягає десятків мільярдів тон щороку.

Розпад органічних речовин може відбуватись двома основними шляхами – *фітогенним* та *зоогенним*.

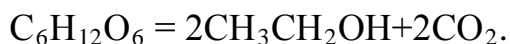
Фітогенний розпад органічних речовин здійснюється за участю бактерій, грибів, актиноміцетів, а зоогенний – за участю різних тварин – від найпростіших протозоа до ссавців. Фітогенний розпад органічних речовин за інтенсивністю значно переважає зоогенний. Інтенсивність розпаду органічних речовин залежить як від хімічного їх складу так і від наявності відповідних фітогенних (зоогенних) факторів. Швидше розпадаються прості і мало полімеризовані цукри (моно-, дисахариди), повільніше – полісахариди, жири. В залежності від умов середовища органічні речовини можуть розщеплюватись аеробними чи анаеробними мікроорганізмами. У першому випадку кінцевими продуктами розщеплення буде вода та вуглекислий газ, в останньому – кислоти і спирти. Розщеплення органічних речовин в анаеробних умовах відкрив Л.Пастер та назвав його бродінням.

Залежно від переважаючої кількості продуктів, які виділяються під час розпаду органічних речовин розрізняють: спиртове, молочнокисле, пропіоновокисле, маслянокисле та інші види бродіння.

Кожен тип бродіння викликає певна група мікроорганізмів.

Спиртове бродіння

Спиртове бродіння надзвичайно поширене. Це процес розкладу цукру мікроорганізмами на спирт і вуглекислий газ.



Збудниками спиртового бродіння є дріжджі, деякі мукові гриби і бактерії. В природі дріжджі надзвичайно поширені. Їх знаходять на повехні рослин, овочів і фруктів та ін. Так звані дикі дріжджі обумовлюють бродіння під час приготування вина у домашніх умовах. Вони витримують концентрацію спирту до 13°C, що і лімітує міцність сухих вин. У промисловості використовують переважно ь дріжджі двох видів - *Saccharomyces cerevisiae* та *Saccharomyces ellipsoides*.

Будь-яке бродіння відбувається в дві стадії: перша — окислення, яка включає перетворення глюкози до піровиноградної кислоти і відняття двох пар водню (при окисленні 3-фосфогліцеринового альдегіду), і друга — відновлення, коли НАД•Н₂ передає водень кінцевому акцепторові.

За спиртового бродіння піровиноградна кислота, яка утворилася на стадії окислення, не перетворюється на ацетил-КоА, як при аеробному метаболізмі, а декарбоксилується до оцтового альдегіду.

Цю реакцію каталізує дріжджовий фермент піруватдекарбоксилаза - ключовий фермент спиртового бродіння. Оцтовий альдегід відіграє роль кінцевого акцептора водню. Вступаючи у взаємодію з НАД • Н₂, він відновлюється до етанолу, а НАД • Н₂ окислюється до НАД:

$$2CH_3CHO + 2НАД-Н_2 = 2CH_3CH_2OH + 2НАД.$$

Ця реакція каталізується ферментом алкогольдегідрогеназою.

Поряд із головним продуктом бродіння — C_2H_5OH і CO_2 у невеликій кількості утворюються побічні продукти: гліцерол, оцтовий альдегід, оцтова і янтарна кислоти, сивушні олії — суміш вищих спиртів. Походження сивушних олій (вищих спиртів — бутилового, ізобутилового, ізоамілового) пов'язане з перетворенням амінокислот, які утворюються у процесі живлення дріжджів. Сивушні олії утворюються дезамінуванням і декарбоксилюванням окремих амінокислот під дією ферментів дріжджів. Наприклад, у разі гідролітичного дезамінування лейцину утворюється ізоаміловий спирт.

Відомо понад 200 видів дріжджів - сахароміцетів. Найважливіше значення для промисловості має *Saccharomyces cerevisiae*. Виробничі дріжджі поділяють на верхові (хлібопекарські, спиртові, винні) і низові (пивні).

Найкращою концентрацією цукру в бродильному середовищі для переважної більшості рас дріжджів є 10—15 %, оптимальне рН=4 ... 5, температура 20—28 °С. При порівняно високих температурах (до 30 °С) найчастіше відбувається, так зване, верхове бродіння, яке спричиняють раси верхових дріжджів. Цей вид бродіння використовують у виробництві спирту і хлібопекарських дріжджів.

При низьких температурах (5-10 °С) відбувається низове бродіння, яке зумовлюють раси низових дріжджів. Ці раси, на відміну від верхових, повністю зброджують рафінозу і не виносяться на поверхню бродильного субстрату. Низове бродіння використовують у пивоварному виноробстві.

При надмірному доступі кисню дріжджі розпочинають окислювати вуглеводи., тобто бродильний процес змінюється на дихальний (аеробний). При цьому суттєво зростає коефіцієнт

використання вуглеводів і збільшення біомаси дріжджів. Останнє важливе під час отримання пекарських дріжджів, тому у таких випадках живильне середовище, де їх культивують, піддають інтенсивній аерації. При виробництві етилового спирту, навпаки, створюють анаеробні умови.

Молочнокисле бродіння

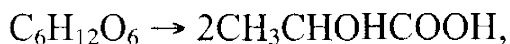
Молочнокисле бродіння – це процес перетворення цукру в молочну кислоту в результаті життєдіяльності молочнокислих бактерій.

Молочнокисле бродіння люди використовували з давніх часів, однак природа його була з'ясована Луї Пастером лише у 1857 р., який довів, що молочнокисле бродіння викликається мікроорганізмами, проте виділити збудників цього бродіння у вигляді чистих культур йому не вдалось. Чиста культура збудників молочнокислого бродіння була виділена лише в 1878 р. Нині відомо багато різних бактерій, які ферментують цукор із утворенням молочної кислоти. При цьому, деякі з них перетворюють цукор лише в молочну кислоту, інші, поряд з молочною кислотою, утворюють ще й побічні продукти (оцтову, янтарну кислоти, етиловий спирт, вуглекислий газ, водень та інші продукти).

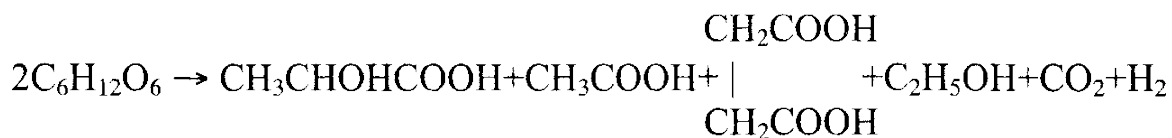
Якщо в процесі молочнокислого бродіння із цукру утворюється лише молочна кислота, його називають типовим (гомоферментативним) молочнокислим бродінням. Якщо ж при бродінні поряд із молочною кислотою утворюються інші продукти, - процес

називається нетиповим (гетероферментативним молочнокислим бродінням).

Процес типового молочнокислого бродіння можна виразити таким сумарним рівнянням:

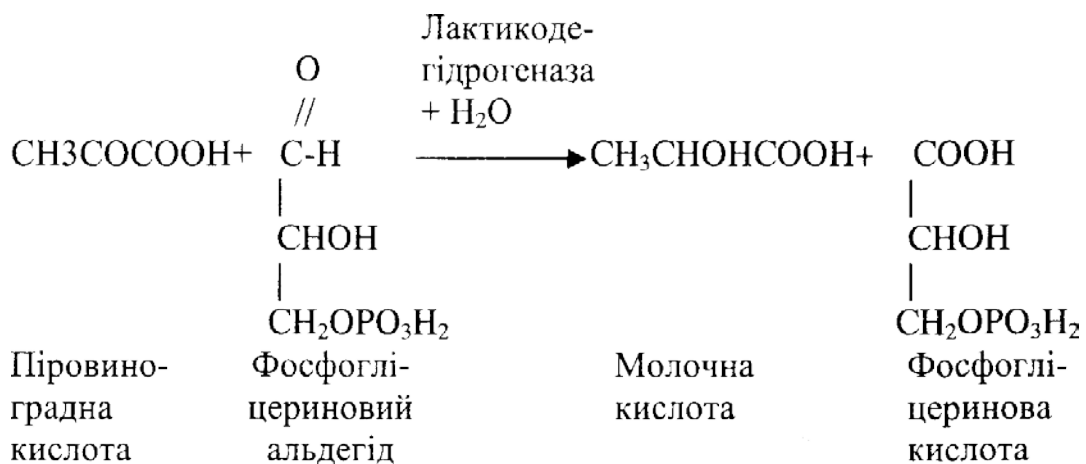


а нетипового:



Це лише узагальнені рівняння, а насправді процес відбувається за дуже складною схемою, через низку проміжних продуктів.

До моменту утворення піровиноградної кислоти процес проходить за такою ж схемою, як і спиртове бродіння. Далі, у зв'язку з відсутністю у молочнокислих бактерій ферменту карбоксилази (піроватдекарбоксилази), реакція декарбоксилювання піровиноградної кислоти не відбувається. Натомість, завдяки ферменту лактиколегілгюгенази, що притаманний молочнокислим бактеріям, піровиноградна кислота вступає в окисно-відновну реакцію з фосфогліцериновим альдегідом. При цьому, в результаті відновлення піровиноградної кислоти, утворюється молочна кислота, а в результаті окиснення фосфогліцеринового альдегіду - фосфогліцерінова:



Процес гетероферментативного молочнокислого бродіння відбувається за значно складнішою схемою.

Збудники молочнокислого бродіння. Група молочнокислих бактерій має значну різноманітність як за морфологічними, так і за біохімічними властивостями. Розрізняють типові молочнокислі бактерії (викликають процес типового молочнокислого бродіння), і нетипові (викликають процес нетипового молочнокислого бродіння).

Для всіх молочнокислих бактерій спільними є такі ознаки: всі молочнокислі бактерії (як кулясті, так і паличкоподібні) нерухомі, спор не утворюють. Грампозитивні. Факультативні анаероби, утворюють молочну кислоту. Молчнокислі бактерії можуть перетворювати в молочну кислоту моно- і дисахариди. Крохмаль та інші полісахариди - не ферментують. Окрім здатності викликати молочнокисле бродіння, деякі молочнокислі бактерії можуть розкладати білкові речовини до амінокислот. При цьому різні види молочнокислих бактерій мають різну протеолітичну активність. Протеолітичні ферменти, які є в молочнокислих бактерій, головним чином належать до ендферментів і діють на білки навколишнього середовища тільки після відмирання клітини та її автолізу.

Молочнокислі бактерії дуже поширені в природі. Вони зустрічаються на рослинах, в повітрі і в ґрунті, входять до складу облігатної мікрофлори організму людини і тварин.

Найважливішими представниками типових молочнокислих бактерій є: *Streptococcus lactis*, *Str. cremori*, *Bact. Bulgaricum*, *Bact. casei*, *Bact. Acidophylum*.

Streptococcus lactis (молочний стрептокок) – коки, діаметром близько 1 мкм, з'єднані в короткі ланцюжки або попарно. Вони завжди присутні в молоці і найчастіше викликають його скисання. Оптимальною температурою для їхнього розвитку є температура 36°C. Вони є відносно слабкими кислотоутворювачами, накопичують не більше 1% молочної кислоти. Вища концентрація кислоти діє на них згубно. Тому кисле молоко, яке отримують у домашніх умовах самоскисанням без застосування спеціальних заквасок, ніколи не буває надто кислим. Молочнокислі стрептококи ферментують лактозу, мальтозу, глюкозу і галактозу.

Str. cremoris – діаметр клітини не більше 0,7 мк, утворюють довгі ланцюги. Ферментують лактозу, глюкозу і галактозу; мальтозу і сахарозу не перетворюють. Оптимальна температура розвитку 30° С.

Bact. bulgaricum (болгарська паличка) - довжина клітини сягає 5 мкм. В мазках часто розташовані ланцюжками. Ферментують глюкозу, фруктозу, галактозу, лактозу; сахарозу і мальтозу не ферментують. Оптимальна температура розвитку 40-45 °С. Обумовлює накопичення молочної кислоти до 3,5 %.

Bact. casei (сирна паличка) - довжина клітини майже 6 мкм. Ферментує мальтозу, лактозу, глюкозу і фруктозу. Оптимальна температура - 40°C.

Bact. acidophilum (ацидофільна паличка) — довжина сягає 5 мкм. Ферментує лактозу, мальтозу, сахарозу і глюкозу. Оптимальна температура для її розвтку - 40°C. Обумовлює накопичення молочної кислоти до 2,5 %. Деякі види ацидофільної палички здатні до слизоутворення (утворюють слизисті капсули). Ацидофільні бактерії поряд із молочною кислотою продукують антибіотичні речовини, які згубно діють на збудників кишкових захворювань, тому її використовують для лікування і профілактики шлунково-кишкових захворювань людини та свійських тварин.

Окрім названих існують також інші види молочнокислих паличок (*Bact. delbrueckii*, *Bact. cucumeris fermentati*, *Bact. plantarum* - Останні дві використовують під час квашення овочів та силосування кормів. Температурний оптимум для них – близько 30°C.

Нетипових молочнокислих бактерій надзвичайно багато. Практичний інтерес мають, так звані, ароматоутворюючі бактерії видів *Str. paracitrovorus*, *Str. citrovorus*, *Str. diacetylactis*. Ці бактерії утворюють значну кількість летких кислот, вуглекислого газу і ацетилметилкарбінолу, який під час окислення переходить у діацетил. Останній надає продуктам, зокрема маслу, особливого аромату. Завдяки цьому, названі культури широко використовують у різних галузях молочної промисловості, зокрема в маслоробній.

Ароматоутворюючі молочнокислі бактерії поряд із цукром перетворюють солі лимонної кислоти, яка завжди є в молоці. Ацетилметилкарбінол, а далі діацетил і ацетоїн утворюються саме із солей лимонної кислоти.

Молочнокисле бродіння застосовують також для консервування кормів шляхом силосування. Останнє дозволяє зберегти різні види кормів, незалежно від погоди і без втрат вітамінів. Шляхом

силосування консервують траву, кукурудзу, гичку картоплі, буряків та ін.

При силосуванні подрібнену зелену масу завантажують у траншеї, силосні башти або складають у наземні бурти. Є два способи силосування: гарячий і холодний. При гарячому способі силосування рослинну масу не трамбують під час закладання, а тому в ній розвиваються енергійні мікробіологічні і ферментативні процеси, внаслідок чого температура корму може підніматись до 50 °С. Цей спосіб силосування використовується в окремих випадках, коли на силос використовують грубостеблові та малоцінні корми.

Холодний спосіб силосування застосовують частіше. Рослинну масу подрібнюють і щільно трамбують, завдяки чому під час дозрівання силосу температура в ньому не піднімається вище 25-35 °С.

До типових молочнокислих бактерій, які відіграють основну роль при силосуванні, належать: *Streptococcus lactis*, *S. thermophilus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis* та *Betabacterium breve*.

Процес силосування характеризується трьома послідовними фазами: а) розвиток мішаної мікрофлори; б) домінантний розвиток молочнокислих бактерій (головне бродіння); в) припинення розвитку молочнокислих бактерій внаслідок накопичення молочної кислоти і зниження рН до 4-4,2.

На основі молочнокислих бактерій розроблено цілий ряд пробіотиків, які успішно застосовують для профілактики і лікування шлунково-кишкових захворювань у людини і тварин.

Пропіоновокисле бродіння

Збудниками пропіоновокислого бродіння є пропіоновокислі бактерії роду *Propionibacterium*. Кінцеві продукти пропіоновокислого бродіння – пропіонова та оцтова кислоти, а також діоксид вуглецю і вода.



Пропіоновокислі бактерії, зокрема *Bact. acidipropionici* – дрібна, нерухома, грампозитивна паличка широко використовуються для виготовлення твердих сирів: російського, швейцарського, голландського та ін.

Пропіонові бактерії виявляють поряд з молочнокислими у молоці і молочних продуктах, у ґрунті, на поверхні рослин. Їх роль суттєва в процесі визрівання сичужних сирів. Після завершення молочнокислого бродіння лактози у сирі, що дозріває, настає стадія пропіоновокислого бродіння, під час якої молочна кислота зброджується в оцтову та пропіонову кислоти, що надає йому приємного смаку, а вуглекислота, яка при цьому утворюється, обумовлює «рисунок» продукту. Пропіонові бактерії використовують також з метою отримання вітаміну *B12*. Вони входять до складу ряду пробіотиків, що використовуються для профілактики захворювань людини і тварин.

Маслянокисле бродіння

Маслянокисле бродіння - складний біохімічний процес розщеплення вуглеводів, а також нерідко жирів і білків з утворенням масляної кислоти, вуглекислоти, водню та інших речовин (оцтова, молочна, мурашина та інші кислоти і деякі спирти).

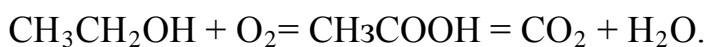


Збудники маслянокислого бродіння - специфічні анаеробні спороутворюючі мікроорганізми з групи *Bac. amylobacter*. Відкрив їх

у 1861 р. Л. Пастер. Їх знаходять в ґрунті, гної, на рослинах, у молоці, сирах тощо. Маслянокислі бацили є фіксаторами атмосферного азоту, але така здатність у різних представників роду неоднакова. Найбільш характерні збудники *Clostridium pasteurianum*; *Cl. felsineum*, що продукують фермент пектиназу, який викликає бродіння пектинових речовин; *Cl. butylicum*, *Cl. acetobutylicum* — розщеплюють вуглеводи з утворенням ацетону та бутилового спирту (ацетоно-бутилове бродіння). Маслянокисле бродіння може завдавати шкоди. Так, при накопичення масляної кислоти у силосі корм набуває неприємного запаху і смаку, стає шкідливим для здоров'я тварин.

Оцтове бродіння

Оцтове бродіння — аеробний процес окислення етилового спирту в оцтову кислоту. Оцтова кислота – проміжний продукт, бактерії можуть її окислювати до води та вуглекислоти.



Збудниками його є оцтові бактерії. Останні належать до роду *Acetobacter*. Це грамнегативні частіше рухливі палички, спор і капсул

не утворюють, строгі аероби. Оцтове бродіння відбувається в субстратах, що містять не більше 14° спирту, в атмосфері кисню і в межах температури 20—26 °С. Характерною особливістю їх є здатність утворювати плівку на поверхні живильного середовища та інших субстратів. Вони можуть рости при рН 4,5. Оцтовокислі бактерії можуть окислювати не лише етиловий а й інші спирти, а також фруктозу до глюконової кислоти і ін.

Відкрив оцтове бродіння Л. Пастер в 1852 р. Він виділив з неякісного вина оцтові бактерії і запропонував спосіб запобігання «хвороб» натуральних виноградних вин і пива шляхом термічної обробки їх при температурі 70—80 °С протягом 30 хв (пастеризація).

Промислове значення як продуценти оцту мають *Acetobacter aceti*. Її застосовують для виробництва оцту біологічним шляхом за французьким (із слабого вина) та німецьким (із спирту) способами. Спонтанне оцтове бродіння відбувається при в силосі, сінажі, жомі, ґрунті та інших субстратах.

. Бродіння клітковини

Клітковина (целюлоза) – складна органічна речовина, що є основою клітинних оболонок рослин. Це найбільш поширений природний рослинний полімер. Підраховано, що в процесі фотосинтезу близько 300000 млн. т вуглецю у вигляді діоксиду (CO_2) щороку трансформується в різноманітні органічні сполуки вищих рослин, а з них понад третини припадає на клітковину.

У той час, як полімеризація мономерів і створення клітковини з глюкози властиві майже виключно вищим рослинам, її деградація, розклад до мономерів відбувається лише за допомогою мікроорганізмів.

Мікробіологічний розклад целюлози відбувається завдяки наявності у целюлозоруйнуючих мікробів комплексу ферментів – целюлази і целобіази. Переважна більшість мікроорганізмів спеціалізована, вони здатні розкласти целюлозу тільки в аеробних або анаеробних умовах. При цьому, утворюються неоднакові як проміжні, так і кінцеві продукти її розщеплення. При окисленні клітковини головним продуктом розщеплення є целобіоза (цукор, що складається з двох молекул глюкози). При розкладі целюлози без доступу кисню анаеробними целюлозоруйнуючими бактеріями продуктами розпаду є різні кислоти — оцтова, пропіонова, масляна, спирт та інші речовини. Анаеробний розклад целюлози здійснюється двома видами спороутворюючих целюлозоруйнівних бактерій – *Bac. cellulosaе metanicum* і *Bac. cellulosaе hydrogenidum*. При метановому бродінні, крім проміжних продуктів, утворюються метан і діоксид вуглецю, при водневому – водень і діоксид вуглецю.

Аеробне бродіння клітковини обумовлюють представники родів *Citophaga*, *Cellvibrio*, *Cellfascicula*.

Citophaga – довгі з загостреними кінцями аспорогенні палички – перитрихи, *Cellvibrio* – вигнуті палички з полярно розташованим джгутиком, *Cellfascicula* – короткі нерухливі палички.

Крім бактерій, бродіння клітковини в аеробних умовах викликають актиномети та гриби родів *Penicillium*, *Aspergillus*, *Stachibotris* та ін.

Процес бродіння клітковини має велике значення для травлення трав'янистих особливо жуйних тварин, у яких бактерії, розкладаючи клітковину в передшлунках, сприяють кращому засвоєнню кормів. Нерідко утворені при цьому водень і метан викликають у великої рогатої худоби так званий метеоризм (гостре здуття рубця), у інших

тварин подібне явище спостерігається при згодовуванні зеленої маси (наприклад, конюшини), яка легко зброджується.

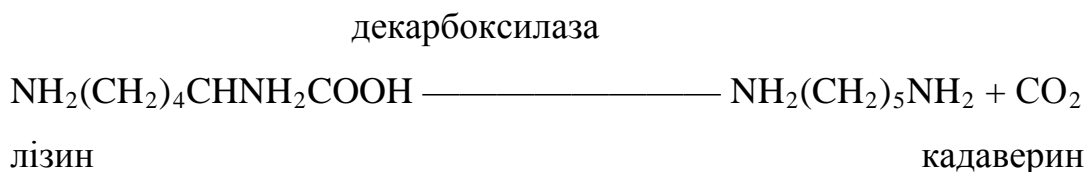
Бродіння клітковини в ґрунті сприяє утворенню перегною (гумусу), що має велике значення для підвищення його родючості. Анаеробне розщеплення целюлози з виділенням великої кількості болотних газів спостерігається в болотах, ставах, закритих водоймах, у яких бацили – збудники бродіння мулу – беруть участь у процесі біологічного очищення нечистот.

4. Процеси гниття.

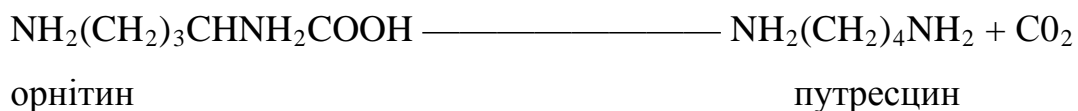
Гниття починається з розкладу білків до амінокислот. Ця початкова стадія іде під впливом протеолітичних ферментів, які виділяють гнилоствні бактерії у навколишнє середовище.

Далі амінокислоти мінералізуються до вуглекислого газу, аміаку, води, сірководню, водню.

У процесі мінералізації амінокислот утворюються проміжні речовини – різні азотні та безазотні органічні сполуки (органічні кислоти, спирти, аміни та ін.). Із діаміномонокарбонових кислот, в результаті розщеплення вуглекислого газу, утворюються діаміни, які мають токсичні властивості. Так, із лізину, в результаті декарбоксилювання, утворюється кадаверин, а із орнітину – путресцин:



декарбоксилаза



Кадаверин, путресцин та інші подібні органічні основи, що утворюються в процесі гниття, об'єднані загальною назвою - птомаїни (трупні яди). Особливо багато птомаїнів накопичується, коли гниття проходить в анаеробних умовах. У процесі розпаду ароматичних

амінокислот утворюється фенол, крезол, скатол та індол, яким теж притаманні токсичні властивості і дуже неприємний запах. Багато продуктів гниття (як проміжних, так і кінцевих) мають неприємний запах. Тому, в побуті гниття завжди пов'язують із появою неприємного запаху.

Збудники гниття. В групу гнильних входить значна кількість різних видів бактерій. Вони широко розповсюджені в природі, завжди знаходяться в повітрі і в ґрунті, де є різні залишки рослинних і тваринних організмів. Серед гнильних бактерій бувають спороутворюючі і неспороутворюючі, рухомі і нерухомі, аеробні й анаеробні (більшість аероби), але всі гнильні бактерії мають паличкоподібну форму і майже всі рухомі.

Найчастіше зустрічаються такі види гнильних бактерій:

Протеї (*Bact. proteus vulgare*) – аеробна, неспороутворююча, маленька, дуже рухлива паличка. Це найбільш поширена причина псування м'яса, риби та інших білкових продуктів. Деякі види протею належать до факультативних анаеробів і можуть виділяти токсичні для людини речовини.

Картопляна паличка (*Bac. mesentericus*) – це аеробна, рухлива, спороутворююча паличка, яка накопичує багато сірководню. Вона спричиняє гниття м'яса, риби, а також так

звану "тягучу хворобу" хліба. М'якуш хліба при цьому перетворюється в густу слизисту масу, що витягується в нитки.

Сінна паличка (Bac. subtilis) – спороутворююча, аеробна, рухома паличка, яка є причиною псування різних білкових субстратів. Постійно зустрічається в сні, звідкіля і отримала свою назву. Треба мати на увазі, що згідно з Міжнародним кодексом номенклатури бактерій сінна і картопляна палички розглядаються як синоніми

одного виду *Bac. subtilis*. Поряд із розкладом білків ці бактерії здатні розкладати пектинові речовини та інші полісахариди рослинних тканин, ферментувати вуглеводи.

Bac. mycoides - аеробна, рухома, спороутворююча паличка, одна з найбільш поширених збудників гниття різних білкових залишків у ґрунті.

Bac. Pseudomonas — аеробні, рухливі, неспороутворюючі палички. Холодостійкі (мінімальна температура росту - 5°C). Поряд із протеолітичною активністю їм притаманна ліполітична активність.

Із анаеробних гнильних бактерій найчастіше зустрічаються *Bac. putrificus* і *Bac. sporogenes*. Це спороутворюючі палички, які можуть бути причиною псування баночних консервів (якщо в процесі виробництва порушено режим їх стерилізації). Інтенсивне виділення газів (сірководню, аміаку, водню, вуглекислого газу) призводить до здуття - бомбажу банок.

У зв'язку з розповсюдженням гнильних бактерій, багаті білковими речовинами продовольчі товари і страви дуже швидко можуть піддаватись гнильному псуванню, якщо вони зберігаються в умовах, що не захищають їх від розвитку мікроорганізмів. Отже, у виробництві харчових продуктів та

при їх зберіганні гнильні мікроорганізми є шкідниками, що призводить до псування цих товарів.

Але в природі гнильні мікроорганізми мають велике позитивне значення. Вони є невидимими помічниками людини в сільському господарстві. Розкладаючи органічні залишки тваринного й рослинного світу (різні білкові речовини) в ґрунті, гнильні бактерії збагачують ґрунт мінеральним азотом, а повітря вуглекислим газом, і готують поживу для рослин.

ВЧЕННЯ ПРО ІНФЕКЦІЮ ТА ІМУНІТЕТ

- 1. Загальні відомості про інфекцію та інфекційний процес**
- 2. Способи передачі збудників, форми і ознаки перебігу інфекційних хвороб**
- 3. Імунітет тваринного організму**
- 4. Імунопрофілактика та імунотерапія інфекційних хвороб**

Рекомендована література

1. Бортинічук В.А., Скибіцький В.Г., Ібатуллїна Ф.Ж. Ветеринарна мікробіологія (практикум). Вінниця, «Нова книга», 2007. 239 с.
2. Демченко А.В., Бортнічук В.А., Скибіцький В.Г., Апатенко В.М. Ветеринарна мікробіологія та імунологія. К.: «Урожай», 1996. 368 с.
3. Скибіцький В.Г., Власенко В.В. Власенко І.Г., Мельник М.В., Ібатуллїна Ф.Ж., Соломон А.М., Козловська Г.В. Мікробіологія молока та молочних продуктів. Вінниця, «Едельвейс і К», 2008. 412 с.
4. Скибіцький В.Г., Власенко В.В., Козловська Г.В., Ібатуллїна Ф.Ж., Ташута С.Г., Мельник М.В. Ветеринарна мікробіологія. К.: ТОВ «Дорадо-Друк», 2012. 367 с.
5. Фаріонік Т.В., Бондар М.М. Методичні вказівки з дисципліни «Загальна мікробіологія та мікологія» до лабораторних занять для студентів освітнього ступеня «Бакалавр» денної форми навчання за спеціальністю 212 «Ветеринарна гігієна, санітарія і експертиза» Вінниця: ОЦ ВНАУ, 2018. 50с
6. Фаріонік Т.В., Бондар М.М. Методичні вказівки з дисципліни «Мікробіологія» до виконання лабораторних робіт для студентів освітнього ступеня «Бакалавр» денної форми навчання за спеціальністю 204 – «Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва» Вінниця: ОЦ ВНАУ, 2018. 49с.
7. Яблонський В.А., Яблонська О.В. Методологія і методи наукових досліджень у тваринництві та ветеринарній медицині: Навчальний посібник. Київ: 2014. 512 с.

Інфекційні хвороби відомі людству з найдавніших часів. У стародавніх письменах згадується про поширення віспи, туберкульозу, прокази, сказу. Нині нараховуються сотні інфекційних хвороб людини і тварин, які спричиняються бактеріями, рикетсіями, вірусами, грибами, найпростішими. За даними ВООЗ, наймасовішими у людини є інфекції, які супроводжуються діареєю, - 4 млрд

випадків щорічно, респіраторно них шляхів – 395 млн, венеричні захворювання - 330 млн та ін., за даними МЕБ надзвичайно розповсюдженими серед тварин є інфекції які характеризуються ураженням органів дихання і травлення, а також сказ, лейкоз великої рогатої худоби, герпесвірусні інфекції, коронавірусні, параміксовірусні та ортоміксовірусні інфекції. Немало захворювань мають одного і того ж збудника. Це так звані антропозоонози. При вивченні інфекційних хвороб користуються термінами "інфекція", "інфекційний процес", "інфекційна хвороба", які походять від латинського слова "infectio" - зараження.

Інфекція - всі види взаємодії макро- і мікроорганізмів у певних умовах зовнішнього та соціального середовищ, незалежно від того, розвивається явна або прихована хвороба, чи тільки мікробоносійство. Аналогічний процес, викликаний найпростішими, називається *інвазією*.

Інфекційний процес - сукупність усіх захисних і патологічних реакцій організму, які виникають у відповідь на проникнення і дію збудника.

Інфекційна хвороба - крайній ступінь розвитку інфекційного процесу, що проявляється певними клінічними, патолого-анатомічними, біохімічними, мікробіологічними й імунологічними ознаками.

Отже, поняття "інфекція" ширше, ніж поняття "інфекційний процес" та "інфекційна хвороба".

Виникнення і розвиток інфекційного процесу (хвороби) залежать від трьох факторів: ступеня патогенності мікроорганізму, імунологічної реактивності макроорганізму й умов зовнішнього і соціального середовищ.

Роль мікро - і макроорганізмів у виникненні й розвитку інфекційного процесу

Серед величезної маси мікроорганізмів, які населяють нашу планету, порівняно невелика кількість може спричиняти інфекційний процес. Вони називаються патогенними або хвороботворними. Решта (переважна більшість) належать до вільноіснуючих мікробів, або сапрофітів, які неспроможні викликати захворювання.

Патогенність - це потенціальна здатність даного виду мікроорганізму викликати інфекційний процес. Ця властивість є видовою рисою, яка сформувалась у процесі тривалого еволюційного розвитку. Патогенність є специфічною ознакою, тобто даний збудник викликає тільки певне, властиве лише йому захворювання. Наприклад,

збудник туберкульозу спричиняє туберкульоз, бруцельозу - бруцельоз, що їх генетичними особливостями .

Хвороботворна активність мікробів (патогенність) неабсолютна і нестабільна. Вона може значно коливатись навіть у різних штамів одного й того ж виду. Ступінь

або міру патогенності називають *вірулентністю*. Отже, *вірулентність* - це якісна, індивідуальна ознака даного штаму.

Вірулентність бактерій може бути посилена, послаблена і навіть зовсім втрачена. При цьому інші їх властивості не змінюються. Посилення вірулентності досягають пасажами культури через організм чутливих тварин, різними генетичними методами. Послаблення – шляхом багаторазових пересівів культури на несприятливих середовищах, дією підвищеної температури, бактеріофагів, хімічних речовин, імунних сироваток тощо. Такий підхід часто використовують при виготовленні живих вакцин та інших бактерійних препаратів.

Для характеристики патогенних мікроорганізмів встановлені одиниці вірулентності. Одна з них - DLM (Dosis letalis minima) - мінімальна смертельна доза. Це та найменша кількість мікробів або їх токсинів, яка при зараженні викликає загибель 90-95 % чутливих тварин. Друга одиниця - DCL (Dosis certa letalis) - найменша доза, яка викликає смерть 100% взятих у дослід тварин. Найбільш об'єктивною, точною і прийнятою в лабораторних дослідженнях є **LD₅₀** (Dosis letalis₅₀) - доза, що вбиває половину заражених тварин.

Вірулентні властивості патогенних мікроорганізмів визначаються такими факторами: токсиноутворення, адгезивність, інвазивність, наявність капсул, агресинів, полісахаридів, певних антигенів та ін.

Нині немає сумнівів у тому, що патогенні (вірулентні, токсигенні) ознаки мікроорганізмів знаходяться під контролем групи генів або окремих генів, розміщених у бактеріальних хромосомах чи плазмідах.

Мікробні токсини - отруйні речовини, які утворюються деякими бактеріями в процесі своєї життєдіяльності. Їх поділяють на екзо- й ендотоксини. Екзотоксини - такі отрути, які виділяються бактеріями назовні в навколишнє середовище (в бульйон, наприклад). Ендотоксини не продукуються клітиною назовні, а міцно зв'язані з її цитоплазмою й оболонкою, і отримати їх можна лише при руйнуванні клітин.

Сильні екзотоксини виділяються збудниками правця, ботулізму, газової анаеробної інфекції, сальмонелами, стафіло- і стрептококами. Ендотоксини властиві збудникам кишкових інфекцій, але вони є в інших видів бактерій.

Екзотоксини мають білкову природу, високотоксичні, термола-більні, вибірково ушкоджують деякі тканини й органи, при дії формаліну і температури 38-40 °C переходять в анатоксини. Нині відомо понад 60 білкових екзотоксинів, які поділені на три класи. Клас А - екзотоксини, які виділяються в навколишнє середовище - гемолізини, гістотоксини, летальні токсини, холероген та ін. Клас В - екзотоксини, що лише частково секретуються і частково зв'язані з бактеріями - тетаноспазмін збудника правця, нейротоксин збудника ботулізму тощо. Клас С - екзотоксини, зв'язані з мікробними клітинами - ентеротоксин шигел, токсини

палички чуми. Ендотоксини мають глюцидну природу, термостабільні, менш токсичні, спричиняють загальну дію, при обробці формаліном і температурою знешкоджуються лише частково.

Силу дії мікробних токсинів визначають на чутливих лабораторних тваринах певних маси і віку за допомогою тих же одиниць, що й вірулентність - DLM, DCL і LD₅₀. Наприклад, за 1 DLM дифтерійного токсину приймають найменшу кількість його, яка при підшкірному введенні гвінейській свинці масою 250 г викликає її загибель на 4-у добу. Ця доза часто дорівнює 0,002 мл. Правцевий токсин ще сильніший, а DLM нативного токсину ботулізму для гвінейської свинки складає 0,00001-0,000001 мл. Сильнішої біологічної отрути в природі не існує. Багато токсинів сьогодні одержано в очищеному вигляді (кристалічні). Вони діють ще сильніше.

За механізмом дії бактерійні токсини розглядають як отрути ферментів. У невеликих дозах вони здатні зупинити або загальмувати певні ланки обміну речовин. Якщо ці процеси є життєво важливими, то при їх блокуванні токсинами настає смерть.

Відоме явище потенціювання (взаємного підсилення) бактерійних отрут, коли токсин одного збудника значно посилює токсичну дію іншого. Це має особливе значення при анаеробній газовій інфекції, коли в організм хворого проникає не один, а декілька збудників.

До факторів вірулентності належить також *адгезивність*. Адгезини - особливі молекули мікроорганізмів, завдяки яким вони фіксуються на поверхні клітин хазяїна. У різних видів бактерій адгезини мають неоднакову хімічну будову, наприклад, білки, ліпотьєхоєві кислоти, полісахариди тощо. В одних вони входять до складу війок, в інших - фімбрій або фібрил. Сам процес адгезії – досить складна фізико-хімічна реакція. Адгезини специфічно

зв'язуються із спорідненими рецепторами чутливих клітин організму, сприяючи патогенній дії мікробів.

Інвазивність. Це датність збудника проникати у тканини організму. У шкіру людини патогенні мікроорганізми майже не проникають. Це зумовлено вмістом гіалуронової кислоти, яка має велику в'язкість і не пропускає бактерій. У процесі еволюції деякі з них (стафіло- і стрептококи, збудники дифтерії, чуми, анаеробної газової інфекції) стали виділяти особливі речовини, які підвищують проникність тканин. Виявилось, що вони є ферментами гіалуронідазою, фібриназою та ін., які розщеплюють гіалуронову кислоту, згустки фібрину і тим самим сприяють більш інтенсивному проникненню і поширенню збудника в тканинах організму.

Утворення капсул. Окремі види вірулентних бактерій, проникаючи в макроорганізм, утворюють капсули. Безкапсульні варіанти тих самих видів не вірулентні. Капсули виявлені у збудників сибірки, пневмонії, анаеробної газової

інфекції. В окремої групи бактерій капсула утворюється і в організмі, і на живильних середовищах. Вона є захисним пристосуванням проти дії антитіл і фагоцитозу. Експериментально доведено, що при введенні гвінейській свинці суміші капсульних і безкапсульних сибіркових бацил можна спостерігати, що позбавлені капсул палички, легко поглинаються фагоцитами, тоді як капсульні варіанти не фагоцитуються, продовжують розмножуватись і призводять тварину до загибелі. Отже, капсула є одним із факторів вірулентності. Більш висока вірулентність капсульних мікробів зумовлена токсичними речовинами, що знаходяться в самій капсулі.

Агресини. Хвороботворні мікроби (збудник сибірки, стрепто- і стафілококи, холерний вібріон) при проникненні в макроорганізм

здатні утворювати запальні екsudати, в яких є виділені ними особливі субстанції. О. Байль назвав їх агресинами. Самі по собі вони не мають шкідливої дії, але при додаванні до не смертельних доз відповідних культур бактерій спричиняли смертельний перебіг захворювання в лабораторних тварин. Агресини пригнічують фагоцитоз лейкоцитів і тим сприяють підвищенню вірулентності мікроорганізмів. Подібно агресинам можуть діяти полісахариди, екстраговані з клітин стрептококів.

Численними дослідженнями встановлено, що факторами агресії патогенних бактерій можуть бути мікробні ферменти ДНК-аза, коагулаза, колагеназа, желатиназа, лецитиназа, лейкоцидин, які сприяють проникненню мікроорганізмів і допомагають їм протистояти захисним реакціям організму.

Велике значення для забезпечення вірулентності окремих видів бактерій мають О- і Vi-антигени тифозних бактерій, М-антиген стрептококів, ліпідний фактор туберкульозних паличок.

Отже, в патогенних мікроорганізмах досить великий набір факторів вірулентності, за допомогою яких вони можуть протистояти захисним силам організму й викликати хвороботворні процеси.

Макроорганізм є надзвичайно важливою рушійною силою інфекційного процесу. Для боротьби з патогенними бактеріями організм людини мобілізує весь комплекс спадкових і набутих механізмів та пристосувань, які перешкоджають проникненню й пристосуванню бактерій у тканинах і органах. Виникнення інфекції, особливості клінічних проявів і перебігу інфекційного процесу значною мірою залежать від загальної фізіологічної реактивності макроорганізму, від його здатності вступати у взаємодію і протистояти збудникам. Встановлено, якщо навіть вірулентні мікроби

і проникають в організм, інфекційний процес розвивається далеко не завжди.

Хвороботворна дія багатьох збудників, як правило, обмежена тільки певними

видами тварин, тому мікроб, патогенний для одного виду, може виявитись зовсім нешкідливим для іншого. Так, людина дуже чутлива до збудників дифтерії, гонореї, сифілісу, тоді як у жодної тварини не виникає таких хвороб. Є й такі захворювання, які уражають тварин, але серед людей не зустрічаються (інфекційна анемія коней, агалактія овець та ін.)

На сприйнятливність до інфекційних хвороб певний вплив мають вік, стать, фізіологічні стани організму. . Стосовно ролі віку добре відомо, що діти до шести місяців взагалі не так часто хворіють на інфекційні хвороби, як дорослі, тому що мають досить сильний материнський імунітет. Діти старшого віку до деяких інфекційних хвороб більш сприйнятливі, ніж дорослі. Існують дитячі інфекції: кір, скарлатина, дифтерія, коклюш та ін. постерігається і у тварин. Існують хвороби молодняку –колібактеріоз, вірусні псевдоентерити та ін., які у дорослих тварин практично не діагностуються.

Порушення харчування людини чи годівлі тварин , нестача окремих складових частин їжі (білків, жирів, вуглеводів) знижує стійкість організму, пригнічує фагоцитоз, синтез факторів імунітету. Це призводить до зниження бар'єрних функцій шкіри, слизових оболонок, захисних функцій крові. При цьому можуть виникати захворювання, обумовлені умовно-патогенною мікрофлорою.

Більш висока сприйнятливність організму до інфекційних хвороб значною мірою залежить від гіповітамінозу. Так, нестача вітаміну А зумовлює підвищену чутливість до збудників гострих респіраторних захворювань. Недостатня кількість вітаміну С знижує резистентність

організму до стафіло- і стрептококів, збудників дифтерії і туберкульозу. Має значення і нестача інших вітамінів.

Дефіцит мікроелементів супроводжується порушенням обміну речовин, що також пригнічує опірність організму до інфекційних хвороб.

Важливим і сильним фактором природної резистентності організму до багатьох вірусів є інтерферон, який продукують уражені ними клітини. Значну роль у подоланні здатності мікроорганізмів проникати через слизові оболонки відіграють імуноглобуліни, особливо секреторний імуноглобулін А, який насичує слиз, слину, кишковий сік. Отже, щоб відбулося зараження, недостатньо високовірулентного збудника, потрібно, щоб і макроорганізм був чутливим до нього.

2. Способи передачі збудників, форми і ознаки перебігу інфекційних хвороб

Збудники інфекційних хвороб можуть проникати в організм людини і тварин різними шляхами: через органи дихання, шлунково- кишковий тракт, шкіру і слизові

оболонки.

Шкіра має велику поверхню, що зумовлює частий її контакт із мікробами. Але для переважної більшості їх вона є непроникним бар'єром. Через неушкоджену шкіру можуть потрапляти тільки деякі віруси, збудник бруцельозу. При її пошкодженні відкривається шлях для проникнення стафіло- і стрептококів, синьогнійної палички, протей, збудників газової гангрені і правця.

Слизові оболонки верхніх дихальних шляхів, очей і статевих органів досить часто стають місцем проникнення багатьох бактерій і вірусів. Хоч вони і мають різноманітні механізми захисту (війчастий

епітелій, лізоцим, інтерферон, імуноглобуліни), саме цим шляхом в організм потрапляють збудники респіраторних вірусних хвороб, збудник туберкульозу і ін.

Шлунок (сичуг) є досить сильним бар'єром на шляху проникнення патогенних мікроорганізмів у кишковий тракт. Його кислий вміст згубно діє на більшість збудників. Однак при розладах секреції цього органа, при наповненні його великою кількістю рідини мікроби можуть потрапити в кишечник.

Узагальнюючи сучасні дані в інфекційній патології, можна стверджувати, що всі випадки зараження людей і тварин зводяться до сприйняття збудників однією з чотирьох систем тканин і органів: кровоносною, шлунково-кишковим трактом, системою органів дихання і зовнішніми покривами. Відповідно до цього, акад. Л.В. Громашевський сформулював чотири основні механізми передачі інфекційних хвороб: *фекально-оральний* (аліментарний), *повітряно-краплинний* (аерогенний), *трансмисивний* (через кровососних комах), *контактний* (передача через цілі або ушкоджені зовнішні покриви).

Перший механізм передачі здійснюється таким чином. Збудники кишкових інфекцій виділяються від хворих, назовні з фекаліями і сечею. Захворювання здорових людей чи тварин може настати лише тоді, коли збудники потрапляють у кишечник. А проникнути туди вони можуть тільки через рот.

Другий механізм має місце при захворюваннях органів дихання. Коли хворі чхають чи кашляють, то разом із краплинами слизу і слини вони виділяють у повітря велику кількість мікробів. Якщо в оточенні хворих знаходяться здорові люди чи тварини, то разом із вдихуванням повітрям до них можуть легко потрапити аерозолі зі збудниками і викликати захворювання.

Для трансмісивного механізму характерною є наявність збудників у крові, звідки вони самі не можуть потрапити у зовнішнє середовище, а отже, і в організм здорових людей чи тварин. Зумовлюють таку передачу кровососні комахи, кліщі. Кусаючи хворих і насмоктуючи їх кров, вони разом із нею втягують і збудників, а потім, кусаючи здорових людей чи тварин, заражають їх.

Четвертий механізм здійснюється шляхом безпосереднього контакту або через

різні предмети, контаміновані збудниками. У цій групі існують найрізноманітніші захворювання. Деякі з них, наприклад, сказ, СНІД, передаються при прямому контакті з хворою людиною або твариною. Але значно більше таких, які можуть бути передані опосередковано через забруднені предмети, транспорт, інвентар тощо.

В разі, коли мікроізми після проникнення в організм локалізуються в певній тканині або органі, інфекція називається місцевою (вогнищевою). Якщо ж збудник проникає в кров і поширюється по всьому організму, інфекція називається загальною. Розрізняють декілька форм загальної інфекції.

1. *Бактеріємія* – перебування бактерій у крові. Мікроби розмножуються в певних вогнищах і тільки періодично потрапляють у кров, але не розмножуються в ній (наприклад, при черевному тифі, бруцельозі). При вірусних захворюваннях такий стан називається *вірусемією*.

2. *Септицемія* (сепсис) - збудник постійно, протягом тривалого часу знаходиться в крові й розмножується в ній, що супроводжується запаленням, руйнуванням клітин у певних органах (при чумі, сибірці, гнійних інфекціях та ін.).

3. *Септикопіємія* - септичний процес, при якому в різних органах і тканинах утворюються гнійні вогнища.

4. *Токсинемія* - перебування токсинів у крові. Збудник може знаходитись у будь-якому вогнищі, продукує екзотоксин, який проникає в кров і зумовлює певні клінічні симптоми хвороби (наприклад, при дифтерії, правці, ботулізмі, газовій гангрені). Якщо захворювання викликане одним збудником, вживають термін *моноінфекція*, якщо двома і більше - *змішана або поліінфекція*. Часом після припинення симптомів, властивих для даної хвороби, настає їх повторення. Це називають *рецидивом* (при малярії, поворотному тифі та ін.). Нове зараження при цьому не виникає. Повторення симптомів викликається тими збудниками, які ще залишилися в організмі.

Розрізняють ще такі поняття, як *реінфекція* і *суперінфекція*. Реінфекція - повторне зараження тим самим збудником після повного видужання. Суперінфекція - повторне зараження тим же збудником ще до ліквідації первинної інфекції. Необхідно ще окремо виділити поняття *вторинна інфекція* - коли до першої, основної інфекції, що вже розвинулася, приєднується нова, викликана іншим збудником. Наприклад, до грипу приєднується стафілококова пневмонія.

Залежно від тривалості перебігу, інфекції поділяють на гострі й хронічні. При гострих інфекціях (грип, бешіха свиней) захворювання починається раптово і триває недовго, до 3-х місяців. Якщо розвивається хронічна інфекція (туберкульоз, бруцельоз, лейкоз великої рогатої худоби та ін.), збудник перебуває в організмі тривалий час, захворювання тягнеться довго, з рецидивами, загостреннями патологічного процесу.

Існує ще особлива форма взаємодії мікро- і макроорганізму -

бактеріоносійство (вірусоносійство). Сучасна наука розглядає його як

інфекційний процес, що перебігає безсимптомно в гострій (до трьох місяців) або хронічній (роками і десятиліттями) формах. Це трапляється при низькому рівні імунітету, що зумовлює збереження збудника в організмі. Важливе значення має носійство вірусів. Наприклад, після першого проникнення в організм людини віруси герпесу можуть потім зберігатися протягом усього життя.

За способом зараження інфекційні хвороби поділяються на *екзогенні* й *ендогенні*. При екзогенних (тиф, дифтерія, поліомієліт, гонорея, сифіліс у людини, класична чума свиней, паратиф у тварин) збудник проникає в організм ззовні - від хворих або носіїв. При ендогенних (автоінфекціях), таких, як ангіна, отит, назофарингіт, апендицит, кон'юнктивіт у людини, колібактеріоз, кандидоз у людини і тварин, захворювання виникає в результаті активізації мікрофлори шкіри, слизових оболонок, кишечника, при зниженні резистентності макроорганізму. Залежно від розповсюдження, інфекційні хвороби можуть бути *спорадичними* (окремі випадки) й *епідемічними, епізоотичними* (масовими). Коли епідемія досягає особливо великих розмірів, її називають пандемією (панзоотією) наприклад, глобальні епідемії грипу.

Основними джерелами інфекції в природі є хвора людина (або тварина) і бактеріоносії. Контаміновані мікробами (вірусами) (земля, вода, повітря, харчові продукти, предмети побутового і виробничого оточення) є лише факторами передачі. Якщо джерелом інфекції є хвора людина або людина-носій, такі хвороби називають *антропонозними*. Вони властиві тільки людині (дифтерія, коклюш, кір, гонорея, сифіліс). Захворювань, які поширені серед тварин називають *зоонозами*. До останніх можуть бути сприйнятливими і люди (сибірка, туберкульоз, бруцельоз, чума, туляремія, сказ та ін.).

Розрізняють п'ять періодів розвитку інфекційної хвороби: *інкубаційний (прихований), продромальний (період провісників хвороби), основних проявів (розпал хвороби), згасання клінічних симптомів і видужання (реконвалесценції)*. Інкубаційний період триває з моменту проникнення збудника до появи клінічних проявів хвороби. Він буває неоднаковим при різних захворюваннях: всього кілька годин при грипі, холері, ботулізмі, кілька місяців при правцю, сказі, гепатиті В і навіть років при лепрі, лейшманіозі, СНІДу. Але для певної хвороби він стабільний у часі (з невеликими відхиленнями). У продромальному періоді з'являються перші, ще не характерні для даної хвороби симптоми: слабкість, нездужання, головний біль, втрата апетиту, незначне підвищення температури. Так починається багато хвороб. Але при деяких із них навіть у цей період виникають характерні клінічні ознаки: червоні плями Копліка-Філатова на слизовій рота при кіру у, характерний висип на обличчі й кінцівках при віспі у людини. Тривалість продромального періоду - 1-3 дні. При деяких захворюваннях його може й не бути.

Період основних проявів хвороби - це час найвищого розпалу захворювання. Симптоми продромального періоду, поступово або швидко наростаючи, переходять у характерну, типову для даної хвороби, клінічну картину. В цей період в організмі хворих найбільша кількість збудника, його токсинів, що зумовлює ряд патолого-анатомічних змін в організмі і тканинах та загальну інтоксикацію. При багатьох хворобах може бути характерна температурна реакція та інші ознаки. Тривалість цього періоду при різних захворюваннях може бути неоднаковою: дні при грипі, кіру; тижні при черевному тифі, сибірці, вірусному гепатиті; місяці при бруцельозі.

Період згасання клінічних проявів характеризується поступовим або швидким згасанням інтенсивності патологічних процесів.

Період видужання (реконвалесценції) в одних випадках закінчується кризою: швидким зниженням температури, інтенсивним виділенням поту й іншими проявами; в інших - лізисом (повільним зниженням температури, поступовим послабленням проявів хвороби). Інколи повне видужання відразу не настає, і хвороба може перейти у хронічну форму.

Клінічне видужання не завжди супроводжується повним звільненням організму від збудників. Часом вони продовжують виділятися кілька тижнів, місяців і навіть років. Таке явище називається *бактеріоносійством* (*вірусоносійством*). Воно може сформуватися після перенесення черевного тифу, дизентерії, холери у людини, хламідіозу, мікоплазмозу і ін у тварин. При інтенсивному лікуванні може зникнути, а інколи залишається надовго, часом - на все життя. Такі бактеріоносії (вірусоносії) стають небезпечним джерелом розповсюдження інфекцій.

Інфекційна хвороба має ознаки, відмінні від захворювань іншої природи.

1. Інфекційна хвороба має свого специфічного збудника.
2. Хворі люди чи тварини є заразними, здатними розповсюджувати збудника хвороби.
3. Після перенесення інфекційної хвороби в організмі перехворілих формується несприйнятливність (імунітет) до повторного захворювання, викликаного тим же збудником.
4. Для інфекційної хвороби характерна циклічність перебігу з чіткою зміною періодів захворювання (інкубаційний, продромальний, розпал хвороби, згасання клінічних проявів, реконвалесценція).
5. Як правило, такі захворювання супроводжуються гарячкою, часом характерною температурною реакцією організму.

Крім вказаних вище, частою ознакою інфекційних хвороб є запальний процес, який виникає на місці проникнення або локалізації збудника, явища загальної інтоксикації організму, характерним висипом на шкірі, особливими змінами картини

крові.

Розвиток інфекції, перебіг захворювання і його наслідки багато в чому визначаються умовами зовнішнього і соціального середовищ. Цей третій фактор інфекційного процесу впливає як на мікроби, так і на реактивність організму. На збудники навколишнє середовище має переважно негативний вплив. Численні фактори зовнішнього середовища мають великий вплив і на сприйнятливість організму до зорувань. Одним із головних факторів є температура, дію якої вивчав ще Л. Пастер у дослідках зараження курей сибірковими бацилами. У звичайних природних умовах кури не чутливі до цих бактерій, тому що мають видовий імунітет. Скільки Пастер не заражав їх, які б великі дози не вводив - птахи не хворіли. А досить було опустити їх лапи в холодну, крижану воду і потримати в ній півгодини, як звичайна доза збудника викликала захворювання. Низька температура знизилася нормальну опірність організму і курка легко піддалася зараженню. На опірність організму людини до патогенних бактерій також негативно впливають переохолодження і перегрівання, особливо при високій вологості. Загальновідоме значення простуди при виникненні захворювань верхніх дихальних шляхів. Перегрівання також знижує реактивність організму. Але стійкість людей чи тварин до дії цих факторів можна значно підвищити шляхом систематичного тренування, загартовування людини та відповідного утримання тварин.

Надмірне опромінення сонячними променями й іонізуюча радіація значною мірою пригнічують нормальну опірність організму. При цьому

знижуються захисні функції крові, збільшується проникність слизових оболонок, падає імунологічна реактивність. Це може призвести до активації нормальної мікрофлори людини і як результат - виникнення автоінфекції. Вчені допускають, що існує прямий зв'язок між сонячною активністю, електромагнітними збуреннями і сприйнятливістю до інфекційних хвороб. Особливу небезпеку для людей має іонізуюче випромінювання після ядерних вибухів і радіоактивних катастроф, подібних до аварій на Чорнобильській АЕС. У землю, воду, повітря на значній території потрапляє велика кількість радіоактивних речовин. Згодом вони проникають у рослини, їх поїдають тварини - виникає радіоактивність м'яса, молока, м'ясних і молочних продуктів. При їх споживанні людиною радіоактивні речовини накопичуються в тканинах, кістках, що призводить до пригнічення резистентності організму.

3 Види імунітету

Людина і тварини живуть в складному довкіллі, де існують мільярди бактерій, вірусів, грибів, найпростіших. Час від часу вони проникають в їх внутрішнє середовище.

Але в переважній більшості згадані фактори суттєвої шкоди людині і тваринам не завдають. Це зумовлено тим, що існує й активно функціонує захисна система організму - **система імунітету**. Спочатку термін "імунітет" означав, що організм не чутливий до інфекційних агентів або захищений від них (*immunitas* - звільнений від податків). Численні спостереження показали, що особи, які переохворіли на інфекційну хворобу, захищені від повторного зараження тим же збудником. Так виникло поняття набутого імунітету (несприйнятливості), який є специфічним і тривалим. Нині ж *під імунітетом розуміють*

комплекс морфолого-функціональних компонентів, що забезпечують гомеостаз організму. тобто не лише проти патогенів інфекційної чи інвазійної природи, а й проти любых інших факторів, які характеризуються ознаками чужерідної генетичної інформації.

Імунна система виконує гомеостатичну функцію імунного нагляду. Вона підтримує постійність внутрішнього середовища та оберігає його, зокрема, від виникнення захворювань. Від стану імунної системи, як правило, залежить відповідь організму на проникнення хвороботворних агентів. Доказами цього є загальновідомі факти: у дітей, які мають вроджені вади імунної системи, значно частіше виникають пухлини, і вони в більшості випадків гинуть від захворювань, викликаних різноманітними мікроорганізмами.

При надзвичайно небезпечній хворобі сучасності - СНІДі - глибоко уражається імунна система, завдяки чому нешкідлива в звичайних умовах мікрофлора організму може стати однією з причин загибелі людини. Таким чином, імунна система забезпечує одну з важливих адаптаційних функцій організму і спрямована на контроль і збереження його генетичної недоторканості.

. Основною функцією системи імунітету є систематичне розпізнавання всього чужорідного, що проникає в організм (бактерії, гриби, віруси, найпростіші), власних змінених клітин, підтримання гомеостазу, нейтралізація, видалення та знищення чужорідних агентів.

На кожен чужерідний сполук, що потрапляє в організм, останній специфічно реагує,

виробляючи молекули й клітини, які вступають з нею у взаємодію за для подальшого видалення.

Імунітет протягом життя можна набути природним шляхом або за рахунок щеплень (штучно). Якщо несприйнятливість виробилась після перенесення певної хвороби, говорять про набутий *природний активний імунітет*. *Природний пасивний імунітет* виникає у новонароджених за рахунок антитіл, які вони одержують від матері. Як правило, після хвороби організм звільняється від мікроорганізмів, а імунітет продовжує тривати певний період часу. У зв'язку з тим, що

несприйнятливість існує при відсутності збудника в організмі, такий імунітет називають *стерильним*. Він має місце при більшості інфекційних захворювань. Якщо імунітет пов'язаний з перебуванням збудника в організмі, говорять про *нестерильний імунітет* (при туберкульозі, бруцельозі). Імунітет, що виникає після щеплень, теж поділяється на *активний і пасивний*. *Штучний активний імунітет* виробляється при щепленні вакцинами (ослабленими або вбитими мікробами, вірусами або їх хімічними компонентами). *Штучний пасивний імунітет* триває за рахунок введення готових антитіл (антимікробних, антивірусних, антитоксичних).

У той же час існує вроджена несприйнятливість, яка зумовлена різноманітними генетично детермінованими факторами, до яких можна віднести відсутність в організмі сприятливих умов для розвитку збудника, а також рецепторів, ферментних систем, з якими може взаємодіяти мікроорганізм. Такий вид несприйнятливості називають *видовим імунітетом*.

Залежно від того, проти якого агента розвивається опірність організму, розрізняють такі форми імунітету: *протитоксичний, протибактеріальний, противірусний, протигрибковий, протипаразитарний, протипухлинний, трансплантаційний*

4.Імунопрофілактика та імунотерапія інфекційних хвороб

Ще в сиву давнину люди помітили, що мало хто повторно хворіє на чуму. Осіб, які перенесли цю хворобу й стали імунними, залучали до спеціальних загонів для поховання померлих під час епідемії, а також доглядати хворих. Відтоді, напевне, і виникла ідея цілеспрямовано заражати здорових від хворих з легким перебігом захворювання. Ще декілька століть тому в китайських і арабських письменах згадувалось про навмисні зараження здорових людей гноем із віспяних пухирців. Таке зараження зумовлювало розвиток легкої хвороби, але створювало несприйнятливість до наступного зараження. Великого успіху в боротьбі проти віспи досяг англійський сільський лікар Е. Дженнер. Він помітив, що доярки, які перенесли коров'ячу віспу, ніколи не хворіли на людську віспу. За результатами численних дослідів Дженнер опублікував у 1798р. метод щеплення проти віспи. Матеріалом для щеплення служив вміст пухирців коров'ячої віспи.

Метод одержав широке розповсюдження в Англії, а згодом і в інших країнах Європи. Захворюваність на віспу значно зменшилась.

Майже сто років після цього людство чекало на створення нових засобів для боротьби з численними інфекційними хворобами. Це не дивно, якщо згадати, що основні збудники захворювань були відкриті лише наприкінці XIX століття.

Значний внесок у створення таких засобів зробив Л. Пастер. Він розробив

основні принципи одержання профілактичних препаратів. Було доведено, що бактерії під впливом різних чинників, найчастіше несприятливих для них, можуть змінювати біологічні властивості і знижувати вірулентність. Якщо такі мікроорганізми ввести в організм тварини, вони не викличуть хвороби, а лише легку реакцію, в результаті якої виникає несприйнятливість до зараження вірулентною культурою. Л. Пастер запропонував три способи пониження вірулентності (атенуації) бактерій: 1) використання старих культур і вирощування мікробів на несприятливих живильних середовищах; 2) вирощування бактерій при неоптимальній для них температурі; 3) багаторазові пасажі збудника через організм малочутливих до нього тварин.

Першим способом він отримав і успішно використав препарат для профілактики холери курей. Завдяки другому способу було одержано ослаблену культуру збудника сибірки. Культивування його при 42 °C призвело до втрати капсули і зниження вірулентності. Такі атенуовані бацили сибірки Л. Пастер використовував для щеплення тварин. Третім способом він одержав препарат для щеплення проти сказу. Це було найяскравішим досягненням знаменитого французького мікробіолога. Він вводив кролику суспензію з мозку скаженої собаки, і після його загибелі суспензію з мозку кроля вводив у мозок іншого кролика, від

нього - третьому і т.д. - всього 133 пасажі. Спочатку сказ у кролика виникав через 16-21 день, потім інкубаційний період скорочувався від пасажу до пасажу, на 133-ому зменшився до 6-7 днів і далі не змінювався. Вірус з таким фіксованим строком інкубації Л. Пастер назвав фіксованим (*virus-fixe*). Імунізація таким вірусом захищала тварин, а згодом і людей від сказу.

На честь Е. Дженнера препарати з ослаблених мікроорганізмів Л. Пастер запропонував називати вакцинами (*vaccinus* - коров'ячий).

Вакцинопрофілактика і вакциноterapia. Вакцини - препарати, одержані з бактерій, вірусів та інших мікроорганізмів, їх хімічних компонентів, продуктів життєдіяльності або штучним шляхом, які застосовуються для активної імунізації людей і тварин з метою профілактики і лікування інфекційних хвороб.

Усі вакцини за способом одержання й характером антигенів, які до них входять, поділяють на живі, вбиті (інактивовані), хімічні, анатоксини, штучні, асоційовані. За кількістю антигенів розрізняють моно-, ди-, три-, тетравакцини тощо.

Для забезпечення виробництва нешкідливих, стандартних вакцин існує обґрунтована система їх випробування і застосування. Вона передбачає: експериментальну перевірку їх на стерильність (відсутність сторонньої мікрофлори у живих), нешкідливість (токсичність, реактогенність) та імуногенність.

Живі вакцини - біологічні препарати, виготовлені з живих бактерій або

вірусів із зниженою вірулентністю, але вираженими імуногенними властивостями. Вони не здатні в звичайних умовах викликати захворювання, але слабкий інфекційний процес, при цьому, має місце. Тому, живі вакцини як найбільш ефективні препарати для щеплення, індукують довготривалий і напружений поствакцинальний

імунітет. Досить одноразового введення препарата, щоб розвинулась несприйнятливість до збудника.

Серед живих вакцин у медицині найбільш широко використовується протитуберкульозна вакцина БЦЖ (BCG - Bacterium Calmette, Guerin), запропонована французькими мікробіологами А. Кальметтом і С. Гереном. Вони отримали вакцинний штам шляхом довготривалого (13 років) культивування туберкульозних бактерій на картопляно-гліцериновому середовищі з жовчю. За цей час, вірулентність мікобактерій значно знизилась, і отриманий штам тепер використовують у всіх країнах світу для виготовлення вакцини.

У практиці ветеринарної медицини широкого застосування набули живі вакцини при псевдочумі курей, класичній чумі свиней, інфекційному ринотрахеїті великої рогатої худоби та ін..

Незважаючи на високу імуногенність, живі вакцини мають ряд недоліків: їх важко зберігати, стандартизувати, контролювати активність. У людей і тварин з імунодефіцитами живі вакцини можуть викликати захворювання.

Вбиті вакцини. На відміну від живих, вбиті (інактивовані) вакцини готують із вірулентних штамів із яскраво вираженими антигенними властивостями. Для інактивації мікроорганізми піддають дії різноманітних фізичних та хімічних чинників. Проте інактивація повинна бути бережливою, щоб не допустити руйнування найважливіших антигенів мікроорганізму. Вбиті вакцини переважно менш імуногенні. Для створення достатнього рівня імунітету вбиті вакцини потрібно вводити декілька разів. Вбиті вакцини містять значну кількість баластних речовин, які часто викликають небажані ускладнення при вакцинації. Проте нині запропоновано ряд надзвичайно активних ад'ювантів – речовин, які суттєво підвищують

активність інактивованих вакцин, в результаті чого імуногенність деяких із них не поступається імуногенності живих вакцин.

Хімічні вакцини. З метою введення в організм очищених антигенних препаратів, вільних від баластних речовин, із бактерій чи вірусів за допомогою хімічних методів або ультразвуку вилучають окремі антигенні компоненти. Вони й складають основу хімічної вакцини. Такі очищені антигени можна концентрувати й адсорбувати на різних основах, збільшуючи цим їх імуногенну активність. Сорбенти мають ад'ювантну дію. Вони викликають у місці ін'єкції легку запальну реакцію, що

стимулює макрофагальну систему до переробки антигена. Такі сорбовані вакцини створюють в організмі депо препарату, з якого в кровотік поступово всмоктуються антигени, що забезпечує тривалу імуностимулюючу дію. До найбільш відомих сучасних вакцин належать черевнотифозна, пневмококова, менінгококова.

Анатоксини. При багатьох інфекційних захворюваннях вирішальну патогенетичну роль відіграють бактерійні токсини. Тому для їх попередження необхідно імунізувати організм препаратом, який одержують із токсинів. **Анатоксини** - препарати, які одержують із бактеріальних білкових токсинів при дії на них формаліну (0,3-0,5 %) протягом 3-4 тижнів при температурі 39-40 °С. Після такої обробки токсин втрачає отруйні властивості, але зберігає антигенні. Одержані анатоксини очищають, концентрують і адсорбують на гідроокисі алюмінію. Мікробіологічна промисловість випускає стафілококовий, правцевий, дифтерійний, ботуліновий та ін. анатоксини. При імунізації цими препаратами в організмі синтезуються антитіла (антитоксини), які здатні нейтралізувати дію відповідних токсинів. Активність анатоксинів виявляють за їх здатністю вступати в реакцію

із специфічною антитоксичною сироваткою, їх виражають в одиницях зв'язування (ОЗ) і флокуляційних одиницях.

Силу анатоксину визначають у реакції флокуляції, яка за механізмом подібна до реакції преципітації. Флокуляція - феномен утворення каламутної хмаринки під час взаємодії розчинного антигена з антитілом. Початкова, ініціальна флокуляція відбувається при чіткій відповідності кількості антигена й антитіла. Кількість антигена (токсину або анатоксину), яка зумовлює з 1 МО (міжнародною одиницею) антитоксичної сироватки ініціальну флокуляцію, приймають за одиницю флокуляції.

Анатоксини вживаються для активної імунізації людей і тварин з метою створення активного антитоксичного імунітету, їх також використовують для гіперімунізації коней для одержання відповідних антитоксичних сироваток.

Асоційовані вакцини - препарати, до складу яких входять декілька антигенів, одержаних із мікроорганізмів і токсинів; їх переваги перед вакцинами, що містять антигени одного збудника, в тому, що вони забезпечують імунітет проти декількох інфекцій при одномоментному їх введенні. Випускають такі асоційовані вакцини: АКДП (містить коклюшні бактерії і два анатоксини - дифтерійний і правцевий, які адсорбовані на гідроокисі алюмінію), ДТ-Роліо (дифтерійний, правцевий анатоксини та інактивовані віруси поліомієліту), Пентакт-ХІБ (полісахарид збудника інфлюенци, зв'язаний з правцевим протеїном, очищені правцевий і дифтерійний анатоксини, інактивовані збудник коклюша, інактивована вакцина поліомієліту I, II, III) та інші. У ветеринарній медицині широко використовуються асоційовані вакцини, що створюють імунітет проти грипу коней і правця, інфекційного ринотрахеїту великої рогатої

худоби, парагрипу та пастерельозу, а також – проти сказу, аденовірозу і лептоспірозу собак та ін..

Штучні вакцини. Здатність імунокомпетентних клітин реагувати на різноманітні антигени залежить від спадковості, статі та віку. Відомо, що рівень імуногенезу залежить від генів імунної відповіді кожної особи, а через них від Т-системи імунітету. Ця проблема особливо актуальна при малярії, чумі, грипі, венеричних захворюваннях, вірусних гепатитах. Більшість із цих збудників мають, так звані, слабкі антигени і на них не розвивається виражена імунна відповідь. Тому, потрібні нові принципи створення вакцин. Крім того, в сучасних вакцинах надто багато баластних речовин. У той же час, для створення імунітету необхідні одна-дві антигенні детермінанти, а в організм із звичайними вакцинами вводиться багато складних антигенних комплексів.

Штучне копіювання антигенів і детермінант методами генної інженерії може сприяти створенню вакцин без баластних домішок. Для отримання антигенів із необхідними детермінантами без сторонніх субстанцій існує два напрямки: 1) виділення високоочищеного антигена із природнього матеріалу методами препаративної біохімії або генної інженерії; 2) хімічний синтез антигенних детермінант. Як правило, виділяють або конструюють протективні антигени, адгезини, ферменти, протеїни оболонки, токсини. Незабаром будуть створені вакцини, які забезпечать імунітет до збудників, проти яких, поки що, надійного захисту немає. Такі препарати можна створити на базі рекомбінантних ДНК, хімічного синтезу й антиідіотипних антитіл.

Основою таких рекомбінантних вакцин є перенесення в плазмиду або вірус гена, відповідального за продукцію необхідного антигена. Такі

препарати поділяють на генно-інженерні вакцини з антигенів, синтезованих у рекомбінантних бактеріальних системах; генно-інженерні живі вакцини на основі вірусу вісповакцини; рекомбінантні вакцини на основі дріжджів.

У прокаріотні системи (кишечна паличка, сінна паличка) внесені плазмиди з генами, які контролюють синтез антигенів менінгококів, гонококів, холерних вібріонів, малярійних плазмодіїв.

У геном вірусу вісповакцини включають гени вірусів сказу, грипу, СНІДу, гепатиту В, простого герпесу тощо. Такий вірус здатний налагодити продукцію відповідних антигенів при його внесенні в організм.

Однак, у деяких бактерій антигени не мають білкової структури, що не дозволяє одержати їх генно-інженерним способом. Тому наукова думка була спрямована на створення, так званих, антиідіотипних вакцин. Антиідіотипні вакцини – це антитіла (антитіла другого порядку), які несуть справжній внутрішній образ детермінант антигена і викликають при його відсутності адекватну імунну

відповідь.

Зараз розробляють такі вакцини проти стрептококової інфекції та гепатиту В. Вони матимуть перевагу перед іншими препаратами, тому що не зможуть викликати захворювань і ускладнень.

Відкрито і вивчено новий клас імунопотенціаторів - синтетичних поліелектролітів, які активують клітини імунної системи й зумовлюють при їх введенні разом з антигенами сильну імунну відповідь навіть у осіб з генетично детермінованою низькою відповіддю на ці антигени.

Вакцинотерапія. Вакцини для лікування інфекційних хвороб застосовують обмежено, в основному, для лікування хворих із

тривалим, млявим перебігом хвороби (бруцельоз, хронічна гонорея, дизентерія, стафілококові інфекції). Іноді використовують автовакцини, які готують із штамів бактерій, виділених від даного хворого (стафілококова інфекція). Парентеральне введення автовакцини стимулює Т-систему імунітету за механізмом гіперчутливості сповільненого типу, що зумовлює швидке звільнення організму від збудників.

Серотерапія і серопротекція. Для створення активного тривалого імунітету використовують вакцинацію. При цьому, несприйнятливість розвивається через кілька тижнів після введення препарату. Досить часто, необхідно терміново попередити розвиток захворювання в людини, яка була в контакті з джерелом інфекції. Такий захист досягають введенням готових антитіл (імуних сироваток, імуноглобулінів). Мова йде про пасивну протекцію, тому що організм одержує готові антитіла, а не виробляє їх самостійно. Імунні сироватки та імуноглобуліни з успіхом вживають і для лікування деяких інфекційних захворювань, особливо тих, у механізмі розвитку яких вирішальну роль відіграють білкові токсини. Оскільки антитіла знаходяться в сироватках, говорять про серопротекцію і серотерапію (serum - сироватка). Усі лікувально- протекційні сироватки поділяють на антитоксичні, антимікробні й антивірусні.

Нативні антитоксичні сироватки (протиравцеві, протидифтерійні, протиботулінові, протигангренозні та ін.) виготовляють у науково-дослідних інститутах, шляхом гіперімунізації коней відповідними анатоксинами (дифтерійними, рацевими, ботуліновими, гангренозними тощо). Після кількох циклів гіперімунізації, в коней беруть кров і одержують відповідну

антитоксичну сироватку, в якій міститься величезна кількість специфічних антитіл (антитоксинів). Сироватки очищують від баластних речовин, перевіряють на стерильність, нешкідливість, апірогенність і активність, їх обов'язково титрують, тобто визначають концентрацію антитіл, яку виражають у антитоксичних одиницях (АО) або в міжнародних одиницях (МО). За одну таку одиницю приймають ту

найменшу кількість сироватки, яка нейтралізує певну кількість DLM відповідного токсину. Для кожного виду сироватки є своє значення АО (МО). Так, за 1 АО протидифтерійної сироватки приймають ту найменшу кількість її, яка нейтралізує 100 DLM дифтерійного токсину для гвінейської свинки масою 250 г. На етикетках ампул із сироватками обов'язково вказують кількість АО (МО), що необхідно для визначення лікувальної чи профілактичної дози.

Антимікробні (антивірусні) сироватки виготовляють шляхом гіперімунізації тварин відповідно вбитими бактеріями (вірусами) або їх антигенами.

Останнім часом, замість нативних анитоксичних і антимікробних (антивірусних) сироваток виготовляють відповідні гамма-глобуліни, адже саме у цій фракції сироваткових білків концентруються антитіла. Для них також вказують одиниці активності, переважно МО.

Пасивну профілактику можна також здійснити за допомогою сироватки людини, яка перенесла цю хворобу (кір). Взагалі в сироватці людей у невеликій кількості містяться антитіла проти вірусів поліомієліту, кіру, грипу, збудників коклюша, скарлатини. Одержуючи із сироватки людський гамма-глобулін, мають препарат із високою концентрацією захисних антитіл. В епідемічному вогнищі

цей препарат призначають особам, які були в контакті з джерелом інфекції.

Людські гамма-глобуліни, які містять значну кількість антитіл проти токсинів, одержують шляхом імунізації відповідними анатоксинами з подальшим осадженням гамма-глобулінової фракції із сироватки.

Чужорідні гамма-глобуліни, одержані при імунізації тварин, при введенні людям можуть часом викликати ускладнення (анафілактичний шок, сироваткову хворобу тощо). Тому їх необхідно вводити досить обережно, дрібними дозами, за методом Безредка. Захисна дія гамма-глобулінів триває короткий період: 2-3 тижні.

Розрізняють гамма-глобуліни специфічної дії і нормальний гамма-глобулін. До гамма-глобулінів специфічної дії належать: протиправцевий, протидифтерійний, протистафілококовий та ін.

Нормальний гамма-глобулін одержують із плазми крові декількох тисяч здорових донорів і використовують для попередження респіраторних інфекцій у дітей, для профілактики гепатиту А, епідемічного паротиту, кіру, вітрянки.

Очищаючи гамма-глобуліни від неспецифічних антитіл, отримують імуноглобуліни спрямованої дії (антистафілококовий, проти синьо-гнійної палички). Випускають комплексний імуноглобуліновий препарат для перорального і ректального введення, який містить IgM, IgG, IgA і характеризується значним вмістом антитіл до ентеробактерій (шигел, сальмонел, ешеріхій). Нині широко використовують такі препарати для пасивної профілактики і лікування інфекційних захворювань людини: протикоклюшний, протидифтерійний, протиправцевий, проти кліщового енцефаліту,

вітряної віспи, гепатиту А, протистафілококовий, протиботуліновий глобуліни та ін.

Мікрофлора молока

План

1. Джерела мікробного обсіменіння молока.
2. Зміни мікрофлори молока під час зберігання
3. Нормальна та анормальна мікрофлора молока та молочних продуктів
4. Продукти змішаного бродіння

Рекомендована література

1. Бортинічук В.А., Скибіцький В.Г., Ібатулліна Ф.Ж. Ветеринарна мікробіологія (практикум). Вінниця, «Нова книга», 2007. 239 с.
2. Демченко А.В., Бортинічук В.А., Скибіцький В.Г., Апатенко В.М. Ветеринарна мікробіологія та імунологія. К.: «Урожай», 1996. 368 с.
3. Скибіцький В.Г., Власенко В.В. Власенко І.Г., Мельник М.В., Ібатулліна Ф.Ж., Соломон А.М., Козловська Г.В. Мікробіологія молока та молочних продуктів. Вінниця, «Едельвейс і К», 2008. 412 с.
4. Скибіцький В.Г., Власенко В.В., Козловська Г.В., Ібатулліна Ф.Ж., Ташута С.Г., Мельник М.В. Ветеринарна мікробіологія. К.: ТОВ «Дорадо-Друк», 2012. 367 с.
5. Фаріонік Т.В., Бондар М.М. Методичні вказівки з дисципліни «Загальна мікробіологія та мікологія» до лабораторних занять для студентів освітнього ступеня «Бакалавр» денної форми навчання за спеціальністю 212 «Ветеринарна гігієна, санітарія і експертиза» Вінниця: ОЦ ВНАУ, 2018. 50с
6. Фаріонік Т.В., Бондар М.М. Методичні вказівки з дисципліни «Мікробіологія» до виконання лабораторних робіт для студентів освітнього ступеня «Бакалавр» денної форми навчання за спеціальністю 204 – «Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва» Вінниця: ОЦ ВНАУ, 2018. 49с.
7. Яблонський В.А., Яблонська О.В. Методологія і методи наукових досліджень у тваринництві та ветеринарній медицині: Навчальний посібник. Київ: 2014. 512 с.

1

За своєю природою свіжовидоєне молоко здорових тварин - стерильна біологічна рідина, в якій, подібно до крові, не повинно бути ніяких мікроорганізмів. Проте отримати стерильне молоко дуже важко, бо в процесі доїння воно обов'язково забруднюється мікроорганізмами.

Джерела мікробного обсіменіння молока. Мікроорганізми потрапляють у молоко під час доїння, первинної обробки, зберігання і транспортування.

Джерела обсіменіння молока бактеріями різноманітні: шкіра вим'я, частинки кормів, підстилки, гною, комахи (мухи), повітря, руки й одяг обслуговуючого персоналу, доїльні апарати, молочний посуд тощо. Молоко у вим'ї вже містить деяку кількість мікроорганізмів, які проникають туди через дійковий канал. При поганому санітарному стані приміщення й тіла тварини кількість мікроорганізмів у вим'ї збільшується, при доброму — зменшується. Перші порції молока містять найбільшу кількість бактерій. Ось чому їх необхідно здоювати окремо і не змішувати з загальним надоем. *Шкіра вим'я.* Чиста здорова шкіра містить порівняно невелику кількість мікроорганізмів, які є постійними "жителями" і навіть виконують деяку захисну функцію як антагоністи інших, більш небезпечних, мікроорганізмів. Забруднена ж шкіра містить велику кількість різноманітних мікроорганізмів. Шкіра дійок безпосередньо стикається з доїльними стаканами і молоком, тому, при її антисанітарному стані, вона є одним із джерел мікробного обсіменіння молока.

Частинки пилу, кормів, підстилки, гною, потрапляючи в молоко, вносять в нього особливо небезпечні мікроорганізми, такі, як гнильні, мезофільні анаеробні лактатзброджувальні, інші спорові, мікроорганізми групи кишкової палички, які викликають псування не лише молока, а й виготовлених з нього молочних продуктів. Необхідно пам'ятати, що фільтрування молока і зменшення цим самим його механічної забрудненості майже не зменшує кількості мікроорганізмів у молоці. Якщо в молоці уже побували механічні частки, то вони в основному віддали молоку свою мікрофлору, яку не можна відфільтрувати. Тому необхідно приймати всі заходи для того, щоб у молоко не потрапляли механічні частки.

Повітря. Частинки пилу, що є в повітрі, несуть на собі певну кількість мікроорганізмів, грибків та їх спор. Кількість бактерій, які встигають осісти з повітря в молоко при відкритому його зберіганні, порівняно невелика, і ці мікроорганізми істотно не впливають на результати редуктазної проби, але такі мікроорганізми, як і ті, що потрапили з частинками корму, гною та ін., є шкідливими в технологічному відношенні, оскільки значно знижують якість молочних продуктів.

Доїльні апарати та установки. Шлях, яким проходить молоко в доїльному апараті й молокопроводах, складний, з поворотами, перегинами і значна частина його пролягає крізь гумові деталі (молочний шланг, молочні трубки, дійкова гума). Навіть малопомітні тріщини, що утворюються на внутрішній поверхні гумових деталей, одразу заповнюються білково-жировими залишками молока, в яких посилено розмножуються і накопичуються у великій кількості мікроорганізми. Чим довша молочна лінія, тим вона може мати більшу кількість мікроорганізмів. Якщо доїльні апарати та установки погано промиті і не продезинфіковані, вони стають основним джерелом мікробного обсіменіння

молока. Пояснюється це тим, що мікрофлора, яка осіла в залишках молока на частинах доїльного обладнання, в основному молочнокисла, дуже активна, швидко розмножується в молоці, виділяє багато ферменту редуктази, що за короткий час знижує якість молока.

Молочний посуд (фляги, відра, молокоміри). При незадовільному митті та дезинфекції молочного посуду, на його стінках поступово відкладаються білково-жирові нашарування, в яких маса мікроорганізмів, їх також дуже багато в промивній воді, яка лишається на дні посуду. Чисто видоєне молоко, перелите в погано помиті фляги, молочний танк чи цистерну молоковоза, швидко піддається мікробному обсіменінню, і санітарна якість його знижується.

Зміни мікрофлори молока під час зберігання

Під час зберігання, транспортування та первинної переробки поступово змінюються фізико-хімічні, органолептичні і технологічні властивості молока. При значних змінах цих показників можуть порушуватись технологічні процеси переробки молока і знижуватись якість молочних продуктів. Біохімічні зміни за участю ферментів (протеаз, ліпаз та ін.) спостерігаються у молоці, в основному, при тривалому зберіганні. Охолодження молока до 5 ± 1 °C істотно не впливає на склад і властивості молока. Лише внаслідок переходу жиру з рідкого стану в твердий дещо підвищуються в'язкість і густина охолодженого молока. Більші зміни складових частин і властивостей молока відбуваються під час тривалого зберігання при низьких температурах. В основному змінюються білки й жири, решта компонентів молока майже не змінюються, за винятком вітаміну С, який може руйнуватись на 50 % і більше.

Під час тривалого зберігання молока при низьких температурах 4-6 °C відбувається протеоліз білків під дією протеолітичних ферментів, а саме: природних протеаз, що містяться в сирому молоці, та протеаз, що виділяються психротрофними бактеріями. В результаті дії протеаз β -казеїн розщеплюється на β -казеїн і фосфопептиди, що призводить до погіршення технологічних властивостей молока.

При тривалому зберіганні молока жир піддається гідролізу. Ферментативний гідроліз жиру, або так званий ліполіз, викликають під час зберігання молока природні й бактеріальні ліпази. В результаті ліполізу вивільнюються жирні кислоти (масляна, капронова та ін.), і молоко набуває згірклого смаку й запаху.

Під час тривалого зберігання при низьких температурах, крім підвищення в'язкості й густини молока, підвищується на 0,5-2 °T його титрована кислотність. Внаслідок гідролізу й окислення жиру погіршуються органолептичні властивості молока, виникають вади смаку й запаху, а структурні зміни казеїнових міцел і розпад β -казеїну під час тривалого зберігання погіршують сичужне

зсідання молока, інші структурно-механічні властивості згустку, знижують терmostійкість молока.

Внаслідок тривалого зберігання сирого молока (при температурі вище 10 °C) відбувається зміна фаз мікрофлори сирого молока.

Перша фаза — *бактерицидна(бактеріостатична)*, коли життєдіяльність мікроорганізмів у молоці пригнічується. Мікроорганізми в цій фазі, як правило, не розмножуються, іноді їхня кількість навіть зменшується в результаті бактерицидної дії природних протимікробних речовин: лізоциму, лактенинів I і II, бактеріолізинів, аглютинінів, антитоксинів, імуноглобулінів, лейкоцитів та ін. Тривалість бактерицидної фази залежить від кількості бактерій, що містяться в молоці, температури зберігання й індивідуальних властивостей організму тварини. Чим менше мікроорганізмів у молоці і чим швидше воно охолоджене до більш низьких температур, тим довше зберігаються його бактеріостатичні властивості.

Тривалість бактеріостатичної фази неохолодженого молока, за даними багатьох дослідників, становить не більше 2—3 год, тобто менше часу, який практично витрачається на великих фермах на процес доїння. Тому, з метою збереження високих гігієнічних якостей молока, особливо на молочних комплексах, де доїння, як правило, триває 4—5 год, його необхідно охолоджувати відразу ж після закінчення доїння до температури 5 ± 1 °C, при якій бактерицидна фаза триває 24 год. Найкращим методом зберігання якості молока є охолодження його в потоці під час проходження через молокопровід. Тривалість бактеріостатичної фази в цьому випадку тим більша, чим швидше після видоювання молоко охолоджене.

На тривалість бактерицидної фази значно впливає температура зберігання молока. Так, при температурі 37 °C вона складає всього 2 год.; при 10 — до 36 год., при 5 °C — до 48 год., а при 0 °C — до 72 год. Зі збільшенням кількості мікроорганізмів у молоці на кілька тисяч у 1 мл при тій самій температурі зберігання тривалість бактерицидної фази скорочується приблизно в 2 рази.

За ДСТУ 3662-97 "Молоко коров'яче незбиране. Вимоги при закупівлі", температура охолодження молока не повинна перевищувати 10 °C. Однак при такій температурі молоко зберігається лише протягом 24—36 год. Найбільш ефективною є температура 3—4°C.

На тривалість бактерицидної фази впливають також санітарні умови отримання молока. Молоко, отримане за умов належного дотримання санітарних і протиепідемічних правил, довше зберігає бактерицидні властивості.

Друга фаза — *фаза змішаної мікрофлори* — характеризується найбільш активним розмноженням мікроорганізмів. За 1—2 доби кількість бактерій у 1 мл молока може збільшуватися від декількох тисяч до сотень мільйонів. Швидкість

розвитку мікроорганізмів залежить від первинної їх кількості і температури зберігання молока. У цій фазі розрізняють кріофлору (флору низьких температур), мезофлору (середніх температур), термофлору (високих температур).

При низькій температурі молоко тривалий час може залишатися у фазі змішаної мікрофлори (кріофлора).

Мезофлора в молоці розвивається у разі його зберігання без попереднього охолодження. Для неї характерний швидкий розвиток мікроорганізмів і збільшення кількості молочнокислих бактерій. Тому зберігати і транспортувати молоко потрібно тільки у фазі кріофлори.

Термофлора розвивається при температурі молока 40—45 °С, наприклад, у процесі виробництва сирів з високою температурою другого нагрівання. У цьому випадку розвиваються термофільні молочнокислі палички і термофільні стрептококи.

Третя фаза — фаза молочнокислих бактерій. У цей період збільшення концентрації молочної кислоти (65—70 °Т) призводить до різкого збільшення кількості молочнокислих стрептококів, що змінюються молочнокислими паличками.

Четверта фаза — фаза дріжджів і плісень. У результаті розвитку молочнокислих бактерій в молоці наростає висока підвищується кислотність, при якій ріст решти бактерій пригнічується. В цих умовах розвиваються тільки дріжджі та плісені. Із дріжджів у молоці зустрічаються види, які зброджують і не зброджують молочний цукор, а також плівчасті дріжджі (*Mycoderma*). Із плісені розвивається молочна плісень (*Oidium lactis*) і зелена кістеподібна (*Penicillium glaucium*). У цей період під плівкою плісені, яка покриває сквашене молоко, повільно розщеплюються білки, збільшується по поверхні шар рідини, і згусток поступово зникає, залишається брудна рідина. В результаті зниження кислотності створюються сприятливі умови для життєдіяльності бактерій, які прискорюють розщеплення білків у молоці.

Наведена зміна фаз мікрофлори в молоці спостерігається в процесі його зберігання при температурі більше 10 °С. При більш низькій температурі молочнокислі бактерії не розмножуються.

Отже, щоб зберегти якість молока необхідно дотримуватись таких умов:

- негайно охолоджувати молоко на фермі до рекомендованих температур;
- у найкоротший термін направляти його в ізотермічних цистернах для переробки на молочні заводи;
- створювати відповідні умови для зберігання молока на заводі;
- здійснювати теплову обробку молока з наступним охолодженням і

негайною переробкою на молочні продукти.

Залежно від температури зберігання кількість бактерій у молоці протягом доби збільшується. Якщо в 1 мл молока перед зберіганням вміст бактерій становить десятки тисяч, то при температурі 10-12 °С збільшення відбудеться до 10 разів, при 18-20 °С - в сотні, при 30- 35°С - в десятки і сотні тисяч разів.

При зростанні кількості мікроорганізмів до 100 млн. в 1 мл. з'являються ознаки псування молока.

2

Нормальна та аномальна мікрофлора молока.

Мікрофлору молока і молочних продуктів умовно розділяють на такі групи:

- *мікроорганізми, корисні в технології молока і молочних продуктів;*
- *мікроби, шкідливі в технології, які спричиняють псування молока і молочних продуктів.* При потраплянні їх в молоко з'являються вади смаку, запаху, консистенції, погіршуються гігієнічні показники продукту. Споживання таких продуктів може стати небезпечним для здоров'я людини, спричинити розлад діяльності шлунково-кишкового тракту. До них відносять мікрококи, сарцини, кишкові палички, сінну паличку, протеї, флуоресціюючі бактерії;
- *мікроорганізми, небезпечні для здоров'я людей і тварин- хвороботворні.*

Вони не змінюють склад і властивості молока та молочних продуктів, але є збудниками інфекційних захворювань людини і тварин — сибірки, туберкульозу, бруцельозу, черевного тифу і сальмонельозу, бактеріальної амебної дизентерії, скарлатини, віспи, поліомієліту, туляремії, шлунково-кишкових захворювань. Деякі бактерії, що потрапили в молоко (стафілококи, протеї), можуть виділяти токсини, які викликають отруєння людини (токсикоінфекції).

Мікрофлора молочнокислих продуктів.

Молочнокислі продукти. Це бродіння обумовлюють молочнокислі бактерії. Більшість молочнокислих бактерій поряд з молочною утворюють оцтову кислоту, спирт, діацетил, вуглекислий газ. Молочнокисле бродіння відбувається переважно в анаеробних умовах, але може перебігати і в аеробних.

Молочна кислота, нагромаджуючись у молоці і молочних продуктах, змінює їх властивості і фізичний стан. Кількість утвореної молочної кислоти виражають в градусах кислотності і відсотках. Градуси кислотності визначають діленням кількості молочної кислоти в 100 мл молока на коефіцієнт 0,009, оскільки градус кислотності містить 0,009 г молочної кислоти в 100 мл молока.

Поживна цінність кисломолочних продуктів зумовлена, насамперед, їх біохімічними властивостями і визначається інтенсивністю молочнокислого та спиртового бродіння, ступенем протеолізу та іншими мікробіологічними процесами, їх можна характеризувати накопиченням молочної кислоти,

етилового спирту, вуглекислоти, ароматичних речовин, розчинних форм азоту, вітамінів, антибіотиків і т. ін.

Утворення молочної кислоти має суттєве значення для формування білкового згустку, який визначає консистенцію кисломолочних продуктів. Крім цього, молочна кислота надає приємного кислуватого смаку кислому молоку, кефіру та іншим кисломолочним продуктам, її наявність, а отже, кислотність продукту залежить від складу молока, бактеріальної закваски (співвідношень сильних і слабких кислотоутворювачів і технологічних режимів виробництва).

Кількість спирту та вуглекислого газу в кисломолочних напоях визначається видом використаних дріжджів, кількістю лактози в молочній сировині, температурним режимом та рН середовища, а також терміном дозрівання продукту.

Нагромадження ароматичних речовин (летких кислот, ацетальдегіду, діацетила, ацетону та ін.) відбувається під впливом ароматоутворюючих молочнокислих бактерій і дріжджів. Вміст ароматичних речовин визначається складом бактеріальної закваски і, значною мірою, умовами сквашування та дозрівання продуктів. Леткі кислоти (оцтова, пропіонова) особливо активно накопичуються в кефірі та сирі; діацетил і ацетон - у кефірі, кумисі, сметані; ацетальдегід - у йогурті.

Молочнокислі бактерії та дріжджі, поряд із перетворенням лактози, спричиняють гідролітичний розпад білків. Ступінь і глибина протеолізу залежать, головним чином, від протеолітичної активності мікроорганізмів заквасок і рН продукту. Особливо активно відбувається протеоліз у процесі дозрівання кумису та під час виробництва сиру. Вільні амінокислоти, які накопичуються в результаті протеолізу, позитивно впливають на харчову цінність продуктів, прискорюючи їх засвоєння. В усіх кисломолочних продуктах, порівняно з молочною сировиною, збільшується кількість вільної глютамінової кислоти й проліну, в кефірі - лізину та гістидину, у деяких інших - аспарагінової кислоти, аланіну, серину. Для того щоб збільшити протеолітичну активність молочнокислих бактерій, рекомендують у молоко вносити мікроелементи (марганець, цинк, кобальт).

Усі кисломолочні продукти, порівняно з молоком, характеризуються підвищеною кількістю вітамінів групи В - тіаміну, рибофлавіну. Ці вітаміни, а також вітаміни С, В₁₂ і деякі інші синтезуються мікроорганізмами заквасок. Шляхом підбору високоактивних штамів можна значно збільшити кількість цих вітамінів у кисломолочних продуктах.

Багато кисломолочних продуктів містять антибіотичні речовини, які гальмують розвиток кишкових інфекцій, стафілококів, збудника туберкульозу та ін. Ці антибіотичні речовини утворюються як результат метаболізму мікроорганізмів заквасок – молочнокислих бактерій та дріжджів. Так, диплококцин

і нізін є продуктами життєдіяльності мезофільних молочнокислих стрептококів *Str. cremoris* і *Str. lactis*, бензойна кислота - метаболіт термофільних паличок *Lbm. acidophilum* *Lbm. bulgaricum*.

Усім кисломолочним напоям притаманні дієтичні та цілющі властивості. Усі вони дуже легко засвоюються організмом людини, сприяють травленню і регулюють мікрофлору кишечника. У кишечнику людини міститься величезна кількість мікроорганізмів, у тому числі гнільних, які викликають гнільний розпад залишків білкової їжі. У процесі гниття, як проміжні продукти, утворюються різні токсини, які через стінки кишечника потрапляють у кров, разносяться по всьому організму й поступово його отруюють. Це отруєння, як і отруєння нікотинном курців, відбувається не відразу, а поступово, непомітно. При вживанні кисломолочних напоїв у кишечник потрапляє безліч живих молочнокислих бактерій (1 мл напою вміщує їх мільйони). Вони приживаються в кишечнику і перетворюють там залишки їжі, яка вміщує цукор, у молочну кислоту. Остання створює кисле середовище, в якому не можуть розвиватися гнільні бактерії. Таким чином, вживання кисломолочних напоїв гальмує гнільні процеси в кишечнику. Засновник теорії антагонізму серед мікроорганізмів І.І.Мечников пов'язував довголіття верховинців зі значним вживанням кисломолочних напоїв. Цілющі та дієтичні властивості кисломолочних напоїв зумовлені ще й тим, що вони, порівняно з молоком, вміщують у 2-3 рази більше вітамінів - аскорбінової та нікотинової кислот, вітамінів групи В. Ці вітаміни утворюються в кисломолочних напоях як результат життєдіяльності молочнокислих бактерій. Кисломолочні напої мають у своєму складі антибіотики, які діють негативно (антибактеріально) на хвороботворні мікроорганізми.

3

Продукти змішаного бродіння

До цієї групи належать кефір і кумис. Для їх виготовлення використовують симбіотичні закваски, у складі яких домінують молочнокислі бактерії та дріжджі. Тому після внесення закваски починається не лише молочнокисле, а й спиртове бродіння.

Співвідношення молочної кислоти, вуглекислого газу і спирту зумовлюють освіжаючий, дещо гострий смак цих продуктів, їх цілющі властивості зумовлені насамперед накопичуванням нізину та інших антибіотичних речовин, продуцентами яких є дріжджі.

Кефір - кисломолочний напій, який займає близько 80% виробництва всіх кисломолочних напоїв у нашій країні. Кефірна закваска, яку часто називають "кефірним грибком", або "кефірними зернами", складається із багатьох (майже 20) видів молочнокислих бактерій і дріжджів, співвідношення між якими зберігається

постійним і забезпечує типові смакові властивості кефіру. Особливою рисою кефіру є використання кефірних зерен як стартера. Кефірні зерна мають желатиноподібну консистенцію, колір від білого до жовтого, неправильної форми, розміром від пшеничного зерна до грецького горіха. Гранули не розчинні у воді та набухають у воді чи молоці і формують в'язкий, желеподібний білий продукт.

Мікрофлора кефірних зерен складається із наступних мікроорганізмів:

–дріжджі: *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida kefir* (*Torula kefir*);

– лактобацили: *Lactobacillus kefir* (*Lb.brevis-like*), *Lb. lactis*, *Lb. bulgaricum*, *Lb. helveticum*;

– лейконосток: *Leuc. mesenteroides*, *Leuc. mesenteroides subsp. dextraticum*;

–лактококи: *L. lactis subsp.lactis*, *L. lactis subsp.cremoris*;

–оцтовокислі бактерії: *Acetobacter aceti*.

Лактококи – найбільш активна частина кефірної закваски, забезпечують швидке зростання кислотності протягом перших годин бродіння. При високих кислотностях вони інгібуються.

Кількість *мезофільних лактобацил* у кефірному стартері не перевищує 10^2 – 10^3 /мл і ці бактерії не відіграють важливої ролі для якості продукту.

Lb.bulgaricum та *Lb.helveticum* виявляють у кефірній заквасці у кількості 10^4 - 10^5 мл.

Leuconostoc spp. приймають участь у формуванні специфічного смаку і аромату кефіру і можуть, при надмірному розвитку, викликати утворення газу. Деякі здатні продукувати полісахариди (*Leuc.mesenteroides subsp.dextraticum*).

Дріжджі приймають активну участь у підтримці симбіозу мікроорганізму у гранулах, утворенні CO₂ і формуванні спирту у кефірі, а також формуванні специфічного смаку і аромату.

Acetobacter aceti також активні у забезпеченні симбіозу між мікроорганізмами кефірної закваски та покращують консистенцію кефіру, підвищуючи його в'язкість. У випадку надмірного росту *A. aceti* виражена в'язкість та слиз можуть з'являтися у кефірі.

Кефірні зерна зазвичай видаляються і використовуються повторно. Зерна відсіюються після бродіння, потім суспендуються у холодну воду і зберігають при температурі 4 °C або висушуються у марлі при кімнатній температурі протягом 48 год. і зберігають у сухому вигляді при температурі 4 °C.

Правильно висушені кефірні зерна активні протягом 12—18 місяців, а при зберіганні у воді вони втрачають свою активність через тиждень.

Виробництво кисломолочних продуктів і напоїв здійснюється

резервуарним чи термостатним способами і включає ряд однакових для всіх видів напоїв технологічних операцій.

Для резервуарного способу такими операціями є: приймання і підготовка сировини, нормалізація, очистка, гомогенізація, пастеризація, охолодження до температури сквашування, заквашування, перемішування, охолодження, внесення наповнювачів (при необхідності), фасування, маркування, зберігання, транспортування.

Для термостатного способу характерними є такі операції, як приймання і підготовка сировини, нормалізація, очистка, гомогенізація, пастеризація до температури заквашування, заквашування, фасування заквашеної суміші у споживчу скляну чи іншу тару, маркування, сквашування, охолодження, зберігання, транспортування.

Залежно від способу виробництва і асортименту основних видів кисломолочних напоїв, вимоги до їх органолептичних властивостей є різними.

За зовнішнім виглядом всі кисломолочні напої – однорідні, з рівною (крім кумису) чистою поверхнею рідкі маси. Згусток кисломолочних напоїв, виготовлених термостатним способом, щільний, не перемішується в упаковці при її нахиленні і навіть при перевертанні, а згусток, отриманий резервуарним способом, в упаковці легко перемішується при нахиленні.

Продукти з негомогенізованого молока можуть мати у верхній частині шар жиру, особливо при термостатному способі виробництва.

Випускають кілька видів кефіру, залежно від вмісту в ньому молочного залишку і жиру. Готовий кефір характеризується такими показниками:

- кислотність — 85—120 °Т;
- вміст етанолу — 0,1—1 %;
- вміст жиру — нежирний; 1; 2,5 % і 3,2 %;
- живих мікроорганізмів (у 1 мл): лактококи - 10^9 ; термофільні лактобацили - 10^5 ; лейконосток - 10^7 — 10^8 ; дріжджі - 10^2 — 10^5 ; оптовокислі бактерії.

Тому після внесення закваски починається не лише молочнокисле, а й спиртове бродіння.

Співвідношення молочної кислоти, вуглекислого газу і спирту зумовлюють освіжаючий, дещо гострий смак цих продуктів, їх цілющі властивості зумовлені насамперед накопичуванням нізину та інших антибіотичних речовин, продуцентами яких є дріжджі.

Кефір, згідно з чинним стандартом, не поділяється за терміном дозрівання. Разом з тим слід врахувати, що одnodенний кефір (свіжий) діє на

кишково-шлунковий тракт послаблююче, а триденний - закріплювальне.

Це кисломолочний напій з молока кобил чи корів. Кумис з кобилячого молока відомий давно. Ще в V ст. до н.е. Геродот вказував, що кумис (його назва походить від тюркського слова "кимиз" — сквашене кобиляче молоко) є улюбленим напоєм скіфів-кочівників.

Кумис – сірувато-білого кольору рідина, має своєрідний кислий смак і запах, рідку консистенцію, оскільки при кислотній коагуляції казеїн не утворює щільного згустку. Кислотність слабого кумису — 60—80 °Т, середнього — 81—105 °Т, міцного — 106—120 °Т; спирту міститься відповідно до 1 %, 1,75 % та 2,5 %.

Закваска кумису складається з таких мікроорганізмів:

- *Lactobacterium bulgaricum*;
- *Candida holmii* (*Torulopsis*) — дріжджі, що зброджують лактозу.

Основний кінцевий продукт кумису є молочна кислота, етанол та вуглекислий газ, що надають продукту кислий алкогольний присмак та шипучий вигляд, як у кефіру.

Для виробництва кумису використовують молоко від здорових кобил. Воно повинно бути чистим, без сторонніх присмаків, запахів, кислотністю не вище 7 °Т. Технологія виробництва кумису: парне молоко змішують з закваскою у пропорціях (2 частини молока і 1 частина закваски), щоб суміш мала кислотність 45—55 °Т і температуру 20—24 °С. Сквашене молоко перемішують 15 хв, витримують 3—5 год при температурі 20—24 °С до кислотності 65—70 °Т. При досягненні такої кислотності суміш вимішують протягом години, а потім розливають у пляшки, щільно закриваючи пробками.

Пляшки з кумисом ставлять у холодильну камеру при температурі 6-10 °С для дозрівання. Залежно від тривалості дозрівання кумис поділяють на слабкий, який дозріває 1 добу, середній (2 доби) та міцний (3 доби).

За накопиченням спирту (до 2,5%) кумис можна віднести до слабоалкогольних напоїв, тоді як у кефірі вміст спирту не перевищує 0,6%.

Кумис суттєво відрізняється від кефіру своєю консистенцією, а саме - в ньому відсутній щільний згусток. Це зумовлено зниженим вмістом білкових речовин у кобилячому молоці і зміною співвідношення альбуміну з казеїном на користь першого. Тому казеїн під час сквашування кобилячого молока утворює дрібні пластівці.

Напій типу кумису можна отримати також із коров'ячого молока. Для цього треба спочатку наблизити його склад до молока кобилиць, змішуючи частково знежирене коров'яче молоко з сироваткою. Після заквашування

кумисною закваскою напій нагадує кумис, однак цілющі властивості його не такі, як у натурального кумису. Очевидно, сироватка в суміші наближує тільки білковий склад і вміст лактози до значень, властивих молоку кобилиць, однак не дозволяє врахувати особливості вмісту в кобилячому молоці інших важливих біологічно активних речовин.

Кисломолочні продукти на основі ацидофільних паличок

Споживні властивості цих продуктів визначаються складом закваски, в якій єдиною, або основною, культурою є ацидофільна паличка. Остання виступає активним кислотоутворювачем, тому кислотність ацидофільних продуктів більша, ніж простокваш.

Ацидофільна паличка характеризується високою антибіотичною активністю, а продукти, виготовлені з її застосуванням, мають загальновизнані лікувальні та профілактичні властивості.

До ацидофільних продуктів належать ацидофільне молоко, ацидофільно-дріжджове молоко, ацидофілін та ацидофільна паста.

Ацидофільне молоко отримують сквашуванням пастеризованого молока закваскою, до складу якої входить лише ацидофільна паличка. Остання має дві різновидності, а саме: слизисту расу, яка накопичує відносно небагато молочної кислоти (до 140 °Т) і утворює дуже слизистий, тягучий згусток, який добре утримує сироватку, і неслизисту расу, яка є сильним кислотоутворювачем, підвищує кислотність до 320 °Т та утворює щільний згусток, котрий швидко виділяє сироватку. Високоякісне ацидофільне молоко з приємним, в міру кислим смаком і сметаноподібною консистенцією можна отримати, лише якщо співвідношення слизистої та неслизистої рас у заквасці дорівнює 1: 4.

Ацидофільно-дріжджове молоко - дуже цінний лікувальний продукт, який зупиняє розвиток збудника туберкульозу, стафілококів, збудників дизентерії та тифу. Це зумовлено тим, що до складу закваски входять дріжджі та ацидофільна паличка з високою антибіотичною активністю. Продукт має кислий, гострий, освіжаючий смак, що зумовлено виділенням вуглекислого газу, легкий дріжджовий запах і дещо в'язку консистенцію. Напій рекомендується не лише для лікувального, а й для профілактичного харчування.

Ацидофільін відрізняється від інших ацидофільних продуктів тим, що до складу закваски, поряд з ацидофільною паличкою, входять молочнокислий стрептокок і кефірні грибки. Антибіотичні властивості цього продукту значно ослаблені порівняно з ацидофільним та ацидофільно-дріжджовим молоком.

Ацидофільну пасту отримують шляхом відокремлення частини сироватки із згустку або шляхом заквашування підзгущеного у вакуум-апаратах молока. Ацидофільна паста може виготовлятися різної жирності, без підсолоджування та солодка. За лікувально- профілактичним значенням продукт посідає перше місце серед інших ацидофільних продуктів. Це зумовлено, поряд з антибіотичною активністю продуктів, високим вмістом незамінних амінокислот, кальцію та інших біологічно активних речовин.

На основі молочнокислих бактерій виготовляють ряд пробіотиків. Пробіотики — живі мікроорганізми, частіше біфідобактерій та лактобактерій.

Термін "пробіотики", у перекладі, означає "для життя" (на відміну від терміну "антибіотики" — "проти життя") по відношенню до живих організмів.

Основними представниками кишкової мікрофлори є аеробні лактобактерії (*L. acidophilus*, *L. plantarum*, *L. casei*, *L. fermentum*, *L. salivores*, *L. cellobiosus*) і анаеробні біфідобактерії (*Bifidumbakterium bifidum*, *B. infantis*, *B. longum*, *B. adolescentis*). Препарати-пробіотики на основі цих мікроорганізмів широко використовуються як поживні добавки, в молочних продуктах. Мікроорганізми, що входять до складу пробіотичних продуктів, не патогенні, не токсичні, зберігають життєздатність при проходженні через шлунково-кишковий

тракт.

Біфідобактерії володіють вираженим мікробним антагонізмом. В процесі життєдіяльності вони утворюють органічні кислоти, що призводять до зниження рН середовища кишечника і перешкоджають розмноженню патогенної мікрофлори кишечника.

Для забезпечення успішної колонізації бактерій в кишечнику необхідне поєднання цілого ряду сприятливих чинників: певні властивості штамів мікроорганізмів, зокрема їх адгезивність, здатність до росту в умовах кишечника, що суттєво пов'язано з харчуванням людини.

Пробіотики в умовах кишкового мікрооточення повинні володіти не тільки здатністю до виживання, а й зберігати життєздатність протягом тривалого терміну. Високоякісні комерційні продукти, такі як кефір, містять мікроорганізми *L. bulgaricus* і *Streptococcus thermophilus*, дріжджі які сприятливо впливають на організм людини, проте є транзитними і не заселяють кишечник. У той же час ацидофільна простокваша, яка містить *Lactobacillus acidophilus*, забезпечує тривале перебування цього мікроорганізму у кишечнику людини і тварин, що зумовлює надійний профілактичний ефект, зокрема при хворобах органів травлення.

Використання в щоденному раціоні якісних продуктів з пробіотичними властивостями сприяє поліпшенню здоров'я людей і тварин. Пробіотики відіграють важливу роль в профілактиці і лікуванні захворювань, особливо викликані кишковими інфекціями. Як нормальна флора вони інгібують розмноження інших мікроорганізмів, перемагаючи в конкуренції за джерело живлення, змінюють рН і вміст кисню, знижуючи їх рівень до стану, при якому патогенна мікрофлора гине, перешкоджають пошкодженню слизової оболонки кишечника патогенними мікроорганізмами.

В лікувально-профілактичному і повсякденному харчуванні населення України використовують біокефір, -ряженка, -йогурт, - сметана, спеціальні кисломолочні продукти як вітчизняного ("Біфілайф", "Симбівіт", "Наріне", напої "Сімейний", "Київський", "Біовіт", "Біфідін" та ін.), так і імпорного виробництва (серія йогуртів і кисломолочних напоїв "Активія" з біфідобактеріями ESSENSIS, кисломолочний напій "Актімель" з пробіотиком *L.casei* виробництва фірми "DANONE", йогурти "Onken" польської фірми "Onken Analex" і цілий ряд інших).

Лактобактерії синтезують широкий спектр речовин, що інгібують ріст інших бактерій. До таких речовин відносяться, зокрем, кінцеві продукти метаболізму: органічні кислоти (молочна і оцтова), перекис водню, сполуки відомі як бактеріюцини (лізоцим, нізин, лактоцидин, ацидофілін). Бактеріюцини — білки продуковані деякими мікроорганізмами, що справляють згубний вплив на близькоспоріднені мікроорганізми. Вони мають менший спектр активності, ніж антибіотики, але дія їх більш виражена (табл. 20.2).

Пробіотики здійснюють неспецифічний контроль за чисельністю умовно-патогенної мікрофлори, витісняючи її з складу кишкової популяції і стримуючи посилення чинників патогенності у її представників.

Механізми антагонізму нормофлори кишечника найбільш вивчені на прикладі лактобактерій і в цілому справедливі по відношенню до різних представників нормальної мікрофлори кишечника (нормобіозу). При цьому дія мікроорганізмів-пробіонтів здійснюється в чотирьох основних проявах:

- зменшення чисельності небажаних мікроорганізмів;
- зміна метаболізму мікробів;
- стимуляція імунітету організму господаря;
- детоксикація екзогенних і ендогенних субстратів і метаболітів.

Зменшення чисельності небажаних мікроорганізмів. Зниження чисельності або повне зникнення специфічної групи бактерій після вживання пробіотиків пояснюється прямою дією антагоніста, викликану антибіотичними речовинами; харчовою конкуренцією або конкуренцією за місця прикріплення до кишкового епітелію.

Здатність прикріплюватися до епітелію кишечника є для багатьох мікроорганізмів істотною умовою закріплення в такому рухомому середовищі, як кишечник, оскільки вони можуть уникнути видалення перистальтикою кишечника і залишатися поблизу до поступаючої свіжої їжі.

Отже, одним із способів запобігання колонізації (заселення) кишечника патогенними мікроорганізмами є насичення рецепторів адгезії (прикріплення) епітелію кишечника бактеріями пробіотиків, що запобігає прикріпленню патогенів і забезпечує захист від кишкових захворювань.

Зміна метаболізму мікробів. Вплив одних бактерій на розвиток інших може обумовлюватися зміною концентрації мікробних метаболітів або активності їх ферментів. Основними продуктами метаболізму гомо- і гетероферментативних лактобактерій є молочна і оцтова кислоти.

Антимікробна активність молочної кислоти залежить не стільки від величини рН, скільки від сумісної присутності молочної, оцтової і пропіонової кислот. Синергізм такого поєднання забезпечує затримку росту сальмонелл, ешеріхій, клостридій і деяких видів дріжджів, при цьому таке поєднання не інгібує розвиток лактобактерій.

Іншим продуктом метаболізму гетероферментативних видів лактобактерій є вуглекислий газ, присутність якого у вмісті кишечника сприяє підтримці анаеробних умов і високого парціального тиску, що позитивно позначається на розвитку корисних анаеробних пропіоновокислих і

біфідобактерій. Вуглекислий газ виступає в ролі акцептора водню при біосинтезі деякими кишковими мікроорганізмами ацетату з гексоз.

Особливе місце серед продуктів метаболізму молочнокислих бактерій займає перекис водню, який утворюється в результаті активації кисню лактобактеріями під впливом флавінмістких ферментів або NADH (никотинаміадениндинуклеотид) пероксидази.

В клітині бактерії перекис водню вступає в реакцію з тіоціонатом, внаслідок чого утворюється гіоцінат, токсичний для багатьох мікроорганізмів. Захист від токсичного впливу перекису водню здійснює фермент каталаза, який його руйнує.

Інгібуючий ефект перекису водню має важливе значення для стримування чисельності грамнегативних бактерій, які не утворюють каталазу (ешеріхій, сальмонел та ін.).

Особливо виражений інгібуючий ефект перекис водню справляє на стафілококи і псевдомонади, який обумовлений його сильною окислювальною дією на бактерійні клітини і руйнуванням молекулярної структури клітинних білків.

Деякі види лактобактерій утворюють ароматичну речовину диацетил, яка підвищує бактерицидну дію інших продуктів метаболізму і володіє інгібуючою дією на деякі патогенні мікроорганізми, наприклад на збудника туберкульозу. Біологічний ефект диацетила в поєднанні з низьким значенням рН сприяє зниженню швидкості росту ешеріхій і деяких грампозитивних кишкових бактерій, що не відносяться до лактобактерій.

Продуктами метаболізму лактобактерій є також біологічноактивні бактеріостатичні речовини, такі як бактеріюцини, лантабіотики і неідентифіковані субстанції.

Перше повідомлення про антимікробну речовину, продуковану *Lac. lactis* і *Lbm. bulgaricum*, було зроблене Роджерсом в 1928 р. Ця речовина, що пригнічує ріст стафілококів і стрептококів, була названа нізином. Іншу антимікробну субстанцію - диплококцин продукував *Lac. cremoris*. Надалі ці інгібуючі білки були названі бактеріюцинами. Вони характеризувалися вузьким спектром бактеріостатичної дії проти близькоспоріднених видів мікроорганізмів. Їх часто називають також антибіотиками.

За механізмом дії бактеріюцини близькі до антибіотиків, істотно відрізняються від них тим, що більшість бактеріюцинів інгібує обмежене число близькоспоріднених мікроорганізмів.

За фізико-хімічними характеристиками бактеріюцини є низькомолекулярними білками, які фіксуються на специфічних клітинних рецепторах більшості бактерійних клітин. В результаті цього порушуються процеси

транспорту через клітинну мембрану різних катіонів, знижується синтез ДНК. В деяких випадках бактеріоцини викликають лізис клітинних стінок, ущільнення ядерного матеріалу, часткову зміну рибосом і лизосом.

Бактеріоцини пригнічують ріст сальмонел, шигел, клостридій, листерій, синьогнійної палички.

Здатністю продукувати бактеріоцини володіють ацидофільні бактерії, лактококи, лейконостоки, стрептококи і педіококи.

Бактеріоцини ацидофільних паличок об'єднали терміном «Лантацин В», вони пригнічують синтез ДНК у ешеріхій, а лактацин, продукований *Lbm. helveticum*, обмежує синтез білків у мікроорганізмів. Деякі бактеріоцини пригнічують розвиток грибів роду *Aspergillus* і *Rhizopus*.

Окрім бактеріостатичної дії бактеріоцини стримують ріст пухлинних клітин.

Іншими бактеріостатичними продуктами метаболізму є антибіотикоподібні субстанції. На відміну від бактеріоцинів ці антибіотики менш чутливі до дії ферментів амілаз і протеїназ, вони містять амінокислоти, яких звичайно не має в бактеріоцинах. Ці антибіотичні речовини одержали назву лантабіотиків.

Окрім бактеріоцинів і лантабіотиків лактобактерій продукують неідентифіковані субстанції, що володіють бактеріостатичним ефектом. Це низькомолекулярні речовини *непептидної природи*, що проявляють свою активність у присутності кислоти або перекису водню. Вони інгібують розвиток сальмонел, шигел, клостридій, бацил, псевдомонад, стафілококів, стрептококів, біфидобактерій і бактероїдів.

Всі бактеріостатичні речовини водорозчинні, не мають смаку і запаху, неканцерогенні, неалергенні, активні в малих концентраціях.

Останнім часом виявлена антибіотикоподібна субстанція, продукована *Lbm. Reuter*, яка одержала назву «реутерин». Це комплекс нових типів метаболітів, який надалі об'єднали під назвою

«система реутерину». Широкий спектр інгібуючої активності і низька концентрація активної дози реутерину виводять його на перше місце серед інших бактеріостатичних речовин.

Окрім органічних кислот, вуглекислого газу, діацетилу і бактеріостатичних речовин, що інгібують патогенну і умовно- патогенну мікрофлору, лактобактерії виробляють безліч ферментів, коферментів, вітамінів і провітамінів, які в сукупності з основними продуктами метаболізму справляють біологічно активну дію на

організм господаря і сприяють підвищенню

його природної резистентності.

Внесення бактерій-пробіонтів може змінювати метаболічну активність ферментів макроорганізму. Так, активність нітроредуктази і бетаглюкоронідази в кишечнику може знизитися при вживанні добавок *Lbm. acidophilum* і живого йогурту. Ці ферменти беруть участь в синтезі або активації канцерогенів і таким чином справляють шкідливу тривалу дію на організм господаря.

Мікроорганізми травного тракту здатні гідролізувати сульфамати, амід, титрати; редукувати альдегіди, алкоголі; відновлювати нітрозамін. Бактерії травного тракту здатні інактивувати афлатоксини, інші мікотоксини і токсини рослин.

Пробіонти і кишкові мікроорганізми здатні до метаболізації багатьох лікарських препаратів. Встановлено, що бактерії-пробіонти володіють властивістю знешкоджувати бактерійні токсини. Зокрема, болгарська паличка нейтралізує ентеротоксин *E. coli*.

Доведена антимуутагенна роль нормальної кишкової мікрофлори. Окрім перерахованих ефективних механізмів, дії перспективного широкого використання пробіотиків обумовлені також відносно простою біотехнологією їх виробництва, яка зводиться до вирощування одного або декількох мікроорганізмів-пробіонтів на відповідних живильних середовищах з подальшим висушуванням культуральної рідини.

Крім білкових, вуглеводних, жирових і ферментних фракцій, що є у складі пробіотиків, велика частка біологічноактивних речовин припадає на різні вітаміни, особливо групи В, і тому пробіотики по суті є бактерійно-вітамінними препаратами і можуть вводитися до складу продуктів дитячого харчування і комбікормів з метою попередження захворювань і стимуляції росту дітей і молодняка тварин.

Патогенні коки

План

1. Стафілококи
2. Стрептококи.
3. Рід – Нейсерії
4. Гонококи.

Рекомендована література

1. Бортинічук В.А., Скибіцький В.Г., Ібатулліна Ф.Ж. Ветеринарна мікробіологія (практикум). Вінниця, «Нова книга», 2007. 239 с.
2. Демченко А.В., Бортнічук В.А., Скибіцький В.Г., Апатенко В.М. Ветеринарна мікробіологія та імунологія. К.: «Урожай», 1996. 368 с.
3. Скибіцький В.Г., Власенко В.В. Власенко І.Г., Мельник М.В., Ібатулліна Ф.Ж., Соломон А.М., Козловська Г.В. Мікробіологія молока та молочних продуктів. Вінниця, «Едельвейс і К», 2008. 412 с.
4. Скибіцький В.Г., Власенко В.В., Козловська Г.В., Ібатулліна Ф.Ж., Ташута С.Г., Мельник М.В. Ветеринарна мікробіологія. К.: ТОВ «Дорадо-Друк», 2012. 367 с.
5. Фаріонік Т.В., Бондар М.М. Методичні вказівки з дисципліни «Загальна мікробіологія та мікологія» до лабораторних занять для студентів освітнього ступеня «Бакалавр» денної форми навчання за спеціальністю 212 «Ветеринарна гігієна, санітарія і експертиза» Вінниця: ОЦ ВНАУ, 2018. 50с
6. Фаріонік Т.В., Бондар М.М. Методичні вказівки з дисципліни «Мікробіологія» до виконання лабораторних робіт для студентів освітнього ступеня «Бакалавр» денної форми навчання за спеціальністю 204 – «Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва» Вінниця: ОЦ ВНАУ, 2018. 49с.
7. Яблонський В.А., Яблонська О.В. Методологія і методи наукових досліджень у тваринництві та ветеринарній медицині: Навчальний посібник. Київ: 2014. 512 с.

1

Коки – широко поширені в природі кулясті бактерії. Переважна кількість шароподібних мікроорганізмів сапрофіти. Проте є і патогенні види. Останні викликають захворювання у людей та тварин. Патогенні коки належать до двох родів *Staphylococcus* та *Streptococcus*.

Стафілококи

Стафілококи – сферичні грампозитивні нерухливі бактерії, які відносяться до роду *Staphylococcus* родини *Micrococaceae*.

Стафілококи відкриті Пастером та А.Огетоном в 1880 році незалежно один від

одного. Детальніше їх вивчив та описав Ф.Розенбах в 1884 році.

У 1976 році Міжнародним комітетом з токсономії стафілококів офіційно затверджено три види: *S. aureus* (рис.1 та 2), *S. epidermidis* та *S. saprophyticus*.

Стафілококи мають важливе значення у інфекційній патології у людей та тварин, вони викликають фурункули, абсцеси, флегмони, остеомієліти, мастити, ендометрити, бронхіти, пневмонії, менінгіти, септицемію, ентероколіти, а також харчові токсикози.

Морфологія. Стафілококи мають кулясту форму діаметром 0,8 – 1,0 мкм, розміщуються різними за розміром скупченнями типу виноградного грона. В мазках із патологічного матеріалу розташовані по одинці, парами, короткими ланцюжками та невеликими скупченнями. Нерухливі, спор та капсул не утворюють. Добре фарбуються аніліновими фарбами, грампозитивні. У старих культурах окремі клітини фарбуються грамнегативно.

Культуральні властивості. Факультативні анаероби добре ростуть на простих середовищах у звичайних умовах. Додавання до поживних середовищ глюкози або крові прискорює ріст стафілококів. Характерна ознака більшості штамів – здатність рости за наявності 15% хлориду натрію або 40% жовчі. На МПА утворюють круглі випуклі колонії з рівними краями діаметром 2-5 мм. Утворюють пігмент. Найбільш інтенсивно пігменти синтезуються під час культивування стафілококів на агарі з 10% збірного молока (37⁰С) і на картоплі при температурі 20-25⁰С, в аеробних умовах на світлі. *S. aureus* синтезує золотистий або помаранчевий пігмент, проте зустрічаються і безпігментні штами, *S. epidermidis*, як правило синтезує білий або жовтий пігмент, у більшості штамів *S. saprophyticus* пігмент відсутній. Пігменти стафілококів із групи каротиноїдів не розчинні у воді, тому рідкі середовища залишаються безбарвними.



Рис. 1. Стафілококи. ЕМ.

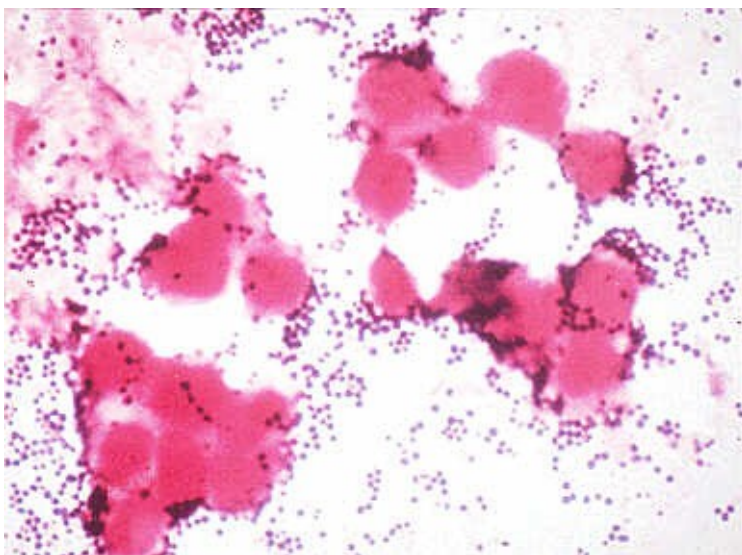


Рис. 2. Стафілококи в патологічному матеріалі (світлова мікроскопія).

Біохімічні властивості. Стафілококи ферментують з утворенням кислоти без газу: глюкозу, мальтозу, фруктозу, сахарозу, ксилозу, гліцерин, маніт і не розщеплюють дульцит, салицин, інουλін, крохмаль, зсїдають молоко, пептонізують казеїн, розрїджують желатин, утворюють сірководень, індол не продукують, відновлюють нітрати у нітрити; продукують каталазу, фосфатазу, уреазу; патогенні штами – аргїназу.

Токсинутворення. Патогенні стафілококи синтезують високоактивні екзотоксини та ферменти. Серед екзотоксинів розрізняють чотири типи гематоксинів (стафілолізинів), лейкоцидин і ентеротоксини. До гематоксинів відносяться альфа, бета -, гамма -, і дельта - гемолізини.

Альфа – гемолізін викликає лізис еритроцитів овець, свиней, собак, володіє летальним та дермoneкротичними властивостями, руйнує лейкоцити, лізує тромбоцити.

Бета – гемолізін лізує еритроцити людини, овець, великої рогатої худоби, є летальним для кролів.

Гамма – гемолізін виявляють у штамів стафілококів виділених від людини. Його біологічна активність низька.

Дельта – гемолізін обумовлює лізис еритроцитів людини, коней, овець, кролів, руйнує лейкоцити.

Усі стафілококові гемолізини – мембрано токсини: вони здатні лізувати мембрани клітин еукаріотів.

Лейкоцидин негемолітичний екзотоксин, викликає дегрануляцію і руйнує лейкоцити.

Ентеротоксини – термостабільні поліпептиди, утворюються при розмноженні ентеротоксигенних стафілококів у поживних середовищах, харчових продуктах (молоко, сир та ін.), кишечнику. Стійкі до дії шлункових ферментів. Ентеротоксини викликають харчові токсикози переважно у людини. До них чутливі також тварини (коти, собаки).

До факторів патогенності стафілококів відносять також ферменти (коагулазу, гіалуронїдазу, фібринолізин, ДНК – азу, лецитиназу та ін.) Коагулаза – бактерїальна

протеаза, яка коагулює плазму крові, пригнічує фагоцитоз. Наявність коагулази є важливим і постійним критерієм (ознакою) патогенності стафілококів. Гіалуронідаза – розщеплює гіалуронову кислоту і цим сприяє поширенню мікробів у тканинах. Фібринолізин – здатний розчиняти згусток фібрину після коагуляції плазми.

Антигенна структура. У стафілококів вивчені антигени клітинної стінки: пептидоглікан, тейхоеві кислоти та білок А. Пептидоглікан загальний видовий для стафілококів антиген. Тейхоеві кислоти – видоспецифічні полісахаридні антигени. *S. aureus* містить рибитолтейхоеву кислоту (полісахарид А), *S. epidermidis* – глицеринтейхоеву кислоту (полісахарид В.). Протеїн А виявлений у золотистого стафілокока. Це низькомолекулярний білок, має властивості з'єднуватися з Fc – фрагментами IgG ссавців. Штами, які інтенсивно продукують білок А, надзвичайно резистентні до фагоцитозу. У мукоїдних штамів золотистого стафілокока виявлено капсульний поліпептидний антиген. Типоспецифічних антигенів у стафілококів виявлено близько 30, частина їх – білки, інші – полісахариди. У непатогенних стафілококів присутні полісахаридні комплекси В і С. Активними антигенами є також ентеротоксини, серед яких розрізняють кілька сероварів (А, В, С, Д та Е).

Резистентність. Стафілококи відносно стійкі мікроорганізми. Прямі сонячні промені вбивають їх протягом декількох годин. У пилу стафілококи зберігаються 50-100 днів, добре переносять висушування. У гною можуть виживати до 200 днів.

У рідких середовищах при нагріванні до 70-80°C гинуть через 20- 30 хв., при 100°C – за кілька секунд, сухий жар вбиває їх протягом 2 годин.

Формалін 1%-ний та 2% - ний розчин гідроксиду натрію інактивують стафілококи протягом 1 години, 1%-ний розчин хлораміна

– через 2-5 хв. Абсолютний алкоголь не діє на стафілококи, проте 50%

- ний його розчин знищує їх через 10 хв. Стафілококи чутливі до ряду фарбників, зокрема кристалічного фіолетового, малахітового зеленого та інших.

Стафілококи чутливі до бензинпеніциліну, полусинетичним пеніцилінам, стрептоміцину, левоміцетину, тетрацикліну і до інших антибіотиків, а також нітрофуранових препаратів. Проте зустрічаються штами, які проявляють резистентність до 5-10 і більше антибіотиків. Вважають, що в основі антибіотикорезистентності лежить мутаційно-селекційний процес. Резистентність до антибіотиків у стафілококів контролюється також R-плазмидами. Стафілококи, які синтезують пеніциліназу (В-лактамазу), здатні інактивувати деякі пеніциліни. До сульфаніламідів стафілококи стійкі.

Патогенність. Основна роль у інфекційній патології тварин та людини належить до *S. aureus*. Збудники стафілококової інфекції можуть бути також *S. epidermidis* та *S. saprophyticus*. Основними факторами патогенності стафілококів – є здатність їх продукувати екзотоксини та ферменти коагулазу, фібрінолізин і гіалуронілазу.

Пігментоутворення та розщеплення вуглеводів не можуть бути критерієм патогенності стафілококів.

До стафілококів чутливі коні, велика рогата худоба, дрібна рогата худоба, свині, качки, гуси, індики, кури, із лабораторних тварин – кролі, білі миші, котеняти. При внутрішньошкірному введенні кролям культури патогенних стафілококів розвивається запалення, некроз шкіри, при внутрішньовенному введенні фільтрату

культури у кролів настає інтоксикація і загибель тварини через кілька хвилин.

В організм стафілококи проникають через пошкоджену шкіру та слизові оболонки, ентеротоксини аліментарним шляхом. Механізм розвитку інфекційного процесу при стафілококовій інфекції в значній мірі залежить від стану природної резистентності організму та вірулентності збудника. В одних випадках можуть виникати місцеві ураження у вигляді фурункулів, абсцесів, в інших – розвивається загальний септичний процес з утворенням гнійників у внутрішніх органах або харчові токсикози. У патогенезі стафілококової інфекції значну роль відіграють екзотоксини L – токсин (гістотоксин) має гемолітичну, дермoneкротичну і летальну активність. Летальний токсин здатний уражати центральну нервову систему. В – токсин має білкову природу, термолабільний, викликає гемоліз еритроцитів, некроз у тканинах та має летальні властивості.

Ентеротоксини сероварів А, В, С, Д та Е. – типові білкові сполуки з молекулярною масою 30-35 тис. дальтон, стійкі до протеолітичних ферментів типу трипсину, хемопсину, папаїну. При вживанні людьми продуктів, що містять ці токсини, особливо молоко від маститних корів, через 1-6 годин виникає блювання і діарея, розвиваються судоми, дещо підвищується температура тіла, знижується кров'яний тиск, спостерігається загальна слабкість.

Під впливом лейкоцидинів руйнуються лейкоцити. В процесі боротьби з цими мікробами розвивається локальне запалення, у вогнищі якого гинуть фагоцити, що призводить до утворення гною.

Лабораторна діагностика. Для дослідження в лабораторію надсилають гнійний ексудат ран, проби молока які відбирають від корів з гнійно-катаральними маститами, гній фурункулів, абсцесів, флегмон, виділення з статевих органів при ендометриті, кров з яремної вени при септицемії.

Із патологічного матеріалу готують мазки, які фарбують за Грамом, мікроскопують. Звертають увагу на присутність у препаратах невеликих скупчень, коротких ланцюжків коків діаметром 0,7-1 мкм. Пряма мікроскопія дає підстави для попереднього діагнозу. Одночасно проводять посів із патологічного матеріалу на звичайні поживні середовища, на чашки з кров'яним, молочно-сольовим та жовтково-сольовим агаром. Патогенні штами на кров'яному агарі утворюють зону гемолізу навколо колоній. На чашках з молочно-сольовим агаром враховують утворення пігменту. На жовтково-сольовому агарі більшість патогенних стафілококів утворюють навколо колоній зони помутніння. Для одержання чистої культури із характерної колонії відсівають на МПА. Чисту культуру мікроскопують після чого ставлять реакцію плазмокоагуляції з цитратною плазмою крові кроля. При наявності коагулази плазма звертається. Додатково визначають ДНК-азу й здатність розщеплювати маніт в анаеробних умовах.

Виявляють також наявність летальної дермoneкротичної дії на лабораторних тваринах. Фільтратом добової культури внутрішньовенно і внутрішньошкірно заражають кролів. При наявності у фільтраті токсину летальної дії тварина гине через декілька хвилин, а при наявності некротоксину на шкірі протягом 24 годин утворюється інфільтрат та настає некроз тканин.

S. aureus. відрізняється від інших видів тим, що ферментує маніт у анаеробних умовах. Патогенні стафілококи володіють гемолітичною, лецитиназною активністю,

здатні коагулювати плазму, викликають некроз шкіри руйнують ДНК.

Одержану культуру при необхідності фаготипують. Набір стафілококових фагів налічує 22 типа, які розподілені на 4 групи. Ентеротоксини у харчових продуктах і культурах визначають в РДП використовують стафілококові антисироватки до ентеротоксинів А, В, С, Д, Е та F. Визначають також чутливість виділених штамів до антибіотиків.

Імунітет. У здорових тварин є природна резистентність до стафілококової інфекції. Вона обумовлена бар'єрною функцією шкіри, слизових оболонок фагоцитозом і наявністю специфічних факторів імунітету субіmunізуючою інфекцією.

Імунітет при стафілококових інфекціях антитоксичний, малонапружений і нетривалий. Тому не виключені рецидиви, але високі титри антитоксинів у крові тварин підвищують їх стійкість до захворювань. Антитоксини не лише нейтралізують екзотоксини, але і обумовлюють швидку мобілізацію фагоцитів. Для створення штучного імунітету готують стафілококовий анатоксин додаванням до токсину 0,3% формаліну і витриманням у термостаті при 37⁰С протягом 28 днів.

Анатоксин одержують гіперіmunізацією тварин стафілококовим анатоксином і застосовують для створення пасивного імунітету. Ефективнішим у цьому відношенні є протистафілококовий гамма- глобулін. Готують інколи аутовакцину - прогріту при 70 - 75⁰С змив агарової культури стафілокока, виділеною з матеріалів отриманих від хворої тварини.

2

Стрептококи.

Стрептококи (*Streptococcus*) вперше виявили в 1869 році Чозе і Фельтц у крові жінок, які хворіли на післяродову гарячку. У 1874 році Білрот виявив стрептококи в гнійному ексудаті при бешиховому запаленні. Л. Пастер 1879 році і А.Огстон в 1881 році описали при сепсисі чисту культуру стрептококів виділяли Ф.Фелейзен (1883 р.) і А.Розенбах (1884 р.).

Патогенні стрептококи у тварин і людини заселяють шкіру та слизові оболонки, проявляють патогенність при зниженні резистентності організму тварин.

У ветеринарній патології стрептококам належить важливе місце як збудникам специфічних маститів у корів, миту у однокопитних, вони ускладнюють перебіг катаральних процесів до гнійно- катаральних, особливо при ендометритах у корів, є збудниками секундарної інфекції при деяких вірусних і бактеріальних хворобах. У багатьох видів тварин і птиці викликають септичне захворювання – стрептококоз.

Збудник стрептококозу належить до роду *Streptococcus* і нараховує 17 серологічних груп які позначаються великими літерами латинського алфавіту.

За гемолітичною активністю стрептококи поділяють на три групи.

1. Альфа – стрептококи – утворюють зону позеленіння навколо колоній. Істинний гемоліз відсутній, зелена зона утворюється завдяки гемоглобіну без розпаду еритроцитів (гемометоморфоз).

2. Бета – стрептококи – викликають звичайний гемоліз із зоною просвітлення навколо колоній.

3. Гамма – стрептококи - не викликають гемолізу.

У інфекційної патології мають значення серогрупи А,В,С,Д,Е та F.

Група А – збудники інфекцій у людини;

Група В – збудники мастита та уrogenітальних інфекцій у корів;

Групи В,С,Д,Е – збудники інфекцій у різних видів тварин. Антигеном який дозволяє диференціювати стрептококи на серогрупи - полісахарид (С - речовина),що знаходиться у клітинній стінці стрептококів.

Хімічна природа стрептококових антигенів неоднакова. До групи А відносяться білкові антигени М,Р,Т.

М – антиген є звичайним протеїном і відповідає за вірулентність та імуногенність. У складі капсули окремих штамів серогрупи А і С міститься гіалуронова кислота.

О – антиген термолабільний, виявляється лише у живих культурах стрептококів. Фракції С і Р, як комплексні антигени, знайдені у окремих типів стрептококів.

Патогенні стрептококи продукують екзотоксини. Гемолізін різної дії обумовлює руйнування еритроцитів, лейкоцитів, тромбоцитів, макрофагів; при внутрішньовенному введенні кролям викликає гемоглобінемію та гематурію. Лейкоцидин руйнує лейкоцити або пригнічує фагоцитарні властивості.

Летальний токсин (некротоксин) при внутрішньошкірному введенні викликає некроз шкіри. Патогенні стрептококи продукують ферменти гіалуронідазу, фібрінолізин, дезоксирибонуклеазу, рибонуклеазу, нейрамінідазу, протеазу, стрептокінідазу, амілазу, ліпазу, а також термостабільні ендотоксини. Термолабільні ендотоксини – гемолізін інактивується при температурі 55⁰С лейкоцидин при – 70⁰С, протягом 30 хв. Фібринолізин не руйнується при кип'ятінні до 50 хв.

Збудник миту.

Збудник миту – *Str. equi* – вперше виявлений Рівольтом у 1873 р. і описаний Шютцем в 1888р. Мит – контагіозна хвороба коней, переважно лоша́т (до двох років), хворіють також осли, мули, лошаки у віці від 6 міс. до 3-5 р., характеризується катарально-гнійним запаленням носоглотки слизових оболонок верхніх дихальних шляхів і ураженням заглиткових, підщелепних лімфатичних вузлів.

Морфологія. *Str. equi* грампозитивні коки, в мазках із гною довгі ланцюжки (по 25-100 і більше коків). У мазках із органів зустрічаються переважно диплококи і монококи. В мазках із агарової і бульйонної культури збудник має вигляд коротких ланцюжків. Діаметр клітин коливається у межах 0,5-1,0 мкм. Морфологічною особливістю збудника є те, що клітини в ланцюжках стиснуті з полюсів (мають вигляд зерна сечовиці). Збудник нерухливий, не утворює спор. Капсулу можна виявляти лише протягом перших 6-10 годин культивування, пізніше вона розпадається під впливом гіалуронідази, яку продукує сам мікроб.

Культуральні властивості. Для виділення чистої культури проводять посів на сироватко – глюкозний агар. Через 24 години на агарі митний стрептокок утворює дрібні, прозорі, росинчасті сірувато- білі колонії.

Збудник росте в аеробних і анаеробних умовах. На кров'яному агарі формує дрібні колонії. Формує навколо колоній - зону В- гемолізу. На сироватковому бульйоні і середовищі Кітт-Тарацці росте, утворюючи дрібні крупинки, які вистилають дно і стінки пробірки, бульйон залишається прозорим.

Біохімічні властивості. Str.egui ферментує до кислоти без газу сахарозу, мальтозу, глюкозу, галактозу і не ферментує лактозу, сорбіт, манніт. Антигенна структура Str. egui відноситься до серогрупи С. Збудник містить полісахарид С, синтезує екстрацелюлярні антигени (токсини), О-стрептолізин (білок) і S – стрептолізин (ліпідно- протейновий комплекс).

Резистентність. Нагрівання до 70-75⁰С знищує збудник за 1 годину, кип'ятіння – миттєво. У гною зберігається до 6 міс. Прямі сонячні промені знищують мікроб протягом 6-8 годин, дезінфікуючі розчини - через 10-25 хвилин.

Патогеність. Стрептококи, які потрапили на слизову оболонку носа, лімфатичним шляхом досягають підщелепних лімфатичних вузлів, викликають запалення слизових оболонок - спочатку серозне, а потім слизово-гнійне. Якщо вхідними воротами інфекції була шкіра, виникають абсцеси, флегмони або сепсис; при внутрішньовенному введенні збудника розвивається смертельна піємія, при інтравагінальному – гнійний вагініт, але не мит.

Діагностика. В лабораторію направляють патологічний матеріал: пунктати із абсцесів лімфатичних вузлів, гній, ексудат, носові виділення. Після загибелі тварин відбирають шматочки печінки, селезінки, кров із серця, легені, гній з абсцесів лімфатичних вузлів.

Дослідження проводять за загальноприйнятою схемою: мікроскопія мазків, виділення чистої культури та постановка біопроби. Виготовлені з патологічного матеріалу мазки фарбують за Грамом. Митний стрептокок у мазках із гною має вигляд довгих ланцюжків, у препаратах з крові і внутрішніх органів зустрічаються поодинокі, парні коки або короткі ланцюжки.

Для виділення чистої культури збудника із патологічного матеріалу здійснюють посіви на глюкозно-сироватковий МПБ, МПА, кров'яний МПА, збагачений глюкозою (1%).Інкубують в аеробних умовах при 37⁰С. Враховують характер росту, а також звертають увагу на наявність в мазках із бульйонних культур ланцюжків різної довжини типу дипло -, стрептококів, а в мазках із МПА – поодиноких коків або коротких ланцюжків.

При ідентифікації культур, крім характерної форми клітин, враховують той факт, що митний стрептокок не культивується на середовищах із 40% жовчі, не змінює колір молока з метиленовим синім, не зброджує лактозу, сорбіт і манніт, але ферментує до кислоти без газу глюкозу і мальтозу.

Біологічну пробу ставлять при негативному або сумнівному результатах мікроскопії препаратів. Гноєм із абсцесів лімфатичних вузлів або 18-20 годинною бульйонною культурою заражають підшкірно двох білих мишей живою масою 13-15 г. У позитивних випадках миші гинуть через 2-7 днів після зараження.

Диференціація. Виділену культуру стрептокока можна ідентифікувати за допомогою митного антивірусу. При атиповій формі мита ставлять РСК з митним антигеном.

Імунітет. Тварини, які переохворіли на мит, набувають стійкий імунітет, практично позитивний. Штучна імунізація не дає бажаних результатів. Для лікування миту застосовують антивірус який є фільтром 20-добової бульйонної культури *Str. equi*, виготовлений із місцевих штамів стрептококу. Хворим тваринам вводять препарат підшкірно в дозі 50-100 мл.

Збудники стрептококозу тварин

Стрептококоз – інфекційна хвороба багатьох видів тварин. Захворювання характеризується підвищенням температури, пригніченням, набряками, артритами, діареєю.

Збудники хвороби – *Streptococcus pyogenes*, *Str. mastitis*, *Str. disagalactiae*, *Str. pneumoniae* та інші.

Морфологія. Стрептококи мають кулясту, розміщуються ланцюжками різної довжини (рис. 3). Діаметр клітин 0,5 – 1 мкм, не рухливі, не утворюють спор, фарбуються позитивно за Грамом.

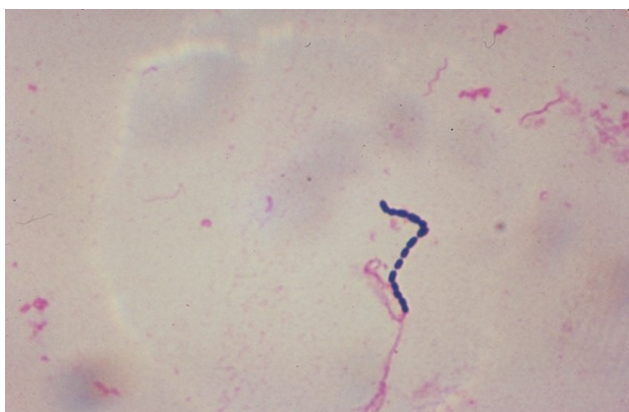


Рис. 3. Стрептококи в патматеріалі (світлова мікроскопія).

Стійкість. Добре переносить висушування. У гнійному ексудаті зберігається 2-3 міс. при нагріванні до 85°C залишаються живими 30 хв. Заморожування їх консервує 3% - ний розчин гідроглориду натрію, 1% - ний формалін знищує стрептокок протягом 10-15 хв.

Патогенез. Патогенність стрептокока у багатьох відношеннях пояснюється їх здатністю виділяти ряд екзотоксинів і ферментів (еритротоксин, гемолізін, некротоксин, лейкоцидин, фібринолізин, гіалуронідаза), які мають значення при розвитку запального процесу в місцях вторгнення мікроба в організм. Запалення із катарального переходить в гнійне, чим пояснюється, зокрема виникнення гнійно-катаральних маститів.

Діагностика. В лабораторію для дослідження надсилають молоко із ураженої частки вим'я.

Із матеріалу готують мазки, фарбують їх за Грамом. У препаратах із гною

знаходяться типові ланцюжки різної довжини.

Для виділення маститного стрептокока висівають на МПБ з додаванням 1% глюкози і 10% інактивованої сироватки крові коня, а також на МПА з глюкозою і дефібриною кров'ю барана або коня. Отриману культуру ідентифікують з врахуванням морфологічних, культуральних, гемолітичних властивостей та за антигенною структурою, яку вивчають за допомогою реакції дифузійної преципітації в агаровому гелі або методом флуоресціюючих антитіл із специфічними сироватками.

Біопробу при діагностиці маститу проводять на білих мишах, яких заражають виділеною культурою з метою підтвердження патогенності. У позитивних випадках миші гинуть через 1-2 доби.

Імунітет. Обумовлений антитоксичними та антибактеріальними факторами. Біопрепарати. Для лікування застосовують антибіотики та сульфаніламідні препарати.

Збудник диплококової інфекції (Streptococcus). Стрептококова септицемія, диплококова пневмонія – бактеріальна хвороба молодняку, характеризується септицемією, ураженням печінки, суглобів, пуповиноного канатика і кишковика *Str. pneumoniae* був виділений в 1871 р. Л.Пастером із слини дитини померлої від сказу. Чисту культуру пневмокока одержали у 1886р. Френкель і Вексельбаум, які встановили роль пневмокока в етіології крупозної пневмонії.

Збудник захворювання відноситься до родини Streptococcaceae, роду Streptococcus і має 40 видів. У новонароджених пуповину інфекцію викликає гемолітичний *Str. zooepidermicus* групи C, стрептококову пневмонію телят і поросят – *Str. pneumoniae* (*Diplococcus lanceolatus*), лімфаденіти, артрити і абсцеси у тканинах різні групи стрептококів (C, D, E та L).

Пневмококи широко розповсюджені у природі, у здорових тварин виявляють на слизових оболонках дихальних шляхів, травного тракту, статевих органів. У корів, овець, свиней, кіз, коней в зв'язку порушення зоотехнічних норм утримання і неповноцінної годівлі у період вагітності після пологів пневмококоносійство переходить у клінічне захворювання – розвиваються мастити і ендометрити.

Телята, ягнята, поросята заражаються від матерів і стають джерелом інфекції для інших тварин. Зараження відбувається через шлунково – кишковий тракт і дихальні шляхи.

Морфологія. В мазках із патологічного матеріалу стрептококи овальної форми і розташовані попарно або короткими ланцюжками. При хронічних процесах клітини мають форму диплострептокока. Розмір клітин 0,8 – 1,25 мкм. Нерухливі, спор не утворюють. В організмі та поживних середовищах із сироватки крові або кров'ю пневмококи утворюють капсулу.

Культуральні властивості. Пневмококи ростуть в аеробних і анаеробних умовах при 36-38⁰С. На МПА утворюють дрібні, прозорі колонії з блакитним відтінком, на МПБ – помутніння; на сироватковому агарі дрібні прозорі колонії у вигляді краплі роси; на кров'яному агарі дрібні колонії із зоною гемолізу (зелена зона).

Біохімічні властивості. Ферментують до кислоти глюкозу, лактозу, сахарозу, маніт; неферментують арабінозу і дульцит, не утворюють пігмент та індолу.

Антигенна структура. У пневмокока виявлено нуклеопротейновий антиген який розташований у цитоплазмі клітини. Ближче до поверхні клітини знаходиться видоспецифічний соматичний полісахаридний С- антиген. На поверхні цитоплазми знаходиться типоспецифічний протеїновий М-антиген.

Всередині виду *Str. pneumoniae* є 84 серовара, аглютинуючих тільки відповідними типовими сироватками.

Резистентність. У зовнішньому середовищі залишаються живими протягом 3-4 тижнів. При нагріванні до 70°C гинуть через 1 годину, в молоці через 30 хв при температурі 85°C. Добре переносять висушування, тривалий час зберігаються в гною. Заморожування їх консервує. Робочі розчини дезинфікуючих речовин, особливо формаліну, їдкого натру знищують пневмокока через 10-15 хв.

Патогенність. Найбільш чутливі до пневмокока білі миші і кролі. Патогенні пневмококи для великої рогатої худоби і дрібної рогатої худоби, собак, щурів.

Діагностика. В лабораторію для дослідження надсилають трупи мертвих тварин або паренхіматозні органи, трубчасту кістку, суглоби, кров серця, головний мозок. Із патологічного матеріалу готують мазки, фарбують за Грамом, виділяють чисту культуру і ставлять біопробу.

Біопробу ставлять на білих мишах, заражають їх внутрішньочеревно або підшкірно. При позитивному випадку гинуть через 16-48 год.

Імунітет.

Серологічний метод. Стрептококові антигени у крові виявляють в реакції зв'язування комплемента з сироватками кролів. Визначають наявність антигіалуронидази і анти – О – Стрептолізина у крові для діагностики нефриту. О – стрептолізин володіє здатністю лизувати еритроцити кролів. В присутності антитіл (анти – О - стрептолізин) в сироватці відсутній лізис еритроцитів.

Для типізації диплококів використовують реакцію аглютинацію і метод імуофлюоресценції, який дозволяє виявляти стрептококи у змішаній популяції мікроорганізмів, якщо цю популяцію обробляють флуорисціюючою антисироваткою до стрептококів.

Біопрепарати. Для специфічної профілактики диплококової інфекції застосовують напіврідку формолвакцину, протидиплококову сироватку, полівалентну формолвакцину проти сальмонельозу, пастерельозу та диплококозу поросят.

При лікуванні хворих тварин застосовують антибіотики широкого спектру і сульфаніламідні препарати.

3

Рід – Нейсерії

Основними представниками цього роду є збудники менінгококової інфекції і гонореї людини та нейсеріозу птахів. У цей рід включені також непатогенні представники, що зустрічаються в порожнині рота, носоглотки, верхніх дихальних шляхів. Як правило, це парно розположені коки, але можуть утворювати і скупчення. Всі нейсерії грамнегативні. Спор не утворюють, джгутиків не мають.

Аероби або факультативні анаероби. В організмі утворюють капсулу, мають пілі або мікрворсинки, що обумовлюють адгезію мікробних клітин до епітелію. Кожен вид цього роду вибірково ферментує вуглеводи.

Neisseria meningitidis — збудник менінгококової інфекції. Вперше цей вид бактерій був відкритий Вексельба-Розумом в 1887 р., хоча згадки про епідемії менінгіту зустрічаються в працях старогрецьких лікарів.

Морфологічні і культуральні властивості.

Менінгококи — дрібні диплококи (0,7—0,8 мкм), в мазках нагадують кавові зерна. Нерухомі, спор не утворюють, грамнегативні, добре ростуть на живильних середовищах з вмістом крові, молока або яєчного жовтка. Як джерело вуглецю і азоту менінгококи використовують амінокислоти — аспарагін, глютамін, гліцин .. Підвищена концентрація вуглецю стимулює ріст менінгококів.

Резистентність. У зовнішньому середовищі менінгокок нестійкий.. При температурі 55°C гине через 3—5 хв. Погано переносить охолодження. При низькій температурі втрачає здібність до утворення колоній. Чутливий також і до ультрафіолетового опромінення, дезинфікуючих розчинів. У 1 %-ному розчині карболової кислоти гине протягом 1 хв., під дією 1 % -ного розчину хлораміну, та 70°-го спирту гине за такий же період.. Менінгококи чутливі до антибіотиків тетрациклінового ряду, еритроміцину і ін.

Епідеміологія. Основне джерело менінгококової інфекції — хвора людина або бактеріоносій. Збудник передається повітряно- краплинним дорогою. Вхідними воротами бактерій є носоглотка, де збудник може тривало існувати, не викликаючи захворювання (носійство). Менінгококи зустрічаються на слизових оболонках носоглотки в 5—10% здорового населення. Для менінгококової інфекції характерна циклічність захворюваності. Відмічені підйоми захворюваності кожні 10—12 років. Найбільш сприйнятливі до цієї інфекції діти до трьох років..

Патогенез. Основним чинником патогенності менінгококів є капсула, яка захищає їх від кліток фагоцитів. З слизової оболонки носоглотки збудник поширюється далі по лімфатичних і кровоносних судинах. Менінгококова бактеріємія супроводжується масовою загибеллю збудників і виділенням ендотоксину . Як правило, менінгіт розвивається на тлі вірусних інфекцій (грип, ОРВІ), а також при зниженні захисних сил організму. По кровоносних судинах збудник проникає в оболонки спинного і головного мозку і викликає в них гнійне запалення — менінгіт.

Клінічні прояви. Інкубаційний період менінгіту — 2—7 днів. Менінгіт починається гостро. Підвищується температура тіла, спостерігається блювота, судом, дуже сильний головний біль, при якому навіть боляче моргнути або просто обернути голову. Захворювання триває кілька тижнів. Інколи розвивається менінгококовий сепсис. Після перенесеного захворювання у людини створюється дуже стійкий, тривалий імунітет. Неспецифічна профілактика цього захворювання зводиться до дотримання санітарно-протиепідемічного режиму в місцях великого скупчення людей.

Neisseria gonorrhoeae — є збудником венеричного захворювання — гонореї.

Морфологічні і культуральні властивості. Гонокок був відкритий в 1879 р. Нейссером. Це парно розположені коки, нагадують кавове зерно, нерухомі, утворюють капсулу. Для гонококів характерний поліморфізм: зустрічаються дрібні і крупні клітини, а також паличкоподібні форми. Добре фарбуються аніліновими фарбниками, грамнегативний, але можуть зустрічатися і грам позитивні коки. Аероби. Оптимальний показник для росту та розмноження знаходиться в межах 7,2— 7,4. Вимогливий до живильних середовищ. Для культивування застосовують сироватковий, асцитичний або кров'яний агарі. На кров'яному агарі гемолізу не викликають.

На щільних середовищах гонококи утворюють дрібні колонії. При рості на рідких середовищах обумовлюють дифузне помутніння та утворення плівки на поверхні. .

Резистентність. Гонококи малостійкі в зовнішньому середовищі. При 40°C гинуть через 3—6 годин, при 56°C — протягом 5 хвилин. Не переносять охолодження. Тому посів слід проводити відразу після забору матеріалу від хворого. Високочутливий до пеніциліну.

Епідеміологія. *Neisseria gonorrhoeae* патогенна лише для людини. Джерело інфекції — хвора людина. Основний шлях передачі — статевий, можливе інфікування плоду при проходженні через родові шляхи матері. Таким шляхом гонококи можуть потрапити в кон'юнктивальний мішок ока новонародженого і викликати там запалення (бленорея). Можливо також зараження гонококом через кров, узятую від інфікованих осіб на ранньому етапі захворювання (що трапляється у край рідко). У людини гонокок колонізується на епітелії сечовипускального каналу, прямої кишки, кон'юнктиви, шийки матки, маткової труби і яєчника. Гонокок потрапляє на слизові оболонки сечостатевих шляхів, там посилено розмножується і проникає в слизову та підслизовий шар. Цьому сприяє висока вірулентність штаму та низька резистентність організму. Гонококи фагоцитуються лейкоцитами, розмножуються в них і не перетравлюються (незавершений фагоцитоз).

Специфічна профілактика не проводиться.

Нейсерфоз птахів - інфекційна хвороба дорослих птахів (гусей, качок. Індиків, курей) . Характеризується серозно-катаральним та фібринозно-некротичним запаленням клоаки і репродуктивних

органів. Захворювання реєструється на території Європи, Азії та Америки. Задає значних економічних збитків, із-за зниження продуктивності, запліднюваності та загибелі чи вибраковки хворих птахів.

Збудник *Neisseria species*

Морфологія. В мазках з патологічного матеріалу має вигляд коків, розташованих поодинокі, попарно чи групами (тетрадами), інколи у вигляді коротких ланцюгів. Спор і капсул не утворюють, нерухливі.

Культуральні властивості. Факультативний анаероб. росте в аеробних та в анаеробних умовах. Легко культивується на простих живильних середовищах (МПБ, МПА) . Не росте в присутності 6% хлориду натрію.

На агарі різні штами утворюють неідентичні колонії - слизькі білі або ж сірувато-білі, деякі з жовтуватим відтінком колонії

У МПБ обумовлюють дифузну каламуть та утворення ніжної плівки на поверхні середовища.

Ферментативна активність добре виражена. Більшість штамів ферментують глюкозу, сахарозу, лактозу, мальтозу, фруктозу.

Практична частина техніка збору матеріалу від хворого для бактеріологічного дослідження. Відбір матеріалу для лабораторного дослідження визначається локалізацією патологічного процесу, особливостями патогенезу хвороби і біологічними властивостями збудника. Успіх бактеріологічного дослідження залежить від правильності забору матеріалу. Патологічний матеріал для бактеріологічного дослідження рекомендується брати у хворого до початку специфічного лікування, оскільки під впливом

сульфаніламідів, антибіотиків, імунної сироватки і інших лікувальних засобів патогенні мікроби змінюються і втрачають здібність до зростання на штучних живильних середовищах. Узяття слизистого відокремлюваного порожнини носа. При узятті матеріалу із слизистих оболонок носа, шкіру в колі зовнішніх отворів носа протирають ватою, змоченою 60° спиртом. Після цього тампон вводять углиб порожнини носа і знімають слиз із стінки носової перегородки. Забирати матеріал з різних ніздрів можна одним тампоном. Узяття слизу тампоном із слизистих оболонок зіву, хворий повинен широко відкрити рот. Корінь язика придавлюють шпателем. Мову прагнуть придавити донизу і присунути наперед. Тампон в порожнину рота вводять правою рукою, не торкаючись поверхні язика, що містить рясну мікрофлору. Знімаючи наліт і слиз з мигдалин, дужок м'якого піднебіння і задньої стінки глотки, звертають увагу на видимі змінені ділянки слизистої оболонки. Узяття мокроти для мікробіологічного дослідження. Для бактеріологічного дослідження уранішню порцію мокроти, що виділяється під час нападу кашлю, збирають в стерильну склянку з добре підбраною пробкою. У дітей, які не уміють відкашлювати мокроту, штучно викликають кашель, дратуючи корінь язика тампоном. Взяття випорожнювань для бактеріологічного дослідження. Випорожнювання збирають в стерильні картонні тарілки або в подкладніє судна і емальовані лотки, заздалегідь незаражені розчином хлорного вапна і потім багато разів промиті гарячою водою. Стерильним дерев'яним шпателем з різних місць отриманої порції калу відбирають 1—2 г випорожнювань, поміщають їх в пробірки або склянки з пробками, що добре закриваються. За наявності патологічних включень (слиз, гній) останні обов'язково вносять до

посівного матеріалу. Патогенні коки: стафілококи, стрептококи
Стафілококи Матеріал для дослідження:

- 1) гній з осередків ураження при гнійничкових захворюваннях шкіри фурункулах і т. д.;
- 2) кров при підозрінні на сепсис;
- 3) слизисте відокремлюване зіву і носоглотки при захворюваннях верхніх дихальних доріг;
- 4) мокрота при пневмонії;
- 5) блювотні маси і промивні води шлунку. Мікробіологічна

діагностика стафілокока в лабораторії для діагностики стафілококових захворювань використовують бактеріологічний метод дослідження — посів патологічного матеріалу на живильні середовища.

1-й день.

1. При дослідженні гною відкритих ран, мокроти краще всього користуватися жовтково-сольовим агаром Чистовіча або молочно-сольовим агаром. Для засіву сольових середовищ береться велика кількість матеріалу, який втирають в поверхню середовища шпателем.

2. При посіві гноїв з абсцесів, що не розкрилися, можна користуватися звичайним м'ясопептонним або 3% кров'яним агаром. Досліджуваний матеріал наносять на живильне середовище в кількості 1—2 крапель і потім розподіляють по всій поверхні чашки. Інкубація посівів при температурі 37°C триває 18—24 години.

2-й день. Переглядають посіви досліджуваного матеріалу на МПА, молочно-сольовому, жовтково-сольовому і кров'яному агарі. Колонії стафілокока на щільних живильних середовищах круглі,

злегка опуклі, з рівними краями. За кольором колонії можуть бути емалево-білими, лимонно-жовтими або золотистими. На кров'яному агарі довкола колоній стафілокока може виявлятися гемоліз. З колоній з типовими для стафілокока ознаками роблять мазок для фарбування по Граму. За наявності стафілококів під мікроскопом видно характерні гроноподібні скупчення коків, забарвлених по Граму позитивно.

3-й день. Переглядають посіви, зроблені напередодні. По характеру зростання на кров'яному агарі стафілококи можуть бути розділені на три групи. Гемолітично активні стафілококи утворюють протягом 18—20 годин чітку зону гемолізу (агар стає абсолютно прозорим, безбарвним) шириною 2—3 мм. Слабо гемолітичні стафілококи викликають неповне прояснення агару з шириною зони 1—1,5 мм. Негемолітичні стафілококи не змінюють кров'яного агару.

4-й день. З культур, що вирости на скошеному м'ясопептонному агарі, після попередньої перевірки на чистоту, ставлять реакцію плазмокоагуляції. Техніка постановки реакції плазмокоагуляції В стерильну преципітаційну пробірку наливають 0,2—0,3 мл плазми, розведенню 1:3 — 1:5 стер, фізіологічним розчином. Агарову культуру стафілокока вносять до плазми петлею. Пробірки витримують при температурі 37°C протягом доби. Штами стафілокока, що продукують фермент плазмокоагулазу, викликають згортання плазми, унаслідок чого вона перетворюється на желеподібну масу. Згортання плазми позначається знаком плюс (+). Стрептококи По характеру зростання на кров'яному агарі стрептококи діляться на три групи: р-гемолітичні стрептококи, а-зеленящие стрептококи і у-стрептококи (не викликають гемолізу на кров'яному

агарі). Єдиним методом диференціації патогенних і непатогенних стрептококів є серологічний метод Ленсфілд. Ленсфілд виявила в клітинній стінці стрептокока поверхнево розташований групоспецифічний полісахаридний антиген, який дозволив розділити гемолітичні стрептококи, що зеленять, на 17 груп, позначених умовно заголовними буквами латинського алфавіту від А до S. Найбільш вивченою є група А, об'єднуюча більшість штамів, патогенних для

людини. Патологічним матеріалом для дослідження на стрептококи є:

- 1) наліт і слиз з мигдалин і слизистих оболонок зіву при ангіні і скарлатині;
- 2) гній з осередків ураження;
- 3) кров при явищах септичного характеру. Схема мікробіологічного дослідження на стрептококи

1-й день: матеріал засівають в чашки Петрі з 3%-м-кодом кров'яним агаром. Посіви витримують в термостаті при температурі 37°C не більше 20 годин.

2-й день: переглядають чашки. Штами стрептококів серологічної групи А, найбільш патогенні для людини, можуть утворювати колонії трьох видів:

- а) мукоїдні — великі, блискучі, в'язкою консистенції;
- б) шорсткі — дрібні, плоскі, з шорсткою поверхнею, зернистою структурою, порізаним краєм;

в) гладкі — глянсові, дрібні колонії сірувато-зеленого кольору. З колоній з ознаками, характерними для стрептокока, готують мазки для забарвлення по Граму. Колонії, оточені зоною гемолізу, знімають петлею і пересівають в бульйон Мартена.

3-й день: переглядають зростання стрептокока в бульйоні Мартена. У рідких живильних середовищах при характерному рості стрептокока бульйон залишається абсолютно прозорим, і лише на дні і стінках пробірки утворюється крошковидний осад білувато-кремового кольору. Характер зростання обумовлений довжиною ланцюжків: чим довше за ланцюжок, тим краще виражена зернистість.

Менінгококи Менінгокок є збудником епідемічного цереброспінального менінгіту. Менінгококи можуть бути виявлені і у здорових людей — носіїв менінгокока. При підозрі на менінгіт матеріалом для дослідження служить спинномозкова рідина (ліквор), що отримується при за допомогою пункції спинномозкового каналу. Для мікробіологічного дослідження потрібно 5 мл ліквору. При виявленні носіїв менінгокока досліджують відокремлюване задньої стінки носоглотки. Дослідження спинномозкової рідини:

1-й день: з ліквору, дотримуючи правила стерильності, беруть 1,5 мл рідини. На вигляд ліквор може бути каламутним або прозорим, безбарвним або з домішкою крові. З каламутного ліквору роблять мазки і забарвлюють їх по Граму. Ліквор засівають на живильні середовища, що містять у своєму складі нативний білок. Посів роблять тампонами методом відбиток. Нанесений таким чином матеріал розподіляють по поверхні середовища шпателем.

2-й день: 1) переглядають посіви, зроблені напередодні. Колонії менінгокока круглі, злегка сплюснені, голубуватого кольору, з рівними краями;

2) з колоній, зовні схожих на менінгокок, беруть матеріал для мікроскопування. Мазання забарвлюють по Граму. При мікроскопуванні в них виявляються безладно розташовані коки,

нерівномірно забарвлені по Граму. Такий поліморфізм характерний для менінгококів, вирощених на штучних живильних середовищах;

3) колонії з культуральними ознаками і морфологічними властивостями, типовими для менінгокока, відсівають в одну пробірку із скошеним мясопептонним агаром і в 2—3 пробірки з сироватковим агаром. Посіви інкубують в термостаті при 37°C. 3-й день:

1) переглядають посіви. На поверхні сироваткового агару менінгококи утворюють ніжний, вологий наліт сіруватого кольору;

2) з чистою культурою досліджуваного мікроба ставлять реакцію аглютинації із специфічними антименінгоковими сироватками, що аглютинують, типів А і В (типи менінгокока, що мають переважне поширення на території нашої країни). Процес взаємодії аглютинінов з відповідним антигеном відбувається протягом 5—15 хв.

4

Гонококи.

Гонококи є збудниками гонореї — гнійного запалення слизових оболонок сечостатевого каналу і бленореї — специфічної поразки кон'юнктиви очей. Гонококи приголомшують лише людину, тварини володіють природженою несприйнятністю до гонококкової інфекції. Матеріал для бактеріологічного дослідження При гострій формі гонореї матеріалом для бактеріологічного дослідження у чоловіків служить відокремлюване уретри, у жінок — відокремлюване уретри, піхви, шийки матки, яке беруть тампоном з ураженого органу. При хронічній формі гонореї, а також до кінця лікування гострої гонореї, коли кількість виділень різко зменшується або припиняється, у чоловіків досліджують слизово-гнійні нитки або пластівці, що

містяться в сечі. За 2 — 3 дні до узяття матеріалу для бактеріологічного дослідження хворому на гонорею не вводять антибіотики, антисептичні засоби і не роблять спринцювання. Патологічний матеріал негайно після взяття висівають на живильні середовища, оскільки гонококи дуже чутливі до температурних коливань, висиханню і навіть в гнійному вмісті гинуть протягом декількох годин. Схема бактеріологічного дослідження на гонококи До живильних середовищ гонокок дуже вимогливий. Для його вирощування застосовують середовища, що містять нативний білок: людську кров або сироватку крові. Іншою обов'язковою умовою є достатня вологість середовища. Проте навіть на свіжоприготованих живильних середовищах не завжди вдається виділити культуру гонокока.

1. Мікроскопія. Патологічний матеріал, що поступив на дослідження, мікроскопують. З кожного зразка матеріалу готують не менше двох мазків. Забарвлення по Граму має основне диференціально-діагностичне значення для розпізнавання гонокока. У мазках повинні виявлятися парно розташовані коки бобовидної форми, звернені один до одного увігнутими сторонами і не дотичними між собою. У мазках, забарвлених по Граму, гонококи грамнегативні.

2. Бактеріологічне дослідження патологічного матеріалу на гонококи:

1-й день: патологічний матеріал від хворого з підозрою на гонорею засівають негайно після його здобуття на свіжоприготовані середовища. Матеріал, нанесений на щільне живильне середовище, втирають шпателем для здобуття ізольованих колоній гонокока. Чашки з посівами поміщають на 24 години в термостат при 36—37°C.

2-й день: переглядають засіяні чашки. Колонії гонокока на поверхні живильних середовищ нагадують собою крапельки роси, прозорі, голубуватого кольору, з гладкою блискучою поверхнею, рівними краями. З колоній, характерних

для гонокока, роблять мазки і фарбують їх по Граму.

Диференціальна діагностика гонококів. Гонококи доводиться диференціювати з менінгококом, а також іншими грамнегативними диплококами, що знаходяться на слизових оболонках верхніх дихальних шляхів. При диференціації гонокока перш за все слід уточнити місце, звідки виділений диплокок: гонококи, як зазначено вище, виявляються переважно на слизистих оболонках сечостатевого каналу, при ураженні очей — на слизовій оболонці кон'юнктиви.

1. Ветеринарна мікробіологія (практикум). В.А.Бортнічук, В.Г.Скибіцький, Ф.Ж.Ібатулліна. Вінниця «Нова книга», 2007 р.
2. Н.А.Радчук Ветеринарная микробиология и иммунология. М. Агропромиздат, 1991.

ЕНТЕРОБАКТЕРІЇ

План

1. Ешерихії
2. Сальмонели
3. Збудник сальмонельозу тварин

Рекомендована література

1. Бортинічук В.А., Скибіцький В.Г., Ібатулліна Ф.Ж. Ветеринарна мікробіологія (практикум). Вінниця, «Нова книга», 2007. 239 с.
2. Демченко А.В., Бортнічук В.А., Скибіцький В.Г., Апатенко В.М. Ветеринарна мікробіологія та імунологія. К.: «Урожай», 1996. 368 с.
3. Скибіцький В.Г., Власенко В.В. Власенко І.Г., Мельник М.В., Ібатулліна Ф.Ж., Соломон А.М., Козловська Г.В. Мікробіологія молока та молочних продуктів. Вінниця, «Едельвейс і К», 2008. 412 с.
4. Скибіцький В.Г., Власенко В.В., Козловська Г.В., Ібатулліна Ф.Ж., Ташута С.Г., Мельник М.В. Ветеринарна мікробіологія. К.: ТОВ «Дорадо-Друк», 2012. 367 с.
5. Фаріонік Т.В., Бондар М.М. Методичні вказівки з дисципліни «Загальна мікробіологія та мікологія» до лабораторних занять для студентів освітнього ступеня «Бакалавр» денної форми навчання за спеціальністю 212 «Ветеринарна гігієна, санітарія і експертиза» Вінниця: ОЦ ВНАУ, 2018. 50с
6. Фаріонік Т.В., Бондар М.М. Методичні вказівки з дисципліни «Мікробіологія» до виконання лабораторних робіт для студентів освітнього ступеня «Бакалавр» денної форми навчання за спеціальністю 204 – «Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва» Вінниця: ОЦ ВНАУ, 2018. 49с.
7. Яблонський В.А., Яблонська О.В. Методологія і методи наукових досліджень у тваринництві та ветеринарній медицині: Навчальний посібник. Київ: 2014. 512 с.

1

Ентеробактерії – кишкові бактерії. Родина Enterobacteriaceae складає 5 групу «Факультативні анаеробні грам-негативні палички» (Визначник Берджі, 1997). Представники її об'єднані у 32 роди, серед яких найбільше значення для ветеринарії

мають ешерихії (*Escherichia*), сальмонели (*Salmonella*) та під ерсій (*Yersinia*).

Ентеробактерії викликають у сільськогосподарських тварин і птиці ряд хвороб, які переважно уражують шлунково-кишковий тракт, органи дихання, суглоби й нерідко характеризуються загальною септицемією. Умовно патогенні види ентеробактерій у більшості випадків ускладнюють перебіг деяких хвороб і є збудниками секундарних інфекцій. В природі існують і сапрофітні види ентеробактерій, які зустрічаються у зовнішньому середовищі, звідки вони можуть потрапляти в організм тварин, зокрема у відкриті порожнини їхнього тіла.

Ешерихії

Ешерихії, або кишкові палички, в родині ентеробактерій складають рід *Escherichia*, до якого входять 5 видів: *E. coli*, *E. blattae*, *E. vulneris*, *E. fergusonii* та *E. hermannii*.

Кишкова паличка вперше виділена Ешерихом у 1885 р. із фекалій дитини. Відповідну назву цей мікроб одержав у зв'язку з тим, що він постійно знаходиться у кишечнику людини, тварин, земноводних, риб, рептилій і комах. Кишкова паличка є представником нормальної мікрофлори кишечника і виконує в організмі велику корисну роботу як антагоніст щодо ряду шкідливих мікробів, а також бере участь у синтезі деяких вітамінів і ферментів. Патогенні серотипи кишкової палички викликають у людей і тварин колібактеріоз, ентероколітоксикоз, у поросят — набрякову хворобу. Мають зв'язок з етіологією холециститів, циститів, артритів і деяких інших процесів.

Морфологія. За зовнішніми ознаками кишкова паличка подібна до інших представників родини. Це прямі короткі палички з заокругленими кінцями довжиною 1—3 мкм, шириною 0,4—0,7 мкм. Можуть зустрічатися як дрібніші, так і більші форми. Переважна більшість ешерихій рухливі, спор не утворюють, у деяких сероваріантів у мазках із патологічного матеріалу можна помітити ніжку капсулу. Мікроб фарбується за Грамом негативно, в мазках розміщується поодинокі або попарно. У високовірулентних ешерихій, крім джгутиків, на поверхні клітин виявлено також війки (пілі), серед яких є два різновиди: одні використовуються мікробом для прикріплення до епітеліальних клітин кишечника (адгезія), інші — беруть участь у розмноженні (секс-пілі). Пілі мають форму тонких прямих ниток, кількість яких у одній клітині коливається у межах 40—120 штук. (Рис.1 та 2).

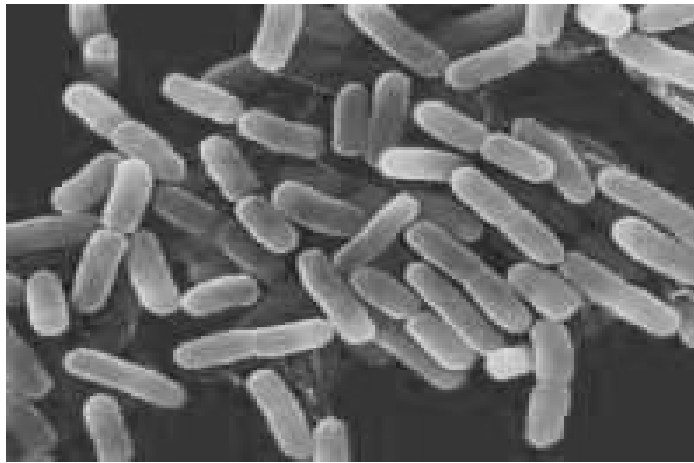


Рис. 1. *E. coli* (електронна мікроскопія)

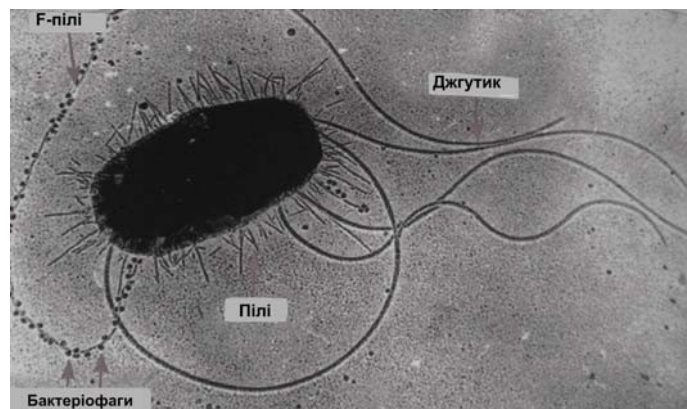


Рис. 2. *E. coli* (джгутики та пілі)

Культуральні властивості. Кишкова паличка не вибаглива до умов культивування і може розвиватися на простих середовищах як факультативний анаероб при оптимальній температурі 37—38 °С з величиною рН 7,2—7,5. В МПБ через 24 год видно рівномірне скаламучення середнього ступеня, на дно пробірки випадає незначна

кількість білуватого осаду, утворюється ніжне пристінкове кільце. На МПА, залежно від стану культури, можуть з'являтися колонії трьох різновидів: колонії S-форми мають рівні краї і поверхню, сіруваті, випуклі, середньої величини, легко емульгуються в ізотонічному розчині хлористого натрію; В-форми — мають ослизлу консистенцію, темніший колір, з характерним блиском; R-форми або шорсткі колонії, неправильної форми, з радіально пересіченою поверхнею, нерівними краями, не емульгуються в ізотонічному розчині. В МПЖ по ходу уколу утворюються рівномірні за величиною бічні відгалуження без розрідження середовища.



Біохімічні властивості у ешерихій досить виражені. Мікроб ферментує до кислоти й газу глюкозу, лактозу, маніт, ксилозу, арабінозу, левульозу, мальтозу, рамнозу, галактозу, непостійно — сахарозу і дульцит, не розщеплює адоніт та інозит, не утворює сірководню, а також ацетилметилкарбінолу (реакція Фогес — Проскауера негативна), проте продукує індол, зумовлює зсідання молока, інертний до сечовини, редукує нітрати у нітрити, реакція з метиловим червоним позитивна.

Антигенна структура кишкової палички досить складна. В мікробній клітині ідентифікують три основні антигени: О, К і Н, на підставі яких Кауфман запропонував серологічну класифікацію ешерихій. О-антиген — термостабільний ліпополіцукридобілковий комплекс, що локалізується переважно у цитоплазматичній мембрані та цитоплазмі і називається соматичним. К-антиген - поверхневий, має зв'язок з капсулою і складається із трьох фракцій, які позначають літерами L, А і В. Природа цих фракцій різна. Серед них зустрічаються як кислі поліцукриди, протеїни, так і сполуки іншої хімічної структури. L - і В-антигени термолабільні, руйнуються при нагріванні до 100 °С, знаходяться у бактеріальній оболонці, А-антиген термостабільний, його виявляють переважно у капсулоутворюючих ешерихій. Різновиди фракцій К-антигену позначають додатково малими літерами латинського алфавіту (a, b, c, d). Н-антиген — джгутиковий, термолабільний, міститься у рухливих ешерихій.

За даними Міжнародного бюлетеня бактеріологічної номенклатури і таксономії, на підставі названих антигенів визначено 163 серологічні групи (варіанти) кишкової палички за О-антигеном, близько 100 серогруп за К-антигеном і понад 50— за Н-антигеном.

При позначенні повної антигенної структури конкретного сероваріанту одні антигени від інших відокремлюють двома крапками, зазначаючи при цьому їх порядковий номер, наприклад, O8 : K99 (L): H21.

Стійкість ешерихій проти дії екзогенних факторів порівняно невисока. Нагрівання до температури 60 °С знищує ці мікроби через 60 хв, кип'ятіння — миттєво. У ґрунті, на різних предметах кишкова паличка зберігається від 90 до 204 діб. Сприяє виживанню мікроба забрудненість об'єктів гноєм. Під дією робочих розчинів дезинфікуючих речовин мікроб гине через 10—15 хв.

Патогенність ешерихій зумовлена такими механізмами, як адгезивність, інвазивність, ентеротоксигенність, коліциногенність та ін.

Адгезія — це здатність мікробів адсорбуватися на поверхні клітин і міцно утримуватися на них, що призводить до колонізації слизових оболонок у місцях скупчення патогенних ешерихій. Основним фактором адгезії у кишкової палички є пілі, у яких локалізується К- антиген, зокрема К-88 і 987 Р присутній у ешерихій,

яких виділяють від поросят, К 99 — від телят, ягнят і поросят.

Інвазивність — це здатність ешерихій проникати в епітеліальні клітини кишечника, де певний час вони можуть розмножуватися. На наступному етапі мікроби захоплюються фагоцитами й ними нейтралізуються.

Ентеротоксигенність пов'язана з активною продукцією ешерихіями двох різновидів екзотоксину, один з яких термолабільний, другий — термостабільний і за механізмом дії подібний до холерних і дизентерійних отрут. Після розпаду мікробних клітин з них вивільнюються ендотоксини, які представлені термостабільними поліцукридо-протеїно-ліпідним комплексом. Саме ендотоксини є причиною значних крововиливів, дистрофічних змін у стінці кишечника, підвищення температури тіла.

Деякою мірою ешерихії виділяють так звані другорядні токсини, зокрема нейротоксин, гемолізін, ферменти муциназу та ліпазу.

Бактеріоциногенія — спадкова здатність ешерихій утворювати та виділяти бактеріоцини (коліцини) — специфічні антибіотикоподібні речовини, які зумовлюють загибель філогенетично споріднених бактерій. Відомо близько 24 типів поліцинів з різним антибактеріальним спектром, які позначають великими літерами латинського алфавіту. Здатність продукувати поліцини визначається наявністю у ешерихій специфічних генетичних детермінант — поліциногенних факторів, роль яких переважно відіграють епісоми. Серед поліцинів частіше зустрічаються такі типи, як O, E, I, B, рідше V і O.

Переважає більшість штамів кишкової палички чутливі не менше, як до одного або кількох поліцинів. Близько 2 % штамів резистентні до поліцинів. Виявилося, що патогенні ешерихії здатні виділяти поліцини значно частіше, ніж звичайні банальні штами. Поліцини — це антигени, які не мають імунологічної спорідненості з іншими антигенами клітин кишкової палички.

Основне захворювання, яке викликають патогенні ешерихії, — ешерихіоз (колібактеріоз, поліентеротоксемія). Телята хворіють переважно у перші 10 діб життя, поросята — в перші дні й тижні, а також після відлучення, ягнята — з перших днів життя і до 5—7-місячного віку, птиця — від 1-го до 90-го дня.

Відомо три основні форми цієї хвороби: септична, ентеротоксемічна й ентерична. У поросят зустрічається так звана набрякова хвороба. Провідна клінічна ознака полібактеріозу — профузний пронос, який призводить до зневоднення організму, важкої інтоксикації; судом та паралічів, що свідчить про ураження центральної нервової системи. При набряковій хворобі виникають набряки підшкірної клітковини повік, лицьової частини голови, підщелепного простору,

розвиваються парези й паралічі. Смертність може бути досить високою в усіх видів тварин.

Патогенез. Проникнення збудника в організм здійснюється переважно аліментарним, рідше — аерогенним шляхами і внутрішньоутробно. При септичній формі збудник із кишечника проникає в кров, де розмножується і заноситься у внутрішні органи, лімфатичні вузли, кістковий мозок, інколи — в головний мозок.

Перебуваючи ще в кишечнику, а потім і після проникнення у кров, збудник інтенсивно продукує ентеротоксини, які й відіграють провідну роль у патогенезі інфекції. Під їх впливом в просвіт кишечника за рахунок порушення осмотичної рівноваги проникає підвищена кількість рідини. Одночасно посилюється секреція кишкового епітелію, порушується його функція, затримується сорбція натрію з активною секрецією хлору. Все, що нагромаджується в кишечнику, рефлекторно викидається із організму. Так виникає пронос.

Активність ентеротоксинів посилюється у присутності К- антигенів, які у ешерихій є фактором патогенності. Колонізація кишечника за рахунок адгезії веде до нагромадження на поверхні слизової оболонки кишечника великої кількості бактерій. Після їх відмирання вивільняються ендотоксини, які й обумовлюють запальні процеси в кишечнику. Всмоктуючись в кров, ендотоксини разом з екзотоксинами зумовлюють важку інтоксикацію, на фоні якої розвиваються інші патологічні процеси. В такому стані тварини гинуть протягом доби.

Важкі форми ешерихіозу спостерігаються при змішаній формі інфекції, особливо на фоні рота- і коронавірусної інфекції, ускладнень за рахунок мікроорганізмів із родів *Proteus*, *Pseudomonas*, *Streptococcus* та ін.

Діагностика ґрунтується на аналізі комплексних даних (клініко-епізоотологічних, патологоанатомічних) з проведенням лабораторних досліджень. У лабораторію краще відправити свіжий труп. Від великого свіжого трупа відбирають голову, трубчасту кістку, селезінку, частину печінки з жовчним міхуром, лімфатичні вузли брижі. В окремий посуд кладуть уражену ділянку кишечника, перев'язану з обох кінців.

Патологічний матеріал висівають у пробірки з МПБ, в бактеріологічні чашки на МПА, середовище Ендо (ТУ 9229-072- 00419785-97), середовище Левіна (агар з еозин-метиленовим синім, ТУ 9229-072-00419785-97). Одночасно готують мазки із кожного органа, які фарбують за Грамом. Через 18—24 год. враховують результати посіву, і окремі колонії висівають для одержання чистих культур у пробірки з МПБ і середовищем Симонса. Добові бульйонні культури пересівають на строкатий ряд для визначення біохімічних властивостей, а також на дві пробірки із МПА для виготовлення нагрітого антигену і суспензії для зараження лабораторних

тварин.

Виділені культури ідентифікують на підставі морфологічних, тинкторіальних, культуральних і біохімічних властивостей. Звертають увагу на зони β -гемолізу навколо колоній, виділених на кров'яному МПА з матеріалів поросят при підозрі на набрякову хворобу.

Для визначення патогенності виділених культур у черевну порожнину трьох білих мишей масою 14—16 г вводять суспензію агарових культур у дозі 500 млн мікробних клітин. Якщо протягом двох діб загине одна і більше мишей, культура вважається патогенною.

При виділенні культур від птиці біопробу ставлять на трьох курчатах 4—5-тижневого віку, яких заражають у порожнину очеревини в дозі 1 млрд мікробних клітин. У позитивних випадках протягом чотирьох днів гинуть одне і більше курчат. При необхідності визначають також ентеротоксичні властивості виділених штамів *E.coli*. Це можна здійснити на ізольованих петлях тонкого відділу кишечника кроля чи морської свинки, або шляхом визначення вмісту термолабільного і термостабільного ентеротоксинів (тест набряку лапок білих мишей, шкірна проба на кролях, реакція агрегації тромбоцитів, РДП, анальна проба на мишенятах-сисунах та на курячих ембріонах). Серогрупову належність виділеного штаму та наявність і тип К-антигену визначають за допомогою стандартних відповідних сироваток. В Україні налагоджено випуск двох наборів сироваток ешерихійних антигрупових аглютинуючих, специфічних до семи антигенів *E.coli*: K99, F41, Att 25, 987p, K88ac та K88ad та комплексні антиадгезивні сироватки.

Ставлять крапельні РА (крапельний варіант на склі). Використовують також ПЛР.

Імунітет при усіх формах колібактеріозу у новонароджених тварин пасивний і забезпечується антитілами молозива. Для його створення рекомендується щепити вагітних тварин у другій половині вагітності колібактерійними вакцинами. Застосовують переважно корпускулярні інактивовані вакцини. Ефективним вважається препарат, розроблений на основі факторів патогенності збудника – Вакцина проти колібактеріозу молодняка сільськогосподарських тварин патогенності збудника (ТУУ 46.15.042.94). Вакцина містить антигени K99, F71, Att25, 987P, K88ab, K88ac, K88ad та суміш термолабільного і термостабільного антигенів.

Застосовується для щеплення вагітних тварин (корів, свиноматок, вівцематок) з метою створення колос трального імунітету у новонароджених та для щеплення молодняка – створення активного імунітету проти ешерихійної інфекції.

Ефективнішими вважаються і живі вакцини. Зокрема, у Німеччині використовують вакцину *suicomplex* «Dessau», яка є сумішшю двох мутантних культур ешерихій O-141 і O-149. Перспективними є вакцини, виготовлені на основі К-антигенів. Такі вакцини з успіхом апробовані і в Україні.

Для лікування хворих після визначення чутливості виділених мікробних культур до використовуваних антибіотиків їх застосовують у поєднанні з сульфаніламідними та нітрофурановим препаратами. Успіх лікування залежить також від прийомів, спрямованих на підтримання загального тонусу організму, ліквідації зневоднення, усунення інтоксикації. Лікувальним ефектом відзначається також колігертнер фаг.

2

Сальмонели



Сальмонели об'єднані у великий рід *Salmonella*, який нараховує більше двох тисяч сероваріантів. Цей рід названо на честь американського мікробіолога Сальмона, який у 1885 р. виділив з трупа свині, яка загинула від чуми, культуру і назвав її *B. suipestifer*, тобто спричинююча чуму. Пізніше було

встановлено, що збудником чуми свиней є вірус, а *B. suipestifer* (сучасна назва *Salm. choleraesuis*) викликає у дорослих свиней секундарний, а у поросят — первинний сальмонельоз (паратиф). В кінці XIX та в першій половині XX століття були описані десятки інших видів збудників паратифів у людини, сільськогосподарських тварин і птиці. Всі вони об'єднані у рід *Salmonella* і мають видові назви, пов'язані з видом найбільш чутливих тварин, місцем відкриття збудника або прізвищем дослідника: *S. enteritidis* Gartneri,

S. dublin, *S. cholerae suis*, *S. abortus ovis*, *S. abortus equi*, *S. gallinarum-pullorum*.

Сальмонели надзвичайно поширені в природі й здатні викликати у тварин ряд захворювань, які названі сальмонельозами (паратифами). У людей ці мікроби зумовлюють черевний тиф та паратифи. Потрапляючи в молоко, м'ясо, інші продукти, сальмонели спричиняють у людей харчові токсикоінфекції.

Морфологія. Сальмонели — це палички із заокругленими кінцями, довжиною

2—5 мкм, шириною 0,7—1,5 мкм (Рис.3). Можуть зустрічатися і ниткові форми. Переважна більшість сальмонел є рухливими за рахунок перитрихіально розташованих джгутиків (не рухома *S.gallinarum-pullorum*), не утворюють спор і капсул, грамнегативні, взагалі за морфологією подібні до ешерихій.

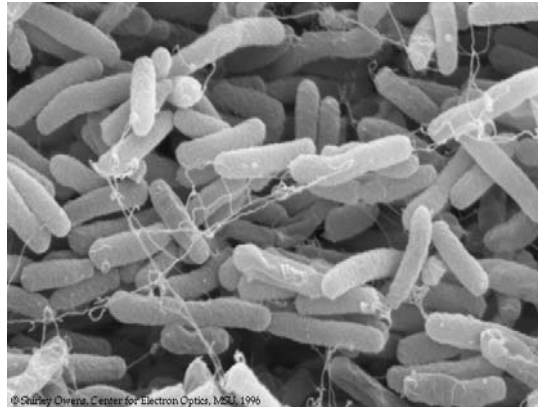


Рис. 3. *Salmonella enteritidis* (електронна мікроскопія).

Культуральні властивості. Сальмонели добре розвиваються на простих середовищах при оптимальній температурі 37 °С і величині рН 7,2—7,6. Характер колоній на МПА неоднорідний (Рис.4). Переважна більшість видів сальмонел утворюють середньої величини сірувато-білі, круглі, випуклі, блискучі й вологі колонії (S-форма). Колонії *S. abortus ovis* дрібні, сірувато-білі. Для колоній R-форми характерні нерівні фестончасті краї, плоска нерівна поверхня. На певному етапі можуть утворюватися проміжні О-форми колоній.

У рідких живильних середовищах сальмонели викликають рівномірне помутніння з незначним осадом. На диференційних- середовищах Ендо, Левіна, Плоскирева сальмонели ростуть у вигляді безбарвних або з легким блакитним відтінком колоній . На вісмут- сульфід-агарі утворюють колонії чорного кольору (Рис.5).



Рис.4. Ріст сальмонел на МПА

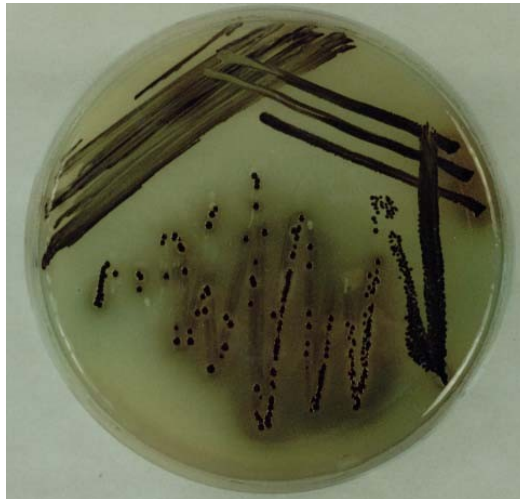


Рис. 5. Колонії *S. gallinarum pullorum* на вісмут-сульфитному агарі

Біохімічні властивості у сальмонел відрізняються залежно від виду. Вони ферментують глюкозу, маніт, галактозу, фруктозу, арабінозу, ксилозу, рамнозу, мальтозу, дульцит і сорбіт до кислоти і газу. Сальмонели не розщеплюють сахарозу, адоніт, саліцин і сечовину. Особливо важливо знати, що сальмонели, на відміну від кишкової палички, не ферментують лактозу. Більшість їх не розріджують желатин, не утворюють індолу й ацетилметилкарбінолу (реакція Фогес—Проскауера негативна), відновлюють нітрати в нітрити, продукують сірководень, дають позитивну реакцію з метиловим червоним.

Антигенна структура сальмонел складна. Як і ешерихії, вони містять О- і Н-антигени, надзвичайний поліморфізм яких і обумовлює величезну кількість антигенно відмінних сероварів.

У складі клітин сальмонел розрізняють (за винятком *S.gallinarum-pullorum*) два антигени: О-соматичний, термостабільний і Н-джгутиковий, термолабільний.

В усіх представників роду нараховується 39 різновидів О-антигену, проте у конкретного виду їх не більше чотирьох і позначають їх римськими літерами. За спільністю О-антигенів сальмонели зібрані в 65 серологічних груп, які позначають великими літерами латинського алфавіту. Джгутиковий антиген також неоднорідний і у більшості сальмонел має дві фракції (фази): I — специфічну фазу, характерну для певного виду, і II — неспецифічну, групову, яка зустрічається у кількох видів. Антигени першої фази позначають малими літерами латинського алфавіту, другої — арабськими цифрами.

Всі серовари сальмонел відносять до двох видів. *Salmonella bongori* містить менше 10 дуже рідкісних сероварів. Решта 2500 сероварів виділені в середині виду *Salmonella choleraesuis*, який за фенотипічними і генетичними критеріями розділяють на 6 підвидів. Усі серовари підвиду *choleraesuis* мають назви, а у інших підвидів (за винятком деяких у підвидів *salamae* і *houtenae*) назви не мають. Діагностичні лабораторії позначають серовари без назви формулою антигенів. Наприклад *Salmonella* серовар Arizona 50: z4, z24 (бувша назва *Arizona hinshawii* 9a 9b:1,3, 11: -).

Знання антигенної структури необхідні при ідентифікації сальмонел. На біофабриках виділяють окремі антигенні фракції сальмонел, якими імунізують кролів і таким чином одержують монорецепторні О- і Н-аглютинуючі сироватки. Використовуючи в реакції аглютинації на склі О-сироватки на першому етапі визначають серологічну групу, до якої належить досліджувана культура. На другому етапі за допомогою Н-аглютинуючих сироваток визначають видову належність культур.

У сальмонел виявлено антигенну перехресну спорідненість із представниками родів *Escherichia*, *Citrobacter*, *Listeria*, *Pasteurella* і, особливо *Brucella*, що необхідно враховувати при діагностиці хвороб, викликаних збудниками із названих родів.

Резистентність сальмонел проти дії фізико-хімічних факторів іща, ніж у ешерихій. Зокрема, нагрівання до 60 °С сальмонели витримують до 1 год, в ґрунті і гною зберігаються до 3 міс, у замороженому стані залишаються живими в середньому до 50 днів. Прямі сонячні промені вбивають цих мікробів через 3—4 год, в засоленому м'ясі при концентрації солі до 18 % вони залишаються життєздатними протягом 30 днів. В шматках м'яса масою 400 г при варінні

сальмонели гинуть після 2,5 год, а при безпосередньому впливі температури 100 °C — миттєво. Дезинфікуючі розчини знищують сальмонел за 30—60 хв.

Патогенність. Сальмонели уражають практично усі види сільськогосподарських тварин, спричиняючи у них гастроентерити, пневмонії, септичний процес, артрити, аборти. До сальмонельозної інфекції чутливі багато видів птахів і промислових тварин. Гризуни частіше залишаються тривалими носіями цих мікробів.

Патогенез. Переважний шлях зараження при сальмонельозах — аліментарний. Первинне розмноження збудника розпочинається у кишечнику, інтенсивніше — в солітарних фолікулах і лімфатичних вузлах брижі. Звідси сальмонели проникають у кров, розвивається загальна септицемія. В патогенезі сальмонельозного процесу в подальшому має значення токсигенність сальмонел, які виділяють недостатньо вивчений екзотоксин, а також впливають на організм тварин ендотоксинами. Останні у великій кількості звільняються після загибелі й розпаду мікробних клітин. В експериментах на лабораторних тваринах показано, що ендотоксин у останніх викликає запалення кишечника, крововиливи, діарею, призводить до парезів і паралічів.

Гостре набрякання солітарних фолікулів, а також розвиток крупозно-дифтерійних уражень у товстому відділі кишечника є наслідком дії ендотоксинів. У внутрішніх органах виникають некротичні фокуси різної величини. Проникаючи в матку вагітних тварин, сальмонели викликають запальний процес, що й призводить до абортів.

При переході захворювання в підгостру й хронічну форми сальмонели виділяються у зовнішнє середовище з вмістом кишечника, носовим слизом, молоком, вагінальним слизом після абортів. Внаслідок глибоких дистрофічних змін у тварин порушується загальний обмін речовин, прогресує виснаження, настає смерть. Після одужання перехворілі тварини погано розвиваються, багато з них стають господарчо непридатними і їх відправляють на вимушений забій.

Діагностика. На підставі клініко-епізоотологічних і патолого-анатомічних даних ставлять попередній діагноз. Остаточне підтвердження наявності захворювання здійснюють у лабораторії. Для прижиттєвої діагностики в лабораторію направляють фекалії, виділення із родових шляхів після абортів та кров. Для серологічних досліджень направляють кров'яну сироватку.

Після загибелі тварин з великих трупів відбирають печінку з жовчним міхуром, лімфатичні вузли брижі, селезінку, нирку, трубчасту кістку, частину легень (при пневмоніях), абортований плід. Невеликі трупи направляють цілими.

Висіви із патологічного матеріалу проводять на МПБ і МПА, одне із

диференційно-діагностичних середовищ (Ендо, Плоскирева, Левіна, вісмут-сульфідний агар). Середовища попереднього нагромадження (Мюллера, Кауфмана, селенітове та ін.) використовують при дослідженні матеріалу від тварин, які хворіли хронічною формою сальмонельозу. Одночасно готують мазки, які проглядають у світловому й люмінесцентному мікроскопах.

Через добу підозрілі колонії відсівають на нове середовище для одержання чистих культур, у яких в подальшому визначають біохімічну активність на середовищах строкатого ряду, рухливість (нанопіврідкому 0,2 %-ному агарі). Остаточну ідентифікацію виділених культур проводять за допомогою реакції аглютинації, яку ставлять на склі з монорецепторними О і Н-аглютинуючими сальмонельозними сироватками. У сумнівних випадках, а саме: при нечітких показниках РА, нетипових біохімічних даних проводять дослідження з використанням сальмонельозного бактеріофага, а також ставлять біопробу на білих мишах. Тварин заражають підшкірно добовою культурою у дозі 0,2—0,3 мл при концентрації 50—100 млн мікробних тіл у 1 мл. Сальмонели викликають загибель мишей в період від 3 до 10 діб.

Серологічна діагностика полягає у виявленні антитіл у досліджуваних пробах кров'яної сироватки за допомогою РА. Позитивними титрами аглютинінів є показник 1 : 200 і вище. Цю реакцію рекомендують ставити при дослідженні тварин з хронічним перебігом хвороби. Особливе значення має дослідження парних сироваток, коли в другій пробі, відібраній через 2—3 тижні після першої, виявляють значний приріст антитіл, титри яких можуть досягати величин 1 : 1600—1 : 3200 і вище. Найбільшого вжитку набув метод ІФА для виявлення сальмонельозних антитіл.

Метод імунофлуоресценції застосовують для швидкого виявлення сальмонел у мазках із патологічного матеріалу і м'яса. Комплексна протисальмонельозна сироватка виявляє сальмонел, що входять у серологічні групи В, С₁, С₂, D₁ і Е₁. Групові сироватки дають змогу віднести знайдені сальмонели до однієї із серологічних груп. Реакцію імунофлуоресценції ставлять за прямим методом, керуючись інструкцією.

В Україні розроблено систему Sal-test – тест-систему для виявлення ДНК бактерій роду *Salmonella*. Вона дозволяє протягом кількох годин, шляхом постановки ПЛР, виявити *S. dublin*, *S. typhimurium*, *S. enteritidis*, *S. cholerae suis*, *S. ovis*, *S. newport* та *S. gallinarum-pullorum*.

Імунітет після перенесення хвороби активний, тривалість його залежить від індивідуальних особливостей організму. В механізмах імунітету беруть участь, як гуморальні, так і клітинні фактори. В організмі з'являються різні типи антитіл:

аглютиніни, преципітини, бактеріолізени, комплементзв'язуючі імуноглобуліни. Незважаючи на те, що через 3—4 міс титри антитіл починають знижуватися, імунітет зберігається завдяки клітинним механізмам захисту.

3

Збудник сальмонельозу телят

Сальмонельоз у телят характеризується ураженням шлунково-кишкового тракту, а пізніше — легень. На початку хвороби спостерігається різке підвищення температури тіла (до 41 °С і більше), порушується серцева діяльність, прискорюється дихання. Під кінець другого на початку третього тижня з'являється пронос, загальний стан тварин погіршується, і вони гинуть на 5—10-й тиждень від початку захворювання. В інших випадках температура тіла знижується, телята одужують або ж інфекція переходить у хронічну форму, при якій розвивається пневмонія, інколи уражуються суглоби. Якщо тваринам не надати допомоги, вони гинуть. Хворіють телята на сальмонельоз в основному у віці від 10 днів до 2 міс.

Збудниками хвороби переважно бувають *S.dublin*, *S.enteritidis*, *S.rostok*, *S.typhimurium*, рідше інші серотипи сальмонел. У морфологічному, культуральному, біохімічному відношеннях збудники захворювання є типовими для свого роду, хоч і різняться між собою, за деякими показниками.

Діагноз на сальмонельоз телят ставлять на основі клінічних ознак, бактеріологічних, серологічних досліджень та молекулярно-генетичних методів (ПЛР).

Імунітет. У новонароджених телят імунітет колостральний. У телят, які перехворіли, утворюється стійкий активний імунітет.

Для профілактики захворювання застосовують, інактивовану концентровану формолвакцину. Корів щеплять у сервісний період двічі з метою створення колострального (молозивного) імунітету. Цією ж вакциною тричі щеплять телят для створення активного імунітету.

Для профілактики хвороби в стаціонарно неблагополучних господарствах доцільно застосовувати колі-гертнер-фаг.

Для імунізації тварин запропоновані інактивовані та живі препарати, зокрема Вакцина проти сальмонельозу тварин інактивована субодинична (вакцина СПС) (ТУУ 46.15.561.2001).

Препарат містить комплекс адгезивних антигенів та анатоксин, інактивований формаліном. Застосовують для імунізації тільних корів і порослих свиноматок для створення колострального імунітету у новонароджених та для вакцинації молодняка

тварин.

Використовують також вакцину «Сальмосан» (ТУУ 446.15.324- 39). Вакцина виготовлена на основі найпоширеніших на території України серотипів сальмонел, містить оригінальні ад'юванти. Використовується для імунізації вагітних тварин (корови, свині) та для новонароджених.

Гіперімунну полівалентну сироватку проти паратифу телят та інших тварин застосовують з профілактичною і лікувальною метою у дозах 10—30 і 40—80 мл відповідно. Одержують сироватку на біофабриках шляхом гіперімунізації волів культурами відповідних сальмонел.

Ефективність лікування підсилюється одночасним застосуванням сироватки та антибіотиків з широким спектром дії (хлортетрациклін, неоміцин, олеандоміцин, лівоміцетин та ін.), нітрофуранів і сульфаніламідів.

Збудник сальмонельозу свиней

Сальмонельоз свиней — інфекційна хвороба, що характеризується ураженням шлунково-кишкового тракту та легень. Хворіють частіше поросята у віці 30—40 днів. Заражаються тварини аліментарним шляхом. Інкубаційний період коливається від 2 до 15 днів. Інфекція проявляється у гострій, підгострій і хронічній формах. При гострій формі у поросят значно підвищується температура тіла, розвивається загальна слабкість, порушується серцева діяльність. У зв'язку з цим виникає застій крові, який супроводжується появою ціанотичних зон на кінцях вух, ратицях, підгрудку, черевній стінці. В подальшому основною клінічною ознакою є пронос з виділенням водянистих із гнильним запахом фекалій. За рахунок зневоднення і порушення обміну поросята швидко втрачають масу. Триває хвороба 5—10 днів, гине 50—80 % тварин.

При інших формах клінічні ознаки менш виражені; звертає на себе увагу ундулююча гарячка, прогресивне схуднення, діарея. Тривалість хвороби збільшується до 2—3 тижнів, гине 20—30 % свиней.

Збудники захворювання серотипи *S.cholerasuis*, *S.enteritidis*, *S.dublin*, *S.typhimurium*. Сальмонели серотипу *S.cholerasuis* виживають у стерильному ґрунті до 300 днів, у нестерильному — до 5 міс, у висушеному стані — до 3—4 років, в засолених продуктах (концентрація солі до 18 %) бактерії залишаються життєздатними до 30 днів. Розчини дезінфікуючих речовин знищують збудника протягом години.

Діагноз ставлять на основі клініко-епізоотологічних, патолого-анатомічних даних і результатів бактеріологічних досліджень, які проводять за загальною

схемою діагностики сальмонельозів.

Імунітет. Суттєве значення має колостральний імунітет. У підсвинків після перехворювання формується стійкий активний імунітет, ступінь напруженості й тривалості якого є індивідуальною.

Для імунізації тварин використовують інактивовані та живі вакцини, зокрема інактивовану вакцину «Сальмосан» та живу вакцину, виготовлену на основі супресорного ревертанта *Salmonella choleraesuis* №9 (ТУУ 46.15.144.96). останню застосовують у неблагополучних по сальмонельозу господарствах. Препарат вводять поросят з 10-денного віку перорально або внутрішньом'язево. Імунітет у вакцинованих поросят формується на 5-7 добу після 3-ї вакцинації та на 8-10-ту добу після 2-го введення препарату і триває 6 міс.

Розроблені і застосовуються також ряд комбінованих препаратів, що містять крім сальмонельозного, ще й імуногени до інших патогенів, зокрема збудників набрякової хвороби, пастерельозу, гемофільозу та ін.

Для **лікування** хворих тварин застосовують антибіотики (хлортетрациклін, лівоміцетин, тераміцин, синтоміцин та ін.), фуразолідон. Ефективність лікування значно посилюється при введенні гіперімунної паратифозної сироватки.

Збудник сальмонельозу коней

Сальмонельоз коней—інфекційне захворювання, яке у жеребних кобил супроводжується абортами, у лошат — гарячкою, проносом, ураженням суглобів. Аборти у конематок настають з 4—5-ти місяців жеребності. При ускладненнях після абортів розвивається метрит, слизові оболонки матки некротизуються, що інколи закінчується смертю тварин. Лошата можуть народжуватися зараженими й хворіють з перших днів життя. У них підвищується температура тіла, розвивається пронос, опухають суглоби. Більшість лошат гине.

Збудник хвороби — *S. abortus equi* має багато спільного з іншими серотипами сальмонел.

Діагноз ставлять на підставі бактеріологічних досліджень абортіваних плодів, плодових оболонок, виділень із родових шляхів кобил. Бактеріологічне дослідження проводять за загальною схемою. Збудник на МПБ утворює рівномірне помутніння з ослизлим осадом, на МПА — сірувато-білі колонії, які легко знімаються петлею. Інколи колонії можуть бути шорсткими, сухими й заглибленими в середовище.

При дослідженні сироватки крові хворих тварин титр аглютинінів повинен бути в РА не нижчим 1 : 400, причому кров від кобил відбирають на 8—12-й день

після аборту.

Імунітет. Переважна більшість кобил після аборту набувають імунітету. У лошат, які одужали, імунітет відносний і забезпечується специфічними антитілами.

Біопрепарати для профілактики хвороби не розроблені.

Збудник сальмонельозу (паратифу) овець

Сальмонельоз овець — інфекційне захворювання, яке характеризується абортами, явищами септицемії, народженням нежиттєздатного приплоду. Ягнята хворіють у віці від одного дня до 1,5—3 міс. Аборти у вівцематок настають на останньому місяці вагітності. У ягнят підвищується температура тіла, розвивається діарея, тварини, помітно худнуть і гинуть протягом чотирьох днів.

Збудник хвороби — *S. abortus ovis*, рідше — *S. typhimurium*, *S. dublin*. Сальмонели серовару *S. abortus ovis* - це поліморфні, рухливі типові палички, які значно поширені в природі, можуть зустрічатися, у кишечнику здорових овець і кіз. У ґрунті і гною залишаються живими до 90 днів, у замороженому стані — до 50 днів. При нагріванні до 70 °С збудник гине через 15 хв, при кип'ятінні — миттєво. Дезинфікуючі речовини знищують мікроб через 10—20 хв.

Діагноз комплексний і ґрунтується на даних клініко- епізоотологічних спостережень і результатів бактеріологічних досліджень. У лабораторію надсилають абортвані плоди та внутрішні органи загиблих тварин, Необхідно пам'ятати, що збудник сальмонельозу овець, на відміну від інших сальмонел, на живильних середовищах росте погано. На МПА утворюються дрібні прозорі колонії з дещо піднятим центром і радіальною покресленістю. В МПБ

— рівномірне помутніння з незначним осадом без поверхневої плівки і пристінного кільця.

При серологічній діагностиці на 10—13-й день після аборту від вівцематок у лабораторію відправляють проби крові, з сироваткою якої ставлять РА. При наявності антитіл у титрі 1 : 200 і вище результати дослідження вважаються позитивними.

Присутність антитіл у сироватці крові овець можна встановити також за допомогою реакції непрямой гемаглютинації (РНГА). В реакції використовують еритроцитарний сальмонельозний О- діагностикум серологічної групи В з рецепторами I, IV, XII, який є формалізованими еритроцитами з адсорбованим на них сальмонельозним антигеном.

Досліджувану сироватку розчиняють від 1 і 100 до 1 : 800, кожне розчинення

вносять у ямки полістиролових пластин в об'ємі 0,5 мл і додають по 0,25 мл діагностикуму. Пластини поміщають в термостат на 2—2,5 год і враховують реакцію. Якщо у досліджуваних сироватках є антитіла до збудника сальмонельозу під їхнім впливом відбувається аглютинація еритроцитів діагностикуму з утворенням характерного осаду у вигляді розетки. Реакцію вважають діагностично позитивною у випадку виявлення антитіл у розбавленні сироватки 1 :200 і вище при її інтенсивності на 3—4 хрести.

Імунітет після перенесення хвороби нестійкий і нетривалий.

Для активної імунізації запропоновані інактивовані вакцини, зокрема депонована формолвакцина, асоційована вакцина проти сальмонельозу, колібактеріозу, пастерельозу і диплококової інфекції. Для пасивної імунізації застосовують гіперімунну сироватку, яку використовують і з лікувальною метою.

Збудник сальмонельозу (паратифу) хутрових звірів

Сальмонельоз хутрових звірів — інфекційне захворювання, яке характеризується періодичною гарячкою, ураженням шлунково-кишкового тракту й поступовим виснаженням. Хворіють сріблясто-чорні лисиці, песці, соболі, єноти, бобри, нутрії і деякі інші тварини.

В природних умовах на сальмонельоз хворіє переважно молодняк хутрових звірів у віці до 2 міс. При гострій формі хвороби більшість тварин швидко гине.

Збудники хвороби — серовари *S. enteritidis*, *S. dublin*, *S. choleraesuis*, рідше *S. typhimurium*, у єнотів — *S. paratyphi* і деякі інші.

Етіологічно захворювання у хутрових звірів має зв'язок з сальмонельозом сільськогосподарських тварин.

Діагноз ставлять на підставі бактеріологічних досліджень з урахуванням клініко-епізоотологічних і патологоанатомічних даних. Бактеріологічне дослідження проводять за загальною схемою, яка передбачає мікроскопію мазків із патологічного матеріалу, виділення культур сальмонел, їх ідентифікацію у РА на склі з монорецепторними О- і Н-аглютинуючими сальмонельозними сироватками.

Серологічний метод діагностики передбачає дослідження сироватки крові тварин у РА. Аглютинаційний титр 1 : 200 і вище вважається позитивним, 1 : 100 — сумнівним.

Імунітет. Природно набутий імунітет має невелике значення, оскільки переважна більшість хворих тварин гинуть, але у тих, що вижили, розвивається несприйнятливість до повторного зараження. Для активної імунізації лисиць, песців і нутрій застосовують полівалентну формолтіомерсалову вакцину, до складу якої входять штами сальмонел і ешерихій. Імунітет розвивається на 10—12-й день і триває до 8 міс. Для пасивної імунізації використовують полівалентну гіперімунну сироватку проти сальмонельозу. При лікуванні хворих тварин, крім імунної сироватки, застосовують антибіотики з широким спектром дії і сульфаніламідні препарати.

Збудник сальмонельозу (паратифу) водоплавної птиці

Сальмонельоз — інфекційне захворювання переважно качок, гусей і голубів у віці від 1 до 30 днів, яке характеризується проносом, кон'юнктивітом, виснаженням і нервовими явищами. У дорослої птиці хвороба перебігає у латентній формі.

Збудниками хвороби є 3. *S.typhimurium*, підше *S. anatum*, *S.enteritidis*, *S.essen*, *S. london*.

Діагноз ставлять на підставі комплексних даних з обов'язковим проведенням бактеріологічних досліджень за загальною схемою діагностики сальмонельозів. Перед початком інкубації яєць дорослу птицю перевіряють на сальмонелоносійство шляхом постановки РА з сальмонельозним антигеном. При наявності використовують тест системи у ПЛР, ІФА.

Імунітет у птиці виникає з віком. Доросла птиця досить стійка до природного зараження. Для активної імунізації застосовують живу суху вакцину проти сальмонельозу водоплавної птиці.

З лікувальною метою використовують антибіотики та нітрофуранові препарати.

ЛЕКЦІЯ 7

Пуллороз, Протей, Ієрсинії

План

- 1.Збудник пуллорозу
- 2.Протей
3. Ієрсинії
4. Збудник бруцельозу

1

Збудник пуллорозу

Пуллороз (бацилярна біла діарея) — інфекційна хвороба птиці, яка характеризується ураженням кишечника, а також паренхіматозних органів у курчат і переродженням фолікулів яєчника у дорослої птиці.

Збудник — *S.gallinarum-pullogum* із родини ентеробактерій, яка відрізняється від інших сальмонел насамперед нерухомістю. Мікроб поліморфний — поряд з типовими паличками зустрічаються . кокові та ниткоподібні форми.

Культуральні властивості. Збудник росте на простих середовищах як аероб або факультативний анаероб при оптимальних температурах— 38 °С і рН 7,4—.7,5. На МПА утворюються круглі, гладенькі, напівпрозорі з випуклою вологою поверхнею колонії середньої величини. В МПБ — рівномірне помутніння середнього ступеня з наступним випаданням осаду.

Біохімічні властивості. Мікроб не розріджує желатин, не зсаджує молоко, не утворює аміаку й індолу, але продукує сірководень. Розщеплює глюкозу до кінцевих продуктів, а маніт, левульозу, галактозу, рамнозу — лише до кислоти.

Стійкість збудника у зовнішньому середовищі висока. Він зберігається у непроточній воді близько 200 днів, у ґрунті — понад

400 днів, у курячому посліді —до 100 днів. До високої температури чутливий, але при варінні курячих яєць гине лише через 8 хв. Дезинфікуючі засоби знищують цей мікроб через 5—20 хв.

Антигенна структура. Серовар *S.gallinarum-pullorum* містить О-антигенні фракції 1,9 і 12.

Патогенність. Найчастіше захворювання виникає у курчат перших днів життя, у яких розвиваються пронос, загальна слабкість, інтоксикація, що в більшості випадків закінчуються смертю. Чутливі також індиченята, цесарки, фазани, перепілки, горобці і деякі інші птахи, а також морські свинки, кролі, білі миші, курячі ембріони.

Патогенез. Збудник розмножується у легенях і кишечнику як у місцях первинного вторгнення, потім проникає в кров, заноситься у всі внутрішні органи, де розвиваються патологічні процеси, що переважно мають летальний кінець. У курей збудник проникає у яйця, з яких потім вилуплюються заражені курчата. При інкубації таких яєць значна кількість ембріонів гине.

Діагностика. Клініко-епізоотологічні і патологоанатомічні дані, підтверджують бактеріологічним дослідженням свіжих трупів курчат, в процесі якого виділяють чисту культуру збудника й ідентифікують її за культуральними ознаками та антигенною структурою. При можливості використовують тести ІФА, ПЛР.

Дорослу птицю обстежують на бактеріоносійство постановкою кров'яно-крапельної реакції з пулорозним антигеном на предметних стеклах.

Імунітет при пулорозі нестійкий, інфекційний.

Біопрепарати для специфічної профілактики і терапії захворювання не розроблені.

2

Протей

Представники роду *Proteus* входять в родину *Enterobacteriaceae*. Він включає *P. mirabilis*, *P. penneri*, *P. mxyofaciens* та *P. vulgaris*.

Вперше протей був описаний в 1885 р. Хаузером. Цей мікроб надзвичайно поширений у природі, може проникати в організм тварин, особливо новонароджених. У кишечнику здорових телят зустрічається у 40 % випадків, а у тих, що загинули від шлунково-кишкових захворювань,—до 100 %. Він пригнічує нормальну мікрофлору кишечника, особливо кишкову паличку, причому на ентеропатогенні її серовари практично не впливає. Для більшості штамів протей характерна гіалуронідазна активність. Токсигенність у мікроба має зв'язок з протеолітичними властивостями, зокрема здатністю розщеплювати, желатин. При переході в О-форму протей помітно підсилює лецитиназну активність, а його лецитиназа — це типовий токсин з вираженою гемолітичною дією. Штами протей, виділені від молодняку сільськогосподарських тварин, який загинув від шлунково-кишкових захворювань, продукують так звані «ранній» і «пізній» токсини. Останній з'являється у культуральній рідині після загибелі й розпаду мікробних клітин. Ранній токсин термолабільний білок, характеризується виразною ентеротоксичною дією.

Здатність протей виділяти ряд токсинів, виразний його антагонізм щодо нормальної мікрофлори кишечника, стійкість проти багатьох антибіотиків сприяють тому, що цей мікроб може помітно ускладнювати у новонароджених тварин перебіг шлунково-кишкових захворювань вірусної, бактеріальної і незаразної природи.

Існує експериментальне підтвердження самотійної ролі протей у

розвитку інфекційного процесу. При згодовуванні безмолозивним телятам 800 мл бульйонної культури протей з'являється профузний пронос, загальний токсикоз, який може закінчитися летально.

Морфологія, культуральні й біохімічні властивості. Бактерії роду *Proteus* — палички середньої величини, грамнегативні, рухливі перитрихи, спор і капсул не утворюють, характеризуються поліморфізмом.

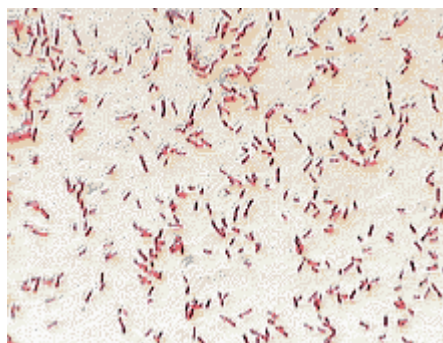


Рис.6. *P. vulgaris*, світлова мікроскопія.

Мікроб - факультативний анаероб, культивується на простих середовищах. На поверхні МПА спостерігається повзучий ріст, середовище поступово вкривається своєрідною вуаллю блакитно-димчастого кольору. При посіві культури в конденсаційну рідину вся поверхня скошеного МПА вкривається бактеріальною масою. В МПБ виникає дифузне помутніння, у старих культурах — білий осад, на поверхні рідини — ніжна плівка.

При переході мікроба в О-форму втрачається здатність до «роїння» і він росте у вигляді ізольованих колоній середньої величини. В біохімічному відношенні протей нестабільний. Він розріджує желатин, зсаджує і пептонізує молоко, відновлює нітрати і нітроти, розкладає сечовину з виділенням аміаку.

Антигенна структура. У представників роду *Proteus* розрізняють два основні антигени: Н-антиген — джгутиковий і О-антиген соматичний. Ендотоксин, що входить до складу О-антигену, є

глюцидо-ліпід-поліцукридним термостабільним комплексом. Розрізняють 98 сероваріантів протею за Н-антигеном і близько 50 сероваріантів за О-антигеном.

Для пригнічення протею в організмі, особливо при масових шлунково-кишкових захворюваннях новонародженого молодняка, бажано застосовувати неоміцин, мономіцин, левоміцетин, тераміцин, а також поєднання неоміцину з тераміцином. Мікроб досить стійкий проти еритроміцину, тетрацикліну, стрептоміцину.

3 ІЕРСИНІЇ

Рід *Yersinia* об'єднує кілька видів мікроорганізмів, патогенних для людей і тварин. Сюди відносять збудників антропозоонозної чуми — *Y. pestis*, псевдотуберкульозу — *Y. pseudotuberculosis*, кишкового ієрсиніозу — *Y. Enterocolitica*.

Збудник антропозоонозної чуми

Антропозоонозна чума — гостре інфекційне захворювання, що характеризується лімфаденітом, важкою інтоксикацією, ураженням легень, чисельними крововиливами в різних органах і тканинах.

Збудник — *Yersinia pestis* — відкритий і описаний в 1894 р. Кітазато і Іерсеном. Значний внесок у вивчення цієї інфекції зробив Д. К. Заболотний.

Морфологія. *Y. pestis* є короткою овоїдною поліморфною нерухливою паличкою розміром 1—2 x 0,3 — 0,7 мкм, яка добре фарбується аніліновими барвниками, часто біполярно, негативно за Грамом, не утворює спор (Рис. 7) . В мазках із патологічного матеріалу виявляють ніжну капсулу.

Культуральні властивості. Збудник культивується на звичайних

живильних середовищах в аеробних умовах при оптимальній температурі 28 °С і величині рН 7,0—7,2. На МПА утворює блискучі сірувато-білі колонії з випуклим центром, плоскими хвилеподібними краями у вигляді мережива (Рис.8). В МПБ утворюється поверхнева плівка, від якої спускаються вниз ниткоподібні пасма. Пізніше випадає розпушений осад. В МПЖ по ходу уколу утворюються бічні відгалуження ближче до поверхні, середовище не розріджується.



© 2004 Dennis Kunkel Microscopy, Inc.

Рис. 7. Вигляд ерсиній при електронній мікроскопії.



Рис.8. Колонії ерсиній на кров'яному агарі

Біохімічні властивості. Збудник активний у цукролітичному відношенні. Він ферментує глюкозу, арабінозу, мальтозу, левульозу,

маніт до кислоти без газу. Індол не продукує, сірководень виділяє непостійно; молоко не зсаджує, сечовину не розщеплює, редукуючі властивості відсутні.

Стійкість збудника у зовнішньому середовищі незначна і він швидко гине поза організмом. Кип'ятіння мікроб витримує до 1 хв, при нагріванні до 60 °С інактивується через 1 год. При низьких температурах зберігається добре: при 0 °С виживає до 6 міс, у патологічному матеріалі в холодильнику залишається живим до 18 міс. Чутливий до дезинфікуючих речовин і гине під впливом розчинів лізолу, фенолу, етилового спирту через 3—5 хв.

Антигенна структура збудника складна. У нього виявлено 18 антигенів, які локалізуються в капсулі, оболонці та цитоплазмі. Соматичний антиген є термостабільним поліцукридом, капсульний антиген представлений термолабільним білком. В активній фазі мікроб виділяє у зовнішнє середовище ліпопротеїдний антиген, який у комплексі з антигеном клітинної стінки пригнічує активність фагоцитів.

Патогенність. Із сільськогосподарських тварин до антропозоонозної чуми найбільш чутливі верблюди, а також осли, мули, свині, вівці, кози. В природних умовах збудник постійно зберігається в організмі щурів, ховрахів, тарбаганів, мишей та інших гризунів, в зоні існування яких створюються стаціонарні вогнища чуми. В умовах експерименту захворювання виникає у білих мишей, пацюків, морських свинок, кролів, ондатр і деяких інших тварин. Носіями збудника є блохи та кліщі. Інфекція дуже небезпечна для людей.

Патогенез. Збудник проникає в організм через ушкоджену шкіру й заноситься в регіональні лімфатичні вузли. Розвивається

лімфаденіт, у вогнищі якого формується первинний бубон. Лімфогенним шляхом збудник заноситься в інші лімфовузли, де утворюються вторинні бубони. Під впливом токсинів збудника в паренхіматозних органах з'являються крововиливи, прогресують дегенеративні зміни. Надходження мікробів у кров закінчується розвитком важкого, септичного процесу. В легенях розвивається серозно-геморагічне запалення, яке переходить в некротичне.

Діагностика. Виходячи з того, що чума є надзвичайно небезпечною і для людей, усі роботи, пов'язані з патологічним матеріалом, виділенням збудника і т. ін., проводять лише в особливих режимних лабораторіях. Застосовують бактеріологічний і серологічний методи. Мазки для мікроскопії готують із гною лімфатичних вузлів, паренхіматозних органів, кісткового мозку. Препарати фарбують за Грамом і метиленовою синькою Леффлера для виявлення біполярності. При наявності в мазках характерних кокоподібних біполярних бактерій роблять попередній позитивний висновок. Остаточний діагноз підтверджують після виділення чистої культури збудника і його ідентифікації на підставі морфологічних, культуральних, біохімічних даних, а також з урахуванням показників тесту з бактеріофагом (реакція; наростання титру фага — РНФ).

Обов'язково ставлять біопробу: суспензією патологічного матеріалу підшкірно заражають білих мишей або морських свинок, які у позитивних випадках гинуть на 5—7-му добу.

Серологічній діагностиці належить другорядне місце. Розроблені РЗК, реакція непрямой гемаглютинації і її затримки (РНГА і РЗНГА), реакція нейтралізації антигену (РНА), реакція імунодифузії у гелі (РІД) і деякі інші.

Імунітет. У перехворілих тварин створюється імунітет. Для

профілактики чуми у верблюдів застосовують живу вакцину із авірулентного штама «ЕВ», яку можна використовувати і в медицині.

Збудник псевдотуберкульозу *Псевдотуберкульоз* — природно-вогнищева хвороба, яка характеризується інтоксикацією, виникненням у внутрішніх органах, лімфатичних вузлах утворень, схильних до казеозного переродження і зовнішньо подібних до туберкульозних.

Збудник — *Yersinia pseudotuberculosis* — вперше виділений французькими вченими Л. Малассежом і Вігналом в 1883 р. із органів морської свинки. Термін «псевдотуберкульоз» ввів у 1885 р. С. Еберт для позначення хвороби тварин, в органах яких виявляли туберкулоподібні вузлики.

Морфологія. *Y. pseudotuberculosis* є поліморфною грамнегативною паличкою, яка частіше має овоїдну форму, є рухомою (лофотрих), не утворює спор, синтезує за певних умов капсулу. Величина окремих клітин, вирощених на штучних середовищах, коливається у межах 0,8— 1,2 x 0,5 — 0,8 мкм. В препаратах із агарових культур, вирощених при температурі 4—12 °С, збудник частіше має кокоподібну або овоїдну форму. В бульйонних культурах зустрічаються ланцюжки по 4—8 клітин. В алантоїсній рідині заражених курячих ембріонів і в культурах клітин утворюються ниткоподібні форми, які можуть переплітатися між собою. Збудник добре фарбується усіма аніліновими фарбниками, частіше — біполярно.

Культуральні властивості. Мікроб не вибагливий до живильних середовищ, типовий автотроф, може розмножуватися навіть у ґрунті та воді. Важливим фактором, здатним активно впливати на збудник, є температура культивування. Вважають, що температурний оптимум знаходиться в межах 24—37 °С, хоч найбільш інтенсивно збудник

розмножується при температурі 28—30 °С. Через те, що *Y. pseudotuberculosis* може розмножуватися і зберігати всі свої біологічні властивості при температурі 2—12 °С, її відносять до мікробів з очевидними психрофільними властивостями. Мікроб є типовим факультативним анаеробом, який розвивається в діапазоні рН від 6,6 до 7,8.

В рідких середовищах через 24 год з'являються рівномірне помутніння і ніжна поверхнева плівка, від якої вниз відходять ніжні тонкі відгалуження. На поверхні МПА утворюються колонії двох типів: S-варіант — діаметр до 1 мм, рівні краї, випукла поверхня, напівпрозорі. Через 48 год діаметр колоній досягає 2—3 мм, причому поверхня в одних з них може бути вологою з прозорими й рівними краями, у інших — сухою, горбкуватою з нерівними фестончастими краями. Колонії R-варіанта мають діаметр 5—7 мм, неправильної форми, з нерівними краями, піднятим центром і вираженою пігментацією.

Біохімічні властивості. Збудник псевдотуберкульозу ферментує до кислоти без газу глюкозу, арабінозу, мальтозу, маніт, рамнозу, маннозу, галактозу та деякі інші цукри, не розщеплює лактозу, сахарозу, інулін, дульцит, сорбіт, крохмаль, не росте на цитратному середовищі Сімонса, не дає реакцію Фогес-Проскауера, проте обумовлює позитивну реакцію з метиловим червоним, не розріджує желатин, редукує нітрати у нітрити, молоко не зсаджує. Мікроб утворює сірководень нерегулярно, не виділяє індол, продукує аміак.

Стійкість проти фізико-хімічних факторів у ієрсиній невисока. Вони чутливі до ультрафіолетових променів сонця, висушування, Проте добре переносять низьку температуру. При нагріванні до 60 %

гинуть в інтервалі між 15 і 60 хв. Тривалий час збудник виживав в ґрунті: в стерильному при температурі 18—20 °С — протягом 199 днів, в нестерильному — до 128 днів, в умовах холодильника — протягом 10 років і більше. 1 %-ний розчин фенолу вбиває його через 5 хв, а 3—5 %-ні розчини — через 30 с. Досить ефективними виявилися також нафталізол і лізол.

Антигенна структура. Розрізняють вісім серологічних варіантів або О-груп (1—8) з 20 О-факторами і 5 різних Н-антигенів, які позначають літерами a, b, c, d, e. В середині деяких сероваріантів розрізняють ще й підсероваріанти. Н-антиген термолабільний, діагностичного значення не має, оскільки містить спільний для усіх серологічних варіантів компонент.

Соматичний О-антиген термостабільний і визначає антигенну специфічність збудника.

Патогенність. Збудник псевдотуберкульозу в природі значно поширений. Його можна виділити із фекалій багатьох видів ссавців, птиці, земноводних, а також із різних об'єктів зовнішнього середовища та ґрунту. До псевдотуберкульозу певним чином чутливі усі теплокровні тварини, однак інтенсивність інфекційного процесу у них буває різна — від безсимптомних до важких летальних форм. Серед диких гризунів, овець і птахів захворювання частіше перебігає у формі епізоотій, спорадичні випадки спостерігаються серед кіз, великої рогатої худоби, коней, свиней, котів і лисиць. Епізоотії цієї хвороби із загибеллю тварин описані серед мавп, зайців, кролів, морських свинок, білих мишей, індиків, курей, ластівок і голубів. Люди заражаються псевдотуберкульозом при безпосередньому контакті з дикими і сільськогосподарськими тваринами, а також

через забруднені збудником продукти харчування і воду.

Патогенез вивчений недостатньо. Після проникнення в організм бактерії псевдотуберкульозу поширюються лімфогенним шляхом, зумовлюють бактеріємію. На фоні сенсibiliзації організму відбувається генералізація процесу з переважанням некротичних змін в органах і тканинах. Бактеріємія сприяє розвитку вторинних патологічних процесів у внутрішніх органах і лімфатичних вузлах, де утворюються сірувато-білі вузлики величиною від горошини і більше, схильні до казеозного переродження.

Провідними факторами патогенності у збудника є пілі адгезії (антиген колонізації), капсульна та екстрацелюлярні субстанції, які пригнічують, і навіть запобігають фагоцитозу. Крім того, мікроб виділяє термолабільний і термостабільний ентеротоксини, летальний токсин, цитотоксин та деякі інші.

Діагностика. Проводять бактеріологічні й серологічні дослідження. У лабораторію відправляють цілі трупи дрібних тварин або уражені внутрішні органи й лімфатичні вузли від великих тварин. У мазках із казеозних вузлів, пофарбованих водними розчинами анілінових барвників, виявляють скупчення поліморфних характерних паличок, які нерідко розміщуються у цитоплазмі фагоцитів. Для виділення чистих культур збудника висіви із патологічного матеріалу здійснюють на МПА з генціановим фіолетовим і кров'ю, середовища Ендо, Левіна, Морісса і спеціальне диференційно-діагностичне середовище № 67, запропоноване Г. Д. Серовим. Заключну ідентифікацію виділеної культури здійснюють з урахуванням ферментативної активності на середовищах Гісса, а також за показниками утворення індолу, сірководню, ацетилметилкарбінолу (реакція Фогес-Проскауера), росту на цитратному середовищі Сімонса, рухливості. В РА на склі і в

пробірках з типоспецифічними сироватками визначають сероваріант збудника.

Біопробу ставлять на білих мишах і морських свинках, яких заражають підшкірно. В позитивних випадках гинуть на 3—7—13-ту добу після зараження. При нанесенні виділеної культури на кон'юнктиву морської свинки через 2—3 доби розвивається серозний кон'юнктивіт, який прогресує і переходить у гнійний з ураженням рогівки. На 14—15-ту добу запалення проходить. При розтині тварин, які загинули внаслідок експериментального зараження, у печінці і селезінці знаходять некротичні вогнища. Із крові та внутрішніх органів при бактеріологічному дослідженні виділяють культуру збудника.

Імунітет вивчений недостатньо. Встановлено, що в системі захисту організму провідне значення відводиться фагоцитозу й антитілам класів IgM та IgG, які опсонізують збудника і разом з комплементом блокують його. В імуногенезі певну роль відіграє також гіперчутливість сповільненого типу.

Біопрепарати не розроблені.

4

Збудник бруцельозу

Бруцельоз — хронічне інфекційне захворювання багатьох видів тварин, яке характеризується абортами, ендометритами, маститами, артритами, бурситами, тендовагінітами, орхітами. На бруцельозхворіють також люди.



Давид Брюс

Незважаючи на те, що бруцельоз був відомий людству давно, вперше як самостійне захворювання він був описаний у людей в 1861 р. Мерстоном під назвою мальтійська гарячка. В інших місцевостях хворобу називали середземноморською, крітською, хвилеподібною гарячкою. Англійський лікар Давид **Брюс** із

селезінки солдата, який помер від мальтійської гарячки, виділив у 1886—1887 рр. збудника і назвав його *Micrococcus melitensis*. Банг і Огрібольдт (1897) при інфекційному аборті корів виділили збудника під назвою *B. abortus bovis*. В 1905 р. Замміт встановив, що джерелом мальтійської гарячки для людей виявилося сире козяче молоко. В 1909 р. Гутіра (Угорщина) і Траум (1914 р., США) виявили збудника інфекційного аборту свиней. Аліса Івенс (1918) вивчила згаданих вище збудників в порівняльному аспекті і знайшла у них багато спільного, що дало підставу Хадолсону (1928—1929) об'єднати їх у загальний рід *Brucella* на честь Брюса. При цьому було визначено три види бруцел: *Br. melitensis* (козячо-овечий), *Br. abortus* (бичачий) і *Br. suis* (свинячий). В 1953 р. Сімонс і Холл виділили збудника інфекційного епідидиміту баранів — *Br. ovis*; в 1957 р. Стоннер і Лакіман виділили від пустельних щурів *Br. neotomae*, а в 1968 р. Кермічел і Кенні довели, що у собак *Br. canis* фігурує як збудник епідидимітів і абортів.

Бруцели належать до групи «Грамнегативні аеробні мікроаерофільні палички і коки» першої категорії «Грамнегативні еубактерії, які мають клітинну стінку» прокаріотів і 6 видів: *Br. abortus*, *Br. melitensis*, *Br. suis*, *Br. canis*, *Br. neotomae* і *Br. ovis*.

Морфологія. За формою, величиною і деякими біологічними ознаками види бруцел не різняться між собою. Це дрібні кокоподібні бактерії (рис. 9) або невеликі палички з заокругленими кінцями величиною, $0,3 \times 0,6 \text{ мкм} \sim 0,6 \times 2,5 \text{ мкм}$, які не утворюють спор, нерухливі, фарбуються негативно за Грамом, утворюють ніжну капсулу. Порівняно з іншими бактеріями бруцели повільніше сприймають анілінові фарби і ця особливість є основою

диференційного методу фарбування їх за Козловським (рис. 10).

Сприймавши колір сафраніну, бруцели не встигають, («запізнюються») перефарбуватися малахітовою зеленню, зберігають червоний колір, у той час як інші види бактерій і клітин патологічного матеріалу залишаються зеленими. Дещо другорядне значення при фарбуванні бруцел мають методи Ціля — Нільсена у модифікації Стемпа, Шуляка — Щіна.



Рис.9. *Brucella abortus* (електронна мікроскопія)



Рис.10. *Brucella abortus* (світлова мікроскопія)

Культуральні властивості. Бруцели культивуються на елективних живильних середовищах при величині рН 6,8—7,2, таких як м'ясо-пептонний печінковий агар (МППА), м'ясо-пептонний печінковий бульйон (МППБ), картопляний агар, сироватко-декстрозний агар, глюкозо-гліцериновий агар і деяких інших.

Вони є гліцеринофільними бактеріями, у зв'язку з чим до середовищ додають гліцерин у кількості 2—3 %. Засіяні пробірки культивують у середовищі, де 10—15 % кисню заміщують вуглекислим газом. Ця вимога є обов'язковою щодо *Br. abortus* і *Br. ovis*. Бруцели інших видів можуть розвиватися і у звичайній атмосфері. Лабораторні культури збудника швидко адаптуються до аеробних умов і при наступних пересівах здатні культивуватися без CO₂.



Рис.11. Колонії *Brucella melitensis* на кров'яному агарі

На поверхні щільних середовищ бруцели утворюють дрібні блискучі випуклі колонії з рівними краями й поверхнею, які у відбитому світлі мають злегка блакитний, в падаючому — сіруватий колір (рис.11). При старінні культури утворюють пігмент і стають непрозорими. У рідких середовищах, з'являється рівномірне середнього ступеня помутніння, незначний осад і пристінне кільце. При струшуванні осад піднімається у вигляді ослизлої коси.

Швидкість росту бруцел залежить від кількості проведених пасажів на середовищах. При первинному виділенні перші ознаки росту з'являються через 15—30 днів і пізніше. Виділені культури ростуть швидше, колонії утворюються вже через 1—2 доби.

Біохімічні властивості у бруцел виражені слабо. Вони не розріджують желатин, проте гідролізують білки, пептони й амінокислоти з утворенням аміаку і сірководню. Збудник ферментує ряд вуглеводів, зокрема арабінозу, декстрозу, галактозу, ксилозу, левульозу, має каталазну активність, яка є показником вірулентності.

Стійкість бруцел проти високих температур незначна. Вони гинуть навіть при нагріванні до 55 °С через 1 год, до 60 °С — через 30 хв, при кип'ятинні — миттєво. Ультрафіолетові промені Сонця залежно від активності інсоляції вбивають бруцел за період від кількох хвилин до декількох годин. До дезінфікуючих речовин нестійкі і гинуть через 3—5 хв. В ґрунті бруцели зберігаються протягом 30—100 днів, у воді — від 6 до 150 днів, в молочних продуктах — від 40 до 60 днів, в молоці — від 6 до 8 днів, а при його скисанні — не більше чотирьох днів. У замороженому м'ясі залишаються живими не менше 320 днів, в овечій вовні — до 4 міс, в ліофільно висушених і запаяних ампулах — кілька років.

Антигенна структура. S-варіанти трьох основних видів бруцел містять загальний ліпоїдно-поліцукридний антиген і два відмінні між собою антигени А і М, співвідношення, яких становить у *Br. melitensis* 1 : 20, у *Br. abortus* — 20 : 1.

Патогенність. До бруцельозу чутливі практично усі види домашніх, сільськогосподарських, багато видів диких і промислових тварин. У великої рогатої худоби, овець, кіз і свиней хвороба може перебігати у вигляді ензоотій і епізоотій. У коней, верблюдів, буйволів, м'ясоїдних — спорадично. Хвороба дуже небезпечна для людей. Основним збудником бруцельозу в людини є *Br. melitensis*.

Інкубаційний період триває 2—3 тижні й більше. Клінічно бруцельоз перебігає невиражено й часто в латентній формі. Основна ознака хвороби — аборт у другій половині вагітності та затримання посліду. Інколи розвиваються артрити, бурсити, тендовагініти, у самців — орхіти. При первинному спалаху хвороби кількість абортів може перевищувати 50 %. В стаціонарно неблагополучних господарствах аборти проявляються спорадично.

Слід зазначити, що аборти спостерігаються переважно у самок парнокопитних тварин. Це пояснюється наявністю у їх матці цукру еритритосу, до якого бруцели особливо вибагливі. Самки інших видів тварин, хворі на бруцельоз, не абортують. Птиця в природних умовах до цієї інфекції стійка. Білі миші, кролі, особливо морські свинки, чутливі до бруцельозу і є основою експериментальної моделі при відтворенні хвороби.

Патогенез. В організм збудник проникає через слизові оболонки шлунково-кишкового тракту, органів дихання, статевих органів, кон'юнктиву і через шкіру. З первинного місця бруцели лімфатичними шляхами заносяться в регіонарні лімфатичні вузли, де

або знищуються при достатньо високій резистентності організму, або ж частіше надходять у кров і далі — в паренхіматозні органи. Після достатнього нагромадження вони концентруються переважно в лімфатичних вузлах і вим'ї; у вагітних тварин — проникають у матку, зумовлюючи тут запально-некротичні зміни, що й призводить до абортів. При зараженні вагітних тварин у пізній період родивідбуваються нормально, але досить часто новонароджені через 1—2 дні гинуть. У самців бруцели локалізуються у статевих органах і спричиняють запальні процеси в сім'яниках і придатках.

При утриманні тварин в добрих умовах через 1—1,5 року 40—60 % з них одужує, а для повного звільнення від бруцел усіх заражених і згасання інфекційного процесу необхідно 3—5 років.

Діагностику бруцельозу здійснюють на підставі бактеріологічних, серологічних і алергічних досліджень з урахуванням клініко-епізоотологічних даних.

Для проведення бактеріологічних досліджень в лабораторію відправляють абортований плід з оболонками (якщо він невеликий) або ж його шлунок, перев'язаний з обох боків, із вмістом, шматочки печінки та селезінки. Відбирають також проби молока в об'ємі 10—15 мл і вміст бурс. Від баранів при підозрі на інфекційний епідидиміт відбирають сім'яники з придатками, від вівцематок — абортовані плоди й виділення із родових шляхів. Бактеріологічна діагностика складається з трьох етапів: бактеріоскопії мазків, виділення культури бруцел і постановки біопроби.

Мазки із патологічного матеріалу фарбують методами Грама, Козловського. В усіх випадках бруцели фарбуються у червоний колір, проте останній метод дозволяє диференціювати бруцели, від інших мікроорганізмів, які забарвлюються у синій чи зелений колір. У

мазках бруцели мають вигляд дрібних кокобактерій, які розміщуються поодинокі, парами, а частіше — невеликими скупченнями.

Виділення бруцел здійснюють з використанням елективних живильних середовищ. При використанні забрудненого патологічного матеріалу застосовують прийоми, спрямовані на пригнічення сторонньої мікрофлори. Так, шматочки плаценти вносять у бактеріологічну чашку, заливають на 30 хв 3 %-ним розчином гідроокису калію, споліскують стерильним фізіологічним розчином, розтирають у ступці із стерильним піском і одержану суспензію засівають на середовища з бактеріостатиками (генціанвіолет або малахітова зелень) у концентрації 1 : 200 тис, кристалвіолет 1 : 100 тис, оцтовокислий натрій із розрахунку 0,125 мг на 1 мл середовища. Засіяні середовища інкубують у термостаті при температурі 37—38 °С протягом 1—2 міс. *Br. abortus* вирощують у мікроаерофільних умовах.

При виявленні ознак росту культури її ідентифікують за морфологічними, тинкторіальними і культурально-біохімічними ознаками. Остаточне віднесення виділеної культури до роду *Brucella* здійснюють після одержання позитивних даних у реакції аглютинації на склі і бруцельозною сироваткою. Міжвидову диференціацію бруцел проводять за ознаками, наведеними в таблиці.

Біопробу ставлять не менше ніж на двох морських свинках масою 350—400 г, у сироватці крові яких не повинно бути антитіл до бруцельозного антигену. Тварин заражують суспензією плодових оболонок або плаценти на фізіологічному розчині у співвідношенні 1 : 10 у дозі 1 мл. Можна використовувати також вміст бурс і молоко.

У зв'язку з тим, що бруцельоз у морських свинок перебігає приховано без клінічних ознак, для підтвердження позитивності біопрови від тварин беруть кров на 15—20-й і 40-й день після зараження і з одержаною сироваткою ставлять пробіркову РА з бруцельозним антигеном. Якщо в пробах розбавлених 1 : 10 і вище

будуть виявлені бруцельозні антитіла, біопробу оцінюють як позитивну — морських свинок забивають і при необхідності проводять бактеріологічне дослідження.

При серологічній діагностиці бруцельозу ставлять РА в різних модифікаціях, реакцію зв'язування комплементу (РЗК), реакцію тривалого зв'язування комплементу (РТЗК) та ІФА.

В Україні розроблено та впроваджено в практику ветеринарної медицини тест-систему діагностичну імуноферментну ДІА *Brucella* ab.-V, та *Brucelito-test* АВ. Остання дозволяє визначити вміст антитіл, специфічних щодо збудників бруцельозу у великої рогатої худоби, свиней, овець та кіз.

Найбільш достовірні дані одержують при постановці пробіркової РА з сироваткою крові досліджуваних тварин. Проби розбавляють фізіологічним розчином 1 : 25, 1 : 50, 1 : 100 і 1 : 200 — для свиней, овець, кіз, оленів і собак і 1 : 50, 1 : 100, 1 : 200, 1 : 400 — для великої рогатої худоби, коней і верблюдів. Допускається дослідження проб у двох розбавленнях (при масовій постановці реакції), але при одержанні позитивних результатів такі проби повторно досліджують у чотирьох розбавленнях.

Хворими на бруцельоз вважають тварин першої групи у випадку позитивної реакції в розбавленні 1 : 50 і другої групи в розбавленні 1 : 100 при інтенсивності реакції не нижче ніж на два хрести (плюси).

РЗК і РТЗК застосовують з метою діагностики бруцельозу у багатьох видів тварин. Обидві реакції ставлять в об'ємі 0,2 мл. В першому випадку досліджувані сироватки розбавляють 1 : 5 і 1 : 10 і пробірки в обох системах витримують на водяній бані по 20 хв при температурі 37—38 °С.

При дослідженні на бруцельоз сироваток крові великої рогатої худоби, овець, кіз, коней, свиней, буйволів, верблюдів і північних оленів застосовують також реакцію аглютинації з роз-бенгал антигеном (роз-бенгал проба — РБП).

Реакцію ставлять на емальованих пластинах з ямками, в які вносять досліджувані сироватки в об'ємі 0,03 мл, додають таку ж кількість бруцельозного антигену, забарвленого бенгальським рожевим.

Пластину злегка погойдують протягом 4 хв. При наявності в пробах сироватки антитіл до бруцельозного антигену з'являються дрібні й великі пластівці аглютинату рожевого кольору, які добре помітні на білому фоні пластини. РБП має орієнтовне значення. Всі проби сироваток, які позитивно реагували в ній, обов'язково досліджують у РА і РЗК. При одержанні позитивних результатів за допомогою РБП з сироваткою крові овець, кіз, свиней і північних оленів, які походять з небезпечних щодо бруцельозу господарств, тварин визнають хворими на бруцельоз і додаткових досліджень не проводять.

Кільцеву реакцію з молоком (КР) ставлять з метою підтвердження благополуччя стад великої рогатої худоби щодо бруцельозу.

Реакцію ставлять в уленгутівських пробірках, у які вносять по 0,05 мл бруцельозного антигену, забарвленого гематоксилином у синій колір, додають 1 мл молока, суміш ретельно перемішують, пробірки витримують у водяній бані або термостаті при температурі 37—38 °С протягом 1 год. В позитивних випадках у верхній частині стовпчика у шарі вершків утворюється чітке синє кільце, решта молока залишається білим (рис.12).

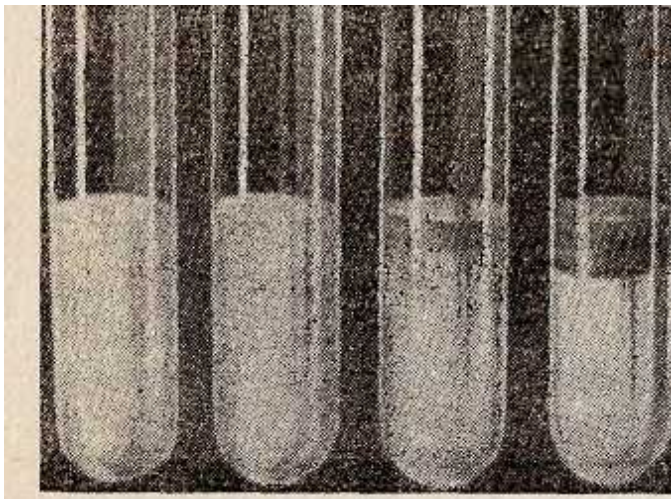


Рис.12. Кільцева реакція з
молоком при бруцельозі
(у 2-х пробірках праворуч —
позитивний результат)

Алергічні методи застосовують переважно для діагностики бруцельозу у овець, кіз і свиней. Тривалий час з цією метою використовували бруцеліват Здродовського (1937) та бруцелогідроліват Цуверкалова і Красова (1940). Тепер для алергічної діагностики бруцельозу використовують бруцелін.

Імунітет у хворих тварин розвивається повільно, у дві фази: перший період характеризується як нестерильний, інфекційний імунітет. У цьому випадку тварини проявляють підвищену стійкість проти повторного зараження за умови присутності в організмі збудника. Механізми такої стійкості переважно клітинні й пов'язані з високою активністю фагоцитів, функцію яких виконують ретикулярні та ендотеліальні клітини внутрішніх органів, лімфатичних вузлів, а також нейтрофіли та макрофаги.

Імунітет певної напруги зберігається деякий час і після звільнення організму від бруцел - у другій, так званій стерильній, фазі. Важливу роль в механізмах імунітету відіграють Т-лімфоцити, у той час як імунні глобуліни мають менш виразне проективне значення.

Для специфічної профілактики бруцельозу застосовують живу вакцину із штаму № 19 Br. abortus, запропоновану ще в 1923 р. Крім того, використовують суху живу вакцину із слабо-аглютиногенного штаму № 82 проти бруцельозу великої рогатої худоби, а також живу вакцину із штаму Рев-1 проти бруцельозу дрібної рогатої худоби.

ФРАНЦИСЕЛИ та ПАТОГЕННІ ПСЕВДОМОНАДИ

План

1. Збудник туляремії
2. Збудник сапу
3. Збудник меліюїдозу

1

Туляремія — природно-вогнищеве захворювання тварин, яке характеризується періодичною гарячкою, нервовими явищами, виснаженням, проносами, абортами, збільшенням лімфатичних вузлів. Це типова антропонозна інфекція, збудником якої є *Fr. tularensis*. Мікроб має три географічні різновиди: американська — *Fr. tularensis nearctica*, європейсько-азіатська — *Fr. tularensis holarctica* Ols., середньоазіатська — *Fr. tularensis media — asiatica* Aikimb. Францісели входять до роду *Francisella* 4 групи Грамнегативні аеробні / мікроаерофільні палички і коки.

Протягом 1908—1911 рр. Дж. Мак Кой і Ч. Чепін від пацюків, земляних білок і ховрахів виділили збудника, якого вони назвали *B. tularensis* за назвою провінції Туляре (Каліфорнія), де вперше спостерігалось захворювання гризунів. Американець Франціс (1921) запропонував назвати його «туляремія».

Туляремія зустрічається від тропіків до полярного кола, уражує 74 види тварин і птиці і має більше 70 різних переносників.

Морфологія. *Fr. tularensis* у мазках із патологічного матеріалу, одержаного від тварин з гострою формою ін'єкції, має вид коротких, тонких паличок величиною $0,7—0,2 \times 0,3$ мкм. У мазках із матеріалів менш сприйнятливих тварин зустрічаються кокоподібні, або коко-,

паличкоподібні форми мікроба величиною 0,2—0,6 мкм (рис. 13 та 14). Збудник нерухливий, фарбується грамнегативно, не утворює спор, капсулу має непостійно, облігатний аероб.

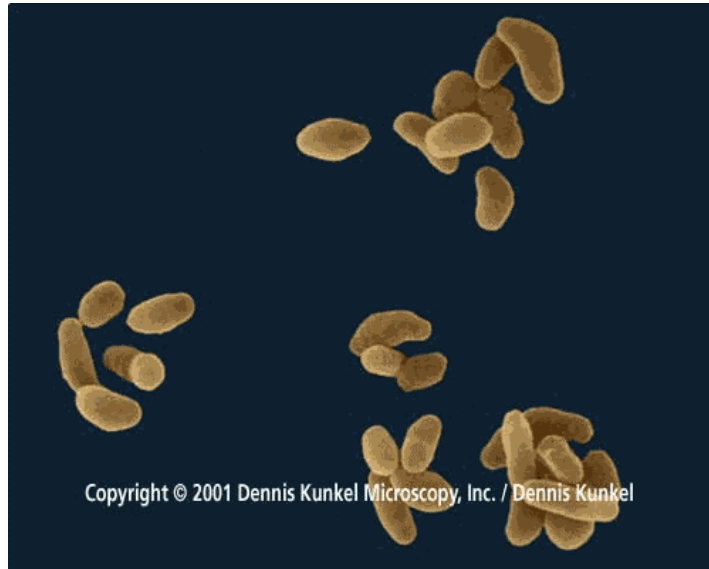


Рис. 13. Збудник туляремії. Скануюча ЕМ. Д.Канкел, 2001р.

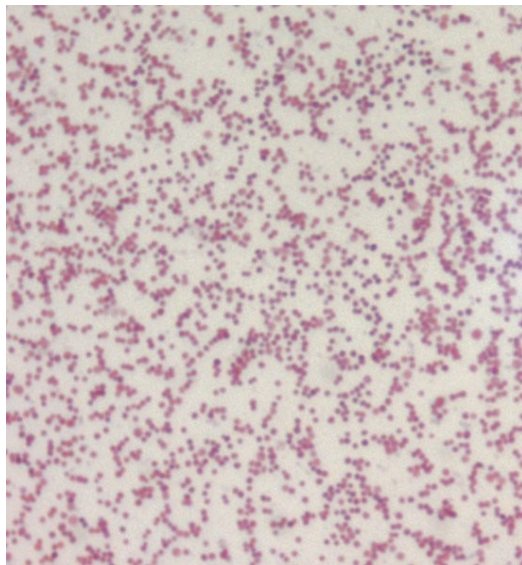


Рис. 14. Збудник туляремії. Світлова мікроскопія.

Культуральні властивості. Збудник досить вибагливий до середовищ, у яких в певних співвідношеннях повинні бути різні білки, амінокислоти, особливо цистин, вуглеводи, ростові фактори. На

жовтковому середовищі, що зсілося, на 2—7-й день утворюються, ніжні, зернисті, ослизлі, блискучі дрібні колонії, які зливаються в тонке нашарування. В напіврідкому (0,1 %-ному) агарі, виготовленому, на основі цистинового бульйону, спостерігається активний ріст у верхньому шарі, що має вигляд густої сірої плівки товщиною 0,5 см. Мікроб може також культивуватися в цистиновому бульйоні з глюкозою, на 10 %-ному кров'яному агарі (рис. 15), сироватці, що зсілася, у жовтковому міхурі курячих ембріонів, а також деяких культурах клітин.

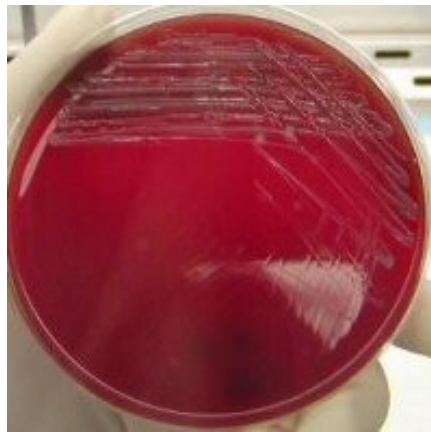


Рис. 15. Ріст збудника туляремії на кров'яному агарі.

Біохімічні властивості. Збудник інтенсивно продукує сірководень за рахунок утилізації багатого на сірку цистину. Індолу не утворює. З слабкою активністю ферментує глюкозу, мальтозу, манозу, левульозу, непостійно — гліцерин з утворенням кислоти без газу. Редукує деякі барвники (тіонін, метиленову синьку, малахітову зелень, нейтральний червоний).

Стійкість збудника проти низьких температур висока й навіть значна: у замороженому молоці зберігається до 104 днів, в замороженій воді — до 32 днів, переносить 30-разове заморожування і розморожування. У заморожених тканинах тварин, які загинули від

туляремії, мікроб виживає до 53 діб, у м'ясі — 93 доби. Гризуни, які загинули від цієї інфекції пізньої осені, є причиною весняної епізоотії. У хлібі, молоці, які зберігаються в звичайних умовах, туляремійний-мікроб виживає від 8 до 14 днів, у зерні — більше 133, в ґрунті — 75 днів. Нагрівання до температури 60 °C інактивує мікроб через 5 хв. В статевозрілих кліщах із роду *Dermacentor* збудник зберігається понад 700 днів. Дезинфікуючі засоби в звичайних робочих концентраціях надійно знищують його.

Антигенна структура. Незважаючи на існування серед *Fr. tularensis* трьох різновидів (рас), серологічних відмінностей у них не виявлено. Встановлена антигенна спорідненість збудника туляремії з бруцелями. Бактерії туляремії мають два основні антигени: О-соматичний і Н-антиген, що має зв'язок з оболонкою клітини. Поліморфізм мікроба безпосередньо залежить від бактеріофага, який уражує збудника. Полісахаридопептидний комплекс виконує функцію алергена.

Патогенність. До туляремії найбільш сприйнятливі мишоподібні та інші гризуни, у яких захворювання може перебігати у вигляді епізоотії і які є основними носіями збудника на сільськогосподарських тварин та людей. У кіз, овець, котів, ондатр, хом'яків туляремія може виникати у вигляді ензоотій. Спорадичні випадки інфекції спостерігаються серед вовків, собак, верблюдів, свиней, лисиць і значної кількості видів птахів. В умовах експерименту легко заражаються морські свинки, білі миші, коти, ховрахи, мавпи. Активними носіями збудника є кровосисні членистоногі, особливо іксодові кліщі, й деякі двокрилі комахи (комарі, гедзі).

Патогенез. Збудник проникає в організм аліментарним,

повітряно-крапельним шляхами і через укуси членистоногих носіїв, причому вторгнення мікроба можливе навіть через непошкоджену шкіру й слизові оболонки. Після первинного розмноження збудник потрапляє у лімфу і кров, зумовлює явище септицемії. Відбувається ураження стінок лімфатичних і кровоносних судин, у внутрішніх органах виникають некротичні фокуси. Можливе ураження нервової системи, яке проявляється збудженістю або пригніченням інколи з настанням паралічів. У механізмі розвитку патологічного процесу провідну роль відіграє ендотоксин, а також ферментні сполуки типу гіалуронідази, каталази, фібринолізин та інші, які розглядають як фактори поширення.

Діагностику туляремії здійснюють на основі бактеріологічних, серологічних і алергічних досліджень. Для бактеріологічного дослідження у лабораторію відправляють цілі трупи гризунів, в інших випадках — шматочки паренхіматозних органів, збільшені лімфатичні вузли, дотримуючись при цьому правил пересилки особливо небезпечних матеріалів.

Виготовлені із патологічного матеріалу мазки фарбують за методом Романовського — Гімза. У випадку виявлення у препаратах значної кількості кокобактерій роблять попередній орієнтовний висновок про наявність туляремійного збудника. Обов'язково проводять висіви на спеціальні живильні середовища для виділення його чистої культури. Ідентифікацію одержаних культур здійснюють на підставі морфологічних, культуральних, тинкторіальних даних, а також виходячи із результатів постановки РА в пробірках із специфічною туляремійною сироваткою.

Для підтвердження наявності туляремійного мікроба в

досліджуваному матеріалі ставлять біопробу. При цьому суспензією із патологічного-матеріалу заражають підшкірно або в порожнину очеревини білих мишей чи морських свинок у дозі 0,5—1—2 мл. Миші гинуть на 3—4-ту, інколи на 8—20-ту добу після зараження. У морських свинок після підшкірного введення матеріалу через 2— 6 днів на місці ін'єкції розвивається фокальна реакція у вигляді виражених гнійних інфільтратів, рідше—сирнистої виразки. Тварини гинуть через 6—15 днів, а тих, що вижили, забивають на 15—25-й день після зараження, проводять висіви із внутрішніх органів на спеціальні середовища.

При серологічній діагностиці ставлять пробіркову і кров'яно-крупельну РА з туляремійним антигеном, який являє собою суспензію інактивованих формаліном клітин при їх концентрації 10 млрд/мл. Діагностичні титри антитіл при туляремії — 1 : 25 — 1 : 50.

Ставлять також реакції гемаглютинації з еритроцитарним діагностикумом, пасивної гемаглютинації, преципітації.

Алергічний метод передбачає використання алергену тулярину, в 1 мл якого міститься 500 млн клітин туляремійних мікробів, убитих нагріванням при 76 °С протягом години. Препарат вводять внутрішньошкірно, реакцію враховують через 24 і 48 год.

Імунітет. У тварин, які перехворіли, виникає стійкий активний імунітет, який ґрунтується на клітинних, і гуморальних механізмах. У заражених тварин досить рано розвивається гіперчутливість сповільненого типу — в сироватці крові з'являються аглютиніни.

В медицині застосовують живу вакцину, яку розробили в 1946 р. М. А. Гайський і Б. Я. Ельберт. У ветеринарній медицині біопрепарати

не використовують.

Збудник туляремії проявляє **чутливість** до лівоміцетину, синтоміцину, стрептоміцину, біоміцину. Еритроміцин впливає на не всі раси мікроба. Він досить резистентний до пеніциліну, бацитрацину, поліміксину, ампіциліну, лінкоміцину.

2

ПАТОГЕННІ ПСЕВДОМОНАДИ

Псевдомонади надзвичайно широко розповсюджені у природі мікроорганізми. Їх виділяють з організму людини, тварин та різних об'єктів довкілля. Вони об'єднані у родину Pseudomonadaceae, що включає лише один рід *Pseudomonas*, до якого входять представники видів *Ps. mallei* - збудник сапу, *Ps. pseudomallei* - збудник меліоїдозу, *Ps. aeruginosae* - паличка синьо-зеленого гною.

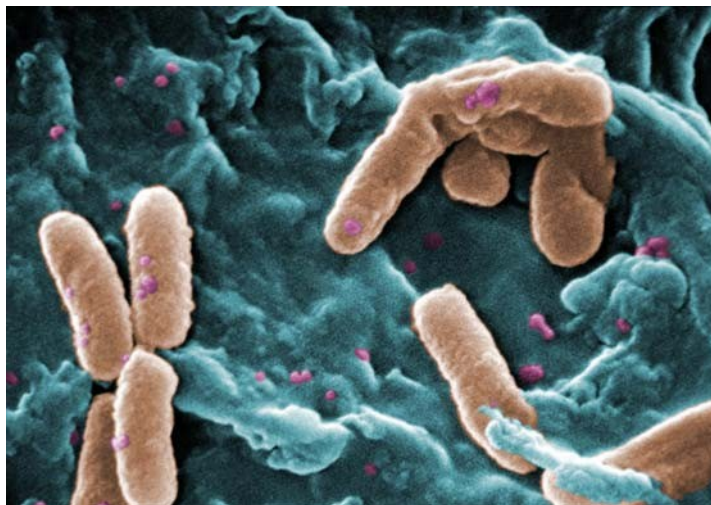
Збудник сапу

Сап — інфекційна хвороба однокопитних тварин, що перебігає частіше хронічно, характеризується утворенням специфічних вузликів у внутрішніх органах, на слизових оболонках і шкірі, при розпаді яких формуються різної величини виразки (рис. 35). Інфекція передається також людям.

Сап відомий людству давно. Його вперше описав Арістотель у IV столітті до. н. є. під назвою «malleus», яка збереглася і до наших днів. Збудника хвороби відкрили Леффлер і Шютц у 1882 р., який відомий під назвою *Pseudomonas mallei*.

Морфологія. Бактерії сапу — нерухливі, прямі або злегка зігнуті палички з заокругленими кінцями довжиною від 1 до 5 мкм і шириною 0,5—0,8 мкм, які не утворюють спор і капсул, грамнегативні (рис. 16).

Рис.16. Псевдомонади. СЕМ.



За рахунок нагромадження поліоксимасляної кислоти клітини збудника при фазово-контрастній мікроскопії, а також після фарбування за Романовським — Гімза та синькою Леффлера мають зернистий вигляд. Інколи зустрічаються нитко- і кокоподібні різновиди.

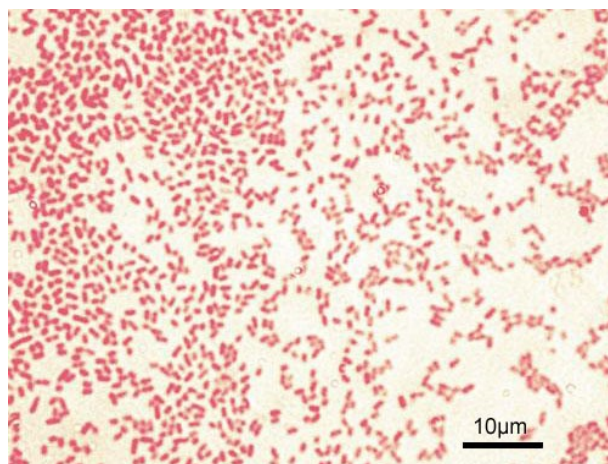


Рис. 17. Псевдомонади. Світлова мікроскопія.

Культуральні властивості. Збудник сапу культивується в аеробних умовах на звичайних живильних середовищах з додаванням 1—5 % гліцерину при оптимальній температурі 37 °С і величині рН 6,6—7,2. В гліцериновому МПБ спостерігається помутніння, а через 2—3 тижні на його поверхні утворюється ослизла жирна плівка. На МПА з гліцерином вже через 24 год після посіву з'являється сірувато-біле тягуче нашарування, яке в наступні дні набуває коричневого відтінку. На картоплі з гліцерином ріст збудника характеризується

появою дрібних напівпрозорих колоній, які зливаються в суцільний медоподібний пласт. Колір останнього змінюється від янтарно- жовтого до буро-коричневого.

Біохімічні властивості. Сапні бактерії ферментують лактозу і глюкозу до кислоти без газу, не розщеплюють сахарозу, маніт, мальтозу, не розріджують желатини, повільно зсаджують молоко, не утворюють індолу, відновлюють нітрати.

Стійкість проти фізико-хімічних факторів порівняно невисока. Сонячні промені знищують збудника через 24 год, при нагріванні до 80 °С він гине через 5 хв, у воді та гниючих матеріалах виживає до 14—30, у висушеному гною — до 7—15 днів. Широко застосовувані розчини дезинфікуючих речовин знищують збудника протягом 1 год.

Антигенна структура характеризується наявністю у складі клітин збудника як видоспецифічних антигенів полісахаридної природи, так і групових, що зближує сапні бактерії з *Ps. pseudomallei*.

Патогенність. У природних умовах, крім однокопитних, до сапу сприйнятливі коти, верблюди, в меншій мірі леви, тигри, пантери, леопарди, барси, борсуки, вовки, шакали, рисі. Дуже рідко на сап хворіють кози, сайги, ведмеді. В лабораторних умовах хворобу можна відтворити у кролів, хом'яків, їжаків, тхорів, кіз, овець. При введенні великих доз збудника сап виникає також у білих мишей, пацюків, свиней, великої рогатої худоби. Птиця і холонокровні тварини не чутливі до інфекції.

Патогенез. В організм збудник проникає через слизові оболонки носоглотки і кишечника, заноситься гематогенним і лімфогенним шляхами у внутрішні органи. Місця скупчення сапних бактерій оточуються макро- і мікрофагами, які їх

фагоцитують, але не знищують. Утворюється сапний вузлик, який в центрі некротизується, а його периферія вкривається сполучнотканинною капсулою. У таких випадках збудник гине. Якщо ж капсула не утворюється, то інфекція набуває дальшого поширення, внаслідок чого формуються нові вузлики. Як правило, в першу чергу уражуються легені, де розвивається лобулярно-лобарна пневмонія з смертельним кінцем. На слизових оболонках носа і в шкірі утворюються виразки різної величини. Внаслідок загальної інтоксикації і періодичної гарячки тварини худнуть і виснажуються. При гострій формі хвороба триває від 2 до 4 тижнів і частіше закінчується летально. Тривалість хронічної форми — від кількох місяців до кількох років.

Діагностику сапу здійснюють за допомогою серологічного, бактеріологічного та алергічного методів, причому перший з них має домінуюче значення. Серологічна діагностика ґрунтується на виявленні у сироватці крові хворих тварин антитіл до сапного антигену за допомогою РЗК. Діагностичним титром сироватки вважається розбавлення 1 : 10.

При бактеріологічній діагностиці проводять мікроскопічне, бактеріологічне й біологічне дослідження. Для мікроскопії мазки готують із гною та уражених тканин, фарбують за методами Грама,

Романовського—Гімза, Леффлера з використанням старих розчинів синьки. В позитивних випадках знаходять грамнегативні поліморфні палички, які розміщуються парами, у вигляді ниток. Спостерігається також нерівномірність забарвлення клітин (зернистість).

Для виділення культур збудника сапу із патологічного матеріалу висів здійснюють на гліцериновий МПБ, МПА, картоплю з гліцерином. Виділені культури ідентифікують на підставі морфологічних, біохімічних даних, досліджують на рухливість, а також ставлять РА на склі з сапною сироваткою.

Біопробу проводять на золотистих хом'яках або морських свинках. Суспензією патологічного матеріалу на фізіологічному розчині (1 : 10) підшкірно або в порожнину очеревини заражають золотистих хом'яків у дозі 0,1—1 мл, морських свинок — 3—5 мл. В позитивних випадках через 3—4 дні на місці підшкірного введення утворюється виразка, тварини пригнічені, у них виникають риніт, кон'юнктивіт, у самців — орхіт. Золотисті хом'яки гинуть на 5—7-й, морські свинки — на 8—15-й день після зараження. При розвитку клінічних ознак тварин усипляють ефіром, із внутрішніх органів роблять висіви на живильні середовища.

Масове дослідження тварин на сап проводять алергічним методом. Алерген малеїн наносять на кон'юнктиву в дозі 4—5 крапель. Реакцію враховують через 3, 6, 9, 12 і 24 год. При позитивній реакції кон'юнктива червоніє, набрякає, із внутрішнього кутка ока у вигляді тяжа виділяється слизисто-гнійна маса.

Імунітет вивчений недостатньо. В системі захисту організму певне значення мають антитіла, але клітинні фактори відіграють провідну роль. Розвивається гіперчутливість сповільненого типу. Тварини, які одужують, проявляють значну стійкість проти повторного зараження, тобто у них розвивається нестерильний імунітет.

Біопрепарати для специфічної профілактики сапу не розроблені.

Хворих тварин знищують.

3

Збудник меліоїдозу

Меліоїдоз (несправжній сеп, хвороба Уайтмора) — інфекційне захворювання тварин і людей, яке характеризується явищами септицемії і утворенням абсцесів у внутрішніх органах.

Захворювання, а пізніше і сам збудник, вперше описані в 1912 р. англійцем Уайтмором у Бірмі.

Морфологія. Збудник — *Ps. pseudomallei* — тонка, поліморфна, рухлива паличка розміром $2\text{—}6 \times 0,5\text{—}1$ мкм, грамнегативна, спор і капсул не утворює. У молодих клітинах, що тільки розділилися, є один полярний джгуттик, пізніше їх кількість збільшується до 4—6. Збудник фарбується усіма аніліновими фарбами, однак активніше вони сорбуються дистальними кінцями клітини, що призводить до її біполярного забарвлення.

Культуральні властивості. Мікроб належить до факультативних аеробів, культивується на звичайних середовищах. На МПБ виникає рівномірне помутніння, утворюється тонка плівка на поверхні рідини, яка пізніше випадає в липкий осад. На МПА виростають колонії двох типів: S — гладенькі, рівні; R — з нерівними краями і складчастою поверхнею. На 4—7-й день вони набувають жовто-коричневого відтінку. На спеціально обробленій картоплі утворюється прозоре нашарування, яке поступово тьмяніє і набуває коричневого кольору.

Біохімічні властивості. Збудник розріджує желатину, не утворює сірководню та індолу, відновлює нітрати у нітроти,

ферментує до кислоти без газу ряд вуглеводів, в протеолітичному відношенні слабоактивний, редукує метиленовий синій і нейтральний червоний.

Стійкість бактерій меліоїдозу у зовнішньому середовищі невелика. У ґрунті зберігаються до 1 міс, в трупах — до восьми, в сечі — до 17 днів. Нагрівання до 56 °С бактерії витримують до 10 хв, кип'ятіння знищує їх відразу. Поширені розчини дезінфікуючих речовин вбивають збудника через 24 год.

Антигенна структура. В складі клітин збудника виявлені К-, О-, Н- і М-антигени, причому соматичний О-антиген має спільність з аналогічним антигеном сапних бактерій.

Патогенність. До меліоїдозу чутливі практично всі сільськогосподарські, домашні тварини, деякі дикі гризуни, мавпи, а також люди.

Патогенез. Зараження тварин здійснюється через шлунково- кишковий тракт, дихальні шляхи та шкіру. Розвивається септицемія і бактеріємія з наступним осіданням збудника в органах, де утворюються дрібні вогнища й абсцеси. Виділення збудником термолабільної екзопротеази сприяє розвитку геоморагій і некрозу. На шкірі та слизових оболонках виникають виразки, а дрібні вузлики казеозно перероджуються. У місцях локалізації мікроба розвивається прогресуюче гнійно-абсцедуюче запалення. Селезінка збільшується за рахунок проліферації ретикулоендотелію, у печінці відбувається гіперплазія ендотелію синусоїдів, спостерігаються циркуляторні порушення з тромбозом судин селезінки та печінки.

Діагностику здійснюють в основному лабораторними методами, які ґрунтуються на бактеріологічному й серологічному дослідженнях. Культуру збудника виділяють шляхом висіву на живильні середовища із крові, сечі і гною абсцесів. Суспензією патологічного матеріалу заражають морських свинок підшкірно, самців — у порожнину очеревини. У першому випадку розвивається флегмона з розпадом шкіри і утворенням виразки. На 15—20-й день після зараження тварини гинуть. У другому випадку виникають орхіт і перитоніт.

Імунітет вивчений недостатньо. Певне значення у системі захисту організму від меліоїдозної інфекції відводиться комплексам зв'язуючим антитілам і аглютинінам.

Біопрепарати не розроблені.

Лекція 9 ПАТОГЕННІ МІКОБАКТЕРІЇ. ТУБЕРКУЛЬОЗ

План

- 1 Характеристика мікобактерій
- 2 Властивості мікобактерій
- 3 Збудник туберкульозу
4. Збудник паратуберкульозу

1 Характеристика мікобактерій

До складу роду *Mycobacterium* родини *Mycobacteriaceae* включені кислото- і спирторезистентні (ознака особливо виражена в паразитичних видів) аеробні, нерухомі грампозитивні прямі чи злегка вигнуті паличкоподібні бактерії. Іноді вони утворюють нитковидні чи міцеліальні структури, які фрагментуються при легкому механічному впливі на палички чи коковидні елементи. При культивуванні на живильних середовищах, особливо в старих культурах, мікобактерії утворюють довгі переплетені нитки з колбоподібними здуваннями на кінцях, що мають певну схожість з променистими грибами. Для них характерний високий вміст ліпідів і воску (до 60%) у клітинних стінках, утворених пептидоглікано-арабіногалактановим комплексом; деякі види утворюють каротиноїдні пігменти.

Мікобактерії повільно сприймають анілінові фарбники, але після забарвлення міцно утримують їх, незважаючи на короткочасну дію на них розчинів мінеральних кислот, спиртів, антиформіну, у зв'язку з чим їх назвали кислото-, спирто-, антиформіностійкими.

Мікобактерії об'єднують як патогенні види (збудники туберкульозу, паратуберкульозу, прокази), так і сапрофітні, яких можна виявити в ґрунті, воді, на рослинах, у молоці, зерні і т. п. На особливу увагу заслуговують так звані атипові мікобактерії, які мають певну спорідненість з туберкульозними мікобактеріями, здатні спричиняти параалергічні реакції і навіть викликати патологічні зміни в організмі свиней і великої рогатої худоби.

Ростуть повільно чи дуже повільно (сапрофітні види трохи швидше). Характерні біохімічні ознаки повільноростущих патогенних мікобактерій наведені в табл. 1. Мікобактерій широко поширені в навколишнім середовищі — воді, ґрунті, на рослинах і тваринах. Незважаючи на те, що в даний час ідентифіковано близько 40 видів, деякі автори вважають, що рід нараховує близько 200 паразитичних і сапрофітних видів; типовий вид — *Mycobacterium tuberculosis*. За ознакою патогенності розрізняють власне патогенні, які зумовлюють конкретні захворювання, і атипові мікобактерії. Окрім мікобактерій – збудників туберкульозу цей рід включає також так звані атипові бактерії – сапрофіти. Для систематики останніх запропоновані різні класифікації, засновані на генетичній подібності з *Mycobacterium tuberculosis* чи подібності із сапрофітними видами; серед запропонованих варіантів найбільшого поширення знайшла класифікація Раньона (1959), в основу якої покладені дві властивості — колір колоній і швидкість росту. Відповідно вона виділяє 5 груп мікобактерій — патогенні (*Mycobacterium tuberculosis*, *M. leprae*, *M. bovis*, *M. microti* і *M. lepraemurium*) і 4 групи атипових мікроорганізмів. Класифікація атипових мікобактерій за Раньоном передбачає розподіл їх на чотири групи. Перша група — фотохромогенні мікобактерії — при доступі світла утворюють жовтий або оранжевий пігмент, який надає відповідного кольору колоніям. До цієї групи належать *M. kansasii* і *M. marinum*, які виділяються із організму великої рогатої худоби та свиней. Друга група — скотохромогенні мікобактерії — утворюють жовто-оранжевий пігмент як на світлі, так і в темноті (*M. scrofulaceum*, *M. gordonae*, *M. paraffinicum*). Третя група — нефотохромогенні мікобактерії, які не утворюють пігмент, або лише його сліди. Четверта група — швидкоростучі мікобактерії, які утворюють колонії на 2—3-й день, у той час як представники перших трьох груп формують колонії на 10—30-й день.

До недавнього часу вважали, що атипові мікобактерії мають генетичну спорідненість із збудником туберкульозу і є формами його мінливості. Проте Вайн в 1971 р. на підставі аналізу нуклеїнових кислот, кількісної

таксономії і серологічних досліджень довів, що ати- пові мікобактерії є самостійними видами, а не мутантами *M. tubercu- losis*. Разом з тим існує думка, що збудник туберкульозу птиці слід відносити до атипових мікобактерій.

Бактеріологічні методи ідентифікації різних мікобактерій включають визначення наступних параметрів: здатність до утворення пігменту, швидкість росту, ріст при різних температурах, здатність до росту на МПА, форми колоній і мікроколоній, толерантність до NaCl і деякі біохімічні особливості.

Таблиця 1. **Біохімічні ознаки патогенних, повільноростущих мікобактерій**

Активність	M. marinum	M. tuberculos	M. bovis	M. avium	M. kansasii	M. scrofulaceu
уреаза	+	+	+	-	+	+
піразинамідаза	+	+	-	+	±	+
кисла фосфатаза	+	+	+	-	+	-
відновлення	-	+	-	-	+	±
α-естераза	-	+	+	+	-	±
каталаза	±	-	-	±	+	+
аккумуляція ніацина	-	+	-	-		-
гідроліз твіну	+	±	-	-	+	-

2

Морфологія і тинкторіальні властивості.

Тонкі, прямі чи злегка вигнуті палички розмірами 1-10x0,2-0,6 мкм, зі злегка закругленими кінцями; у цитоплазмі містять зернисті утворення (2-10). Морфологія істотно варіює в залежності від віку культури й умов культивування — у молодих культурах палички більш довгі, а в старих схильні до простого розгалуження. Іноді утворюють коковидні структури і L-форми, що зберігають інфекційність, а також фільтрівні форми,

патогенетична роль яких залишається погано вивченою. Нерухомі, спор не утворюють, позбавлені капсул, але мають мікрокапсулу, відділену від клітинної стінки осмієфобною зоною. Кислоторезистентні, що обумовлено високим вмістом ліпідів і міколової кислоти в клітинній стінці, а також утворюють кислотолабільні гранули, що переважно складаються з метафосфату (зерна *Муха*), що розташовуються вільно або в цитоплазмі паличок. Грампозитивні, анілінові барвники сприймають погано; по *Цілю*—*Нільсену* зафарбовуються в яскраво-червоний колір, по *Муху-Вайссу* — у фіолетовий (йодофільність); гранули також фарбуються у відповідний колір.

Культуральні властивості. Аероби, але здатні рости факультативно у анаеробних умовах; вміст 5-10% CO₂ сприяє більш швидкому росту. Розмножуються поділом, процес проходить дуже повільно, у середньому за 14-18 год. Температурний оптимум 37-38°C; pH 7,0-7,2 (росте в межах 4,5-8,0). Для росту потребують присутності білкового субстрату і гліцерину, а також вуглецю, хлору, сірки, фосфору, азоту, факторів росту (біотину, нікотинової кислоти, рибофлавіну й ін.), іонів (Mg²⁺, K⁺, Na⁺, Fe²⁺). Для вирощування найбільше часто використовують щільні яєчні середовища (*Левенштейна—Йенсена*, *Петраньяні*, *Дорсе* й ін.), синтетичні і напівсинтетичні рідкі середовища (наприклад, середовище *Сотона*) і ін. На рідких середовищах ріст спостерігають на 5-7 добу у виді сухої зморшкуватої плівки (R-форма), що піднімається на краї пробірки; середовище залишається прозорим. У середовищах, що містять детергент (твін-80), дають рівномірний ріст по товщі середовища (особливо при періодичному струшуванні). На рідких середовищах і при внутрішньоклітинному розвитку добре виявляється характерний **корд-фактор** (трегалоза-6,6-діміколат), що обумовлює зближення бактеріальних клітин у мікроколоніях, їх ріст у виді серпантиноподібних кіс, що має відношення до вірулентності збудника. На щільних середовищах ріст відзначають на 14-40 добу у виді сухого зморшкуватого нальоту кремового кольору; колонії з піднятим центром, що нагадують кольорову капусту, крихкі, погано змочуються водою і мають

приємний аромат. Культури погано знімаються із середовища, а **при прожарюванні тріскають**. Під впливом антибактеріальних препаратів можуть дисоціювати з утворенням м'яких вологих S-колоній або рости у виді гладких чи пігментних колоній. Відмінна риса *Mycobacterium tuberculosis* — здатність до синтезу значної кількості нікотинової кислоти (ніацина), що використовують для її диференціальної діагностики з іншими мікобактеріями (ніациновий тест); одне з умов — необхідність посіву на середовище *Левентейна—Йенсена*, яке не містить малахітового зеленого (тому що барвник вступає в реакцію з використовуваними реагентами). На середовищах із жовцю утворюють сіруватий маслянистий наліт, утворений подовженими розгалуженими паличками.

Резистентність. Паличка *Koха* досить стійка до різних впливів: у молоці гине через 15-20 хв при температурі 60° С; при аналогічній температурі в мокротинні зберігається до години; при кип'ятінні гине через 5 хв. Пряме сонячне світло убиває паличку *Koха* через 45-55 хв, розсіяний світло — через 8-10 діб. Добре зберігається при висушуванні (до декількох тижнів). Звичайні хімічні дезінфектанти відносно мало ефективні; 5% розчин фенолу убиває *Mycobacterium tubercuhsis* лише через 5-6 год; збудник також здатний швидко виробляти стійкість до більшості антибактеріальних засобів.

3

Збудник туберкульозу

Туберкульоз (Tuberculosis) інфекційне захворювання людини і тварин, яке частіше перебігає хронічно й характеризується утворенням у внутрішніх органах і тканинах типових вузликів— туберкулів, схильних до казеозного переродження.

Туберкульоз людству відомий з давніх часів, проте його природа поступово з'ясовувалася, починаючи з середини ХІХ століття.

В 1896 р. Леман і Нойман віднесли збудника туберкульозу до роду *Mycobacterium*.

Мікобактерії віднесені до порядку Actinomycetales, родина Mycobacteriaceae. Рід Mycobacterium об'єднує близько 40 видів. Збудник туберкульозу має три основних види: Mycobacterium tuberculosis, M. bovis, M. avium а також M. murium, M. goodii, M. neoaurum. У «Визначнику бактерій» Берджі (1997) відносяться до Групи 21 «Мікобактерії».

Морфологія. M. tuberculosis — прямі або злегка зігнуті палички довжиною 1—6 і шириною 0,3—0,6 мкм (рис.18). Зустрічаються дуже короткі або видовжені й навіть гіллясті форми.

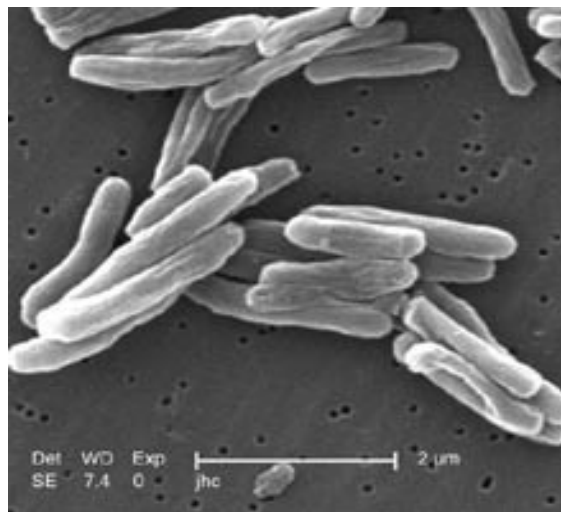


Рис.18. M. tuberculosis. Скануюча ЕМ (за Денніс Канкель, 2004 р.).

M. bovis— дещо коротші прямі або злегка зігнуті палички довжиною 1,5—2 і шириною 0,3—0,6 мкм. Цей вид є основним збудником туберкульозу у великої рогатої худоби, інших жуйних, рідше уражує людей, м'ясоїдних тварин і деякі види птиці.

M. avium — основний збудник туберкульозу птахів, інколи викликає захворювання у свиней і великої рогатої худоби. У нього виражений поліморфізм: поряд з тонкими прямими або зігнутими паличками мікобактерій туберкульозу зустрічаються кокоподібні й нитчасті форми (рис. 19).

За даними професора Власенка В.В. для збудника туберкульозу є закономірний біологічний цикл його розвитку: артроспори, дроблення,

ділення та інші, що визначає значний поліморфізм їх в процесі росту та розвитку і вимагає від дослідника особливої уваги під час інтерпретації результатів мікроскопічного дослідження відповідних матеріалів.

Збудник туберкульозу, як і інші мікобактерії, кислото- та спирто-стійкий, фарбується позитивно за Грамом, нерухливий, не утворює спор і капсул. Добре фарбується за методом Ціль-Нільсена; при цьому фіксований на полум'ї мазок фарбують карболовим фуксином Ціля з підігріванням до відходження пари протягом 3 хв, промивають водою і знебарвлюють 3—5 %-ним розчином сірчаної кислоти 5—7 с, промивають водою, додатково обробляють 70—90 %-ним етанолом протягом 3—5 с, промивають водою і фарбують контрастно метиленовою синькою Лефлера близько 1 хв. Промитий мазок висушують. Мікобактерії, проявляючи стійкість проти кислоти і спирту, зберігають червоний колір, інші бактерії і клітини патологічного матеріалу - сині.

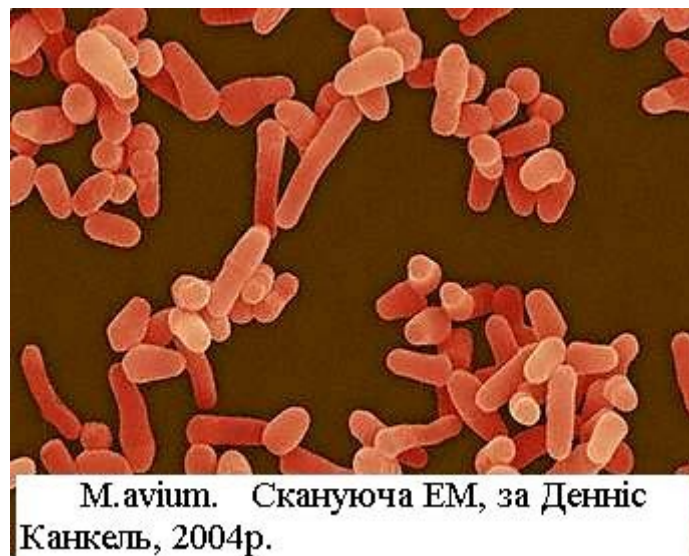


Рис. 19. *M. avium*. Скануюча ЕМ (за Денніс Канкель, 2004 р.).

Здатність мікобактерій протистояти короткочасному впливу мінеральних кислот, спиртів, антиформіну пояснюється в основному їх хімічною структурою. Зокрема, мікобактерії туберкульозу відрізняються високим вмістом ліпідів, на частку яких припадає 10—40 % сухої мікробної

маси. До складу ліпідів входять віск (5—12 %), нейтральні жири і фосфатиди, які імпрегнують бактеріальні клітини й надають їм гідрофобності. Крім того, віск містить значну кількість міколових кислот, які з основними фарбами утворюють міцну сполуку, стійку проти кислот і деяких інших хімічних речовин.

Збудник туберкульозу нерівномірно сприймає фарби, в зв'язку з чим має зернистий вигляд. В цитоплазмі знаходять різні за формою і величиною включення, названі зернами Муха. Крім цитоплазми їх можна виявити поряд з клітинами і навіть в мазках із патологічного матеріалу.

В цитоплазмі туберкульозних мікобактерій можна виявити також кілька вакуолей. Бактерії туберкульозу здатні утворювати дефектні щодо клітинної стінки форми, або такі, які повністю її втратили (L- форми). Останні можуть тривалий час існувати в організмі і реверсувати у початковий стан як тільки припиниться вплив трансформуючого фактора (антибіотиків, поверхнево активних речовин типу гліцину, лізоциму, мікобактеріофага). L-форми зберігають антигенність і під їх впливом утворюються антитіла. Однак патогенність цих форм порівняно з початковим типом значно нижча і при зараженні морських свинок розвивається в'ялий туберкульозний процес.

Культуральні властивості. Збудники туберкульозу культивуються на елективних живильних середовищах в аеробних умовах. *M. bovis* — мікроаерофіл і при пересівах він легко адаптується до росту в аеробних умовах. Оптимальна температура росту для *M. tuberculosis* 37—38 °C, *M. bovis* — 38—39, *M. avium* — 39—41 °C, з оптимальною рН для усіх видів 6,8—7,4.

Збудники туберкульозу дуже вибагливі до живильних середовищ. Останні повинні містити мінеральні солі, амінокислоти, фактори росту, деякі інші речовини й обов'язково гліцерин як джерело вуглецю (гліцеринові МПБ, МПА, картопля).

Для приготування елективного середовища Левенштейна — Ієнсена беруть 1 л яєчної маси (вміст яєць асептично виливають у колбу з бусами), 600 мл сольового розчину, до складу якого входять калій однозаміщений фосфорнокислий 2,4 г, магній сірчаноокислий — 0,24, магній лимоннокислий

— 0,6, L-аспарагін — 3,6 г, гліцерин — 12 мл, вода дистильована — 600 мл, додають 30 г картопляного борошна і 20 мл 2 %-ного стерильного розчину малахітової зелені. Со- льовий розчин стерилізують, в автоклаві при 1,5 атм. протягом 30 хв, після охолодження до нього додають стерильне картопляне борошно, яєчну масу й розчин малахітової зелені, фільтрують через паперовий фільтр, розливають у пробірки й піддають згортанню в нахиленому положенні при температурі 85 °С протягом 30 хв.

Широко застосовують також елективні середовища Гельберга, Петраньяні, Мордовського та інші, а також синтетичні — Сотона, Моделя та інші, рецептура яких і спосіб приготування описані в спеціальних довідниках.

На щільних живильних середовищах *M. tuberculosis* (рис. 20), на 20—30-ту добу після посіву утворює бородавчасті колонії (R-форма), рід- ше — з рівними краями і поверхнею (S-форма). У рідких середовищах на 15—30 -ту добу на поверхні утворюється потовщена зморщена плівка, краї якої дещо завертаються на стінки колби. Інколи на дні її помітні дрібні крупинки, рідина в усіх випадках прозора. *M. bovis* при первинному виділенні на щільних середовищах росте погано й перші ознаки росту з'являються лише через 30— 60 діб. Поступово формуються дрібні, круглі, вологі, майже прозорі колонії. Особливістю цього виду є те, що гліцерин затримує його ріст, у зв'яз- ку з чим на яєчних середовищах з гліцерином він росте, дуже погано, або й не розвивається зовсім. За рахунок мікроаерофільності в напіврідких середовищах колонії утворюються на глибині 9—20 см від поверхні. В рідких середовищах *M. bovis* утворює тонку, інколи сітчасту плівку, яка не покриває всієї поверхні рідини.

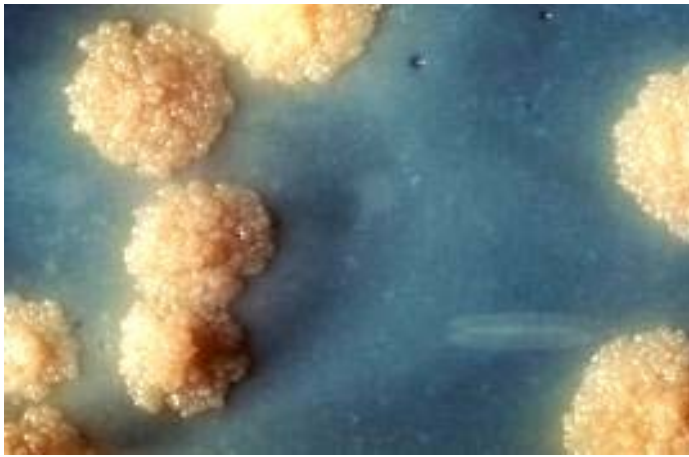


Рис. 20. Ріст мікобактерій на середовищі Петраньяні.

M. avium росте порівняно швидше. Починаючи з 20-ї доби, можна помітити утворення гладеньких, блискучих сірувато-білого або жовтуватого кольору кратероподібних колоній. Нерідко формується суцільне вологе ослизле нашарування. У рідких середовищах на дні пробірки колонії мають вигляд ватоподібного осаду. В інших випадках на поверхні середовища виникає спочатку суха, потім ослизла суцільна плівка.

Відомі також середовища, що «прискорюють» ріст збудника туберкульозу (Власенко В.В., 2002). Помітний ріст його можна спостерігати вже через декілька днів після посіву.

Антигенна структура. Для всіх мікобактерій спільним є термостабільний антиген поліцукридної природи. Кожен вид збудника туберкульозу має від 4—6 до 8—10 антигенних компонентів, серед яких є і групові. Зокрема, *M. avium* має 4, сапрофітні мікобактерії— 2—3 антигени, ідентичні з антигенами *M. bovis*. Це в значній мірі ускладнює імунологічну діагностику туберкульозу через групові реакції. Незважаючи на спільність антигенних комплексів, виявилось, що окремі антигени мікобактерій різняться між собою за кількісною і якісною структурою хімічних речовин.

Резистентність. Збудник туберкульозу у зовнішньому середовищі надзвичайно стійкий. В ґрунті зберігає життєздатність протягом 13 міс, в

глибших шарах не лише виживає, а й зберігає високу патогенність для кролів протягом 18 міс. У відкритих водоймах зберігається не більше 12 днів. У воді, що знаходиться у приміщенні і в повітрі при розсіяному світлі, залишається живим до 7 міс, в сухому посліді — до 12 міс, у глибокій підстилці — 12 міс, а в приміщеннях, які не обігріваються — більше дев'яти років.

Нагрівання до 60°C знищує збудника через 30—50 хв, але *M. bovis* витримує таку температуру навіть протягом 65 хв. При 80 °C туберкульозні бактерії гинуть через 5 хв, при кип'ятінні — у перші хвилини. В молоці резистентність мікробів посилюється і для їх знищення продукт необхідно нагрівати до 85°C протягом 30 хв, або до 90°C — 5 хв. Прямі сонячні промені інактивують збудника через 60 хв. Вплив мінеральних кислот мікроб переносить добре. В 5—10 %- ному розчині сірчаної кислоти залишається життєздатним протягом 24 год. У зв'язку з цим для дезінфекції при туберкульозі застосовують такі речовини як фенол, який у 8 %-ній емульсії знищує туберкульозних мікробів у ґрунті на глибині до 5 см через 24—48 год. 0,5%-ний розчин естостерилу знищує цих мікробів уже через 30 хв. Ефективними виявилися також 0,5%-ні розчини парасоду, фоспару й метафору.

Тривалий час збудник туберкульозу виживає в молоці і молочних продуктах. Якщо у молоці, він виживає при кімнатній температурі до 14—18 днів, то в сирі — 260, маслі — 300, а в молоці, яке зберігають у холодильнику,— до 280 днів. В замороженому м'ясі мікобактерії туберкульозу залишаються живими до року.

Патогенність. Найбільш чутливі до захворювання мавпи, морські свинки, велика рогата худоба, кролі, деякі інші тварини та люди. До резистентних тварин відносять буйволів, кіз, віслюків, собак і коней. Деякі види тварин можуть бути чутливими до одного і навіть трьох видів збудника. Наприклад, морські свинки, мавпи чутливі до мікобактерій людського і бичачого видів, а кролі — бичачого та пташиного.

Зараження при туберкульозі відбувається аерогенним, аліментарним і іншими шляхами. На місці вторгнення мікробів розвивається запалення з ушкодженням тканин, серозним набряком і навіть випадінням фібрину. Навколо вогнища запалення інтенсивно розмножуються клітинні елементи, внаслідок чого формуються туберкули величиною від макового до просяного зерна і більші. У складі останніх є епітеліоїдні і гігантські клітини, які з'являються у результаті трансформації проліферуючих гістіоцитів.

Захоплені макрофагами мікобактерії знищуються лише частково, більшість із них виживає і під впливом токсинів, що виділяються ними, відбувається проліферація макрофагальних елементів, з'являються лейкоцити та лімфоїдні клітини. В центрі туберкула клітини некротизуються за казеозним типом, у зв'язку з чим вміст туберкула нагадує сирнисту масу. Поступово навколо нього утворюється сполучнотканинна капсула, а сам вузлик петрифікується. Первинний афект, що утворився, або загоюється і мікобактерії у ньому гинуть (за умови високої резистентності організму), або ж прогресує. При цьому збудник лімфогенним шляхом поширюється в організмі, внаслідок чого туберкульозний процес часто уражує, лімфатичні вузли (бронхіальні, заглоткові, підщелепні та ін.).

Незважаючи на те, що аліментарно тварини заражаються часто, кишечник уражується рідко. Збудник туберкульозу проникає в лімфатичні вузли брижі, де й розвивається патологічний процес.

В туберкулах, навіть інкапсульованих, мікобактерії можуть зберігатись тривалий час. При прогресивному розвитку інфекції організм тварини постійно знаходиться під впливом токсинів збудника, токсичних продуктів, що виникають внаслідок загибелі клітин і некрозу тканин. Тварини поступово худнуть, знижують і навіть втрачають продуктивність і в деяких випадках гинуть від інтоксикації та втрати маси тіла.

Діагностика. Застосовують бактеріологічний, серологічний та алергічний методи діагностики туберкульозу.

Бактеріологічний метод передбачає проведення бактеріоскопії, виділення чистої культури збудника і постановку біопроби.

Для прижиттєвої діагностики від тварин відбирають проби молока, бронхіального слизу, фекалій. Після загибелі або забою беруть шматочки печінки, селезінки, легень і лімфатичні вузли. При наявності змін в органах відбирають ділянки з свіжими туберкулами. Матеріал в лабораторію пересилають у термосах з льодом або консервують 30 % - ним стерильним водним розчином гліцерину.

При виготовленні мазків для бактеріоскопії на межі здорової і ураженої тканин беруть шматочок матеріалу, який розтирають між двома предметними скельцями. У зв'язку з тим, що в них мікобактерій може бути мало, застосовують збагачення, суть якого полягає у центрифугуванні суспензії матеріалу при 3—5 тис. об./хв протягом 10—15 хв. При цьому мікобактерії випадають в осад, з якого й готують мазки.

Збагачення матеріалу можна досягти і методом флотації, який збільшує кількість збудника в полі зору не менше ніж на 10 %. Суть методу полягає у тому, що розтертий в ступці матеріал до консистенції сметани змішують порівну в 1 %-ним розчином їдкого натру, гомогенізують на шуттель-апараті, додають невелику кількість ксилолу або авіаційного бензину. Після 30-хвилинного відстоювання на поверхні суспензії у флаконі утворюється флотаційне кільце, в якому за рахунок спливання концентруються мікобактерії. З флотаційного кільця також готують мазки.

Із кожного матеріалу готують по два мазки, один з яких фарбують за методом Ціля — Нільсена, другий — флюорохромами для люмінесцентної мікроскопії. Мазки фіксують над полум'ям, потім фарбують протягом 10 хв сумішшю флюорохромів (на 100 мл дистильованої води беруть 0,1 г аураміну 00 і 0,01 г родаміну С). Препарат промивають водою і протягом 15 с знебарвлюють солянокислим спиртом (до 97 мл 70°-ного етилового спирту додають 3 мл соляної кислоти), знову промивають водою. Для погашення фону на препарат наносять на 2 хв розчин кислого фуксину (у 500 мл дистильованої води розчиняють 1 г кислого фуксину і 1 г льодяної оцтової кислоти), додатково обробляють 2 хв розчином метиленової синьки Лефлера,

промивають водою і висушують. Препарат досліджують у люмінесцентному мікроскопі. Мікобактерії за рахунок високого вмісту ліпідів інтенсивно поглинають флюорохроми і світяться золотистим кольором. За методом Ціля—Нільсена мікобактерії фарбуються у рубіново-червоний колір, розміщуються частіше невеликими скупченнями і поодинокі.

Культуральний метод передбачає виділення чистої культури збудника. При цьому особливого значення надають передпосівній обробці матеріалу, мета якої — знищення сторонньої мікрофлори. Практичне застосування знайшли методи Гона, Левенштейна, Суміюші, Алікаєвої та ін. Суть цих методів полягає у тому, що суспензію патологічного матеріалу заливають 5-10%-ним розчином однієї із кислот (сірчаної, соляної або щавелевої) у співвідношенні 1:4 і після відстоювання надосадову рідину центрифугують при 3 тис. об./хв протягом 10—15 хв. Надосадову рідину видаляють, осад відмивають центрифугуванням й використовують для посіву та зараження лабораторних тварин. Додатково можна обробляти матеріал ще і 4 %-ним розчином їдкого натру.

Посів матеріалу здійснюють на елективні середовища Левенштейна-Ієнсена, Гельберга, Петраньяні та інші, культивують в аеробних умовах. Із кожного матеріалу висівають на 5—10 пробірок. Слід пам'ятати, що при первинному виділенні мікобактерії туберкульозу ростуть повільно й слабо, особливо *M. bovis*.

Після одержання культур беруть до уваги такі показники, як час появи первинного росту, його інтенсивність, характер колоній (величина, форма, колір, консистенція), тинкторіальні властивості та морфологію бактерій у препаратах.

Для визначення виду виділеної культури ставлять біопробу на морських свинках, кролях і курах. Для диференціації *M. tuberculosis* і *M. bovis* двом морським свинкам підшкірно вводять виділену культуру у дозі 1 мг/мл фізіологічного розчину. Двох кролів заражають внутрішньовенно у дозі 0,1 і 0,01 мг/мл фізіологічного розчину. Обидва

види збудника у морських свинок викликають інтенсивний туберкульозний процес і тварини гинуть на -20—90-й день після зараження. У кролів генералізований туберкульоз викликає тільки *M. bovis*.

При цьому в легенях виникає багато туберкульозних вогнищ, на відміну від печінки та селезінки, де ураження можуть бути лише поодинокими, або й не зустрічаються зовсім. Через 2—3 місяці кролі гинуть.

M. tuberculosis не викликає прогресивно інфекційного процесу у кролів. Інколи виникають лише поодинокі туберкули в легенях і нирках. Остаточний висновок про результати біопроби роблять після забою тварин (через 3 міс), що залишилися живими, і їх патолого-анатомічного розтину.

У курей *M. bovis* і *M. tuberculosis* при внутрішньовенному зараженні не викликають захворювання, у той час як *M. avium* призводить до розвитку генералізованого септичного процесу й загибелі птиці на початку третього тижня.

Атипові мікобактерії. При патологічних процесах, подібних до туберкульозу, від людей і тварин у ряді випадків виділяють мікобактерії, за морфологічними і тинкторіальними властивостями ідентичні збуднику туберкульозу, проте не схожі на нього за культуральними, біохімічними та вірулентними характеристиками. Такі мікобактерії названі атиповими. Значення їх у патології остаточно не з'ясоване. Встановлено, що вони є основною причиною виникнення неспецифічних алергічних реакцій у великої рогатої худоби, їх виділяють у середньому від 20 % здорових тварин, причому 75 % ізолятів припадає на *M. avium-complex* (B. Donald). Підтверджено, що атипові мікобактерії спричиняють і патологічні зміни зокрема у свиней і великої рогатої худоби (мастити у корів, туберкульозоподібні ураження лімфатичних вузлів у свиней). У людей ці мікроби викликають захворювання, які одержали назву мікобактеріозів.

Алергічний метод діагностики ґрунтується на туберкуліновій пробі, суть якої полягає у тому, що у заражених туберкульозом тварин розвивається стан підвищеної чутливості до продуктів життєдіяльності збудника

(сенсibilізація) і на введенний алерген їх організм відпові- дає гіперергічною реакцією.

Тривалий час для алергічної проби застосовували старий туберкулін Коха. Нині випускають очищені ППД туберкуліни для ссавців і птахів окремо, а також комплексний алерген із атипових мікобактерій (КАМ).

При виготовленні туберкуліну культуру мікобактерій туберкульозу вирощують на синтетичному середовищі Сотона протягом 7—8 тижнів, мікробну масу стерилізують в автоклаві, з якої трихлороцтовою кислотою і сірчаноокислим амонієм осаджують білкову фракцію. Після її очищення діалізом специфічний білок туберкульозних бактерій поміщають у флакони по 20 мг (1 млн МО) для ссавців і по 10 мг (50 тис. МО) для птахів і ліофілізують. Одна Міжнародна Одиниця (МО) туберкуліну відповідає 0,000028 мг чистого туберкулопротеїну для ссавців і 0,0000762 мг — для птахів.

Великій рогатій худобі туберкулін вводять у середній третині шиї внутрішньошкірно в об'ємі 0,2 мл (доза — 10 000 МО) одноразово. Ре- акцію враховують через 72 год. Попередньо у кожної тварини кутиметром вимірюють товщину складки шкіри. Пробу вважають позитивною при потовщенні складки на 3 мм і більше незалежно від характеру реакції.

У зв'язку з можливими параалергічними реакціями, зумовленими сенсibilізацією організму тварин атиповими мікобактеріями, в благополучних господарствах, в яких одержано позитивну реакцію на туберкулін вперше, проводять додаткові патолого-анатомічні та бактеріологічні дослідження. З метою уточнення діагнозу ставлять і так звану симультанну пробу. При цьому з одного боку шиї тварині вводять туберкулін, з протилежного — КАМ по 0,2 мл. Якщо на КАМ реакція більш виражена і на туберкулін більшість тварин не реагує, то ферму вважають благополучною щодо туберкульозу. При цьому результати патолого-анатомічних досліджень повинні бути негативними.

Серологічний метод застосовують як додатковий для прижиттєвої

діагностики туберкульозу. Він ґрунтується на постановці реакції зв'язування комплементу (РЗК) з комплексним туберкульозним антигеном, розробленим в колишньому Українському НДІ експериментальної ветеринарії. Якщо в сироватці крові великої рогатої худоби виявлено антитіла в титрах 1 : 20 і вище, то таких тварин забивають для проведення бактеріологічних і патолого-анатомічних досліджень.

При виявленні позитивно реагуючих тварин в неблагополучних господарствах їх в першу чергу здають на забій як потенційних активних носіїв збудника туберкульозу.

В Україні запропоновано діагностичну тест – систему на основі ІФА ДІАТUB – VI для визначення протитуберкульозних антитіл у сироватках крові великої рогатої худоби.

Імунітет при туберкульозі нестерильний і забезпечується переважно Т-лімфоцитами. Повного захисту організму, як правило, не спостерігається, Імунітет існує доти, поки в організмі знаходиться збудник (явище премуніції) і зникає з виведенням чи знищенням його. У механізмі імунітету певна роль відводиться гіперчутливості сповільненого типу (ГСТ), яка перешкоджає поширенню інфекції в організмі і навіть сприяє видаленню мікобактерій. Підтвердженням клітинного механізму імунітету при туберкульозі виявився феномен Коха. Якщо при первинному підшкірному зараженні у морських свинок збудником туберкульозу через 10—15 днів на місці зараження утворювалася незагоювана виразка, то після повторного зараження з інтервалом у 4—6 тижнів, виразка швидко загоювалася.

Незважаючи на те, що у заражених тварин у сироватці крові з'являються антитіла, значення їх в імунітеті залишається остаточно не з'ясованим.

Для профілактики туберкульозу в медицині широко застосовують вакцину Кальметта і Герена, яку скорочено позначають BCG (Bacterium Calmett — Guerin). Дослідники культивували штам *M. bovis* на картоплі з

гліцерином в присутності жовчі. У результаті 230 пересівів протягом 13 років і негативного впливу жовчі штам повністю втратив патогенність для людей і тварин. У ветеринарній медицині цю вакцину поки що широко не застосовують, оскільки вона не гарантує створення належного імунітету, а щеплені тварини через деякий час починають позитивно реагувати на туберкулін.

Для лікування хворих на туберкульоз людей застосовують стрептоміцин, ПАСК, тубазид, фтивазид в поєднанні з дієтотерапією. У ветеринарній практиці хворих тварин не лікують через економічну недоцільність, а відправляють на забій.

4

Збудник паратуберкульозу (*Mycobacterium paratuberculosis*)

Паратуберкульоз (паратуберкульозний ентерит, хвороба Іоне) — хронічне інфекційне захворювання жуйних, тварин яке характеризується ентеритом, стійкими або періодичними проносами, прогресуючим виснаженням, утворенням набряків у підщелепному просторі і зоні підгруддя. Більшість тварин, що захворіли гинуть через 3—4 міс.

Захворювання під назвою «діарея корів» вперше було описано у 1829 р. У. Катрайтом в Англії. Х. Іоне і Г. Фротінгем в 1895 р. у мазках із слизової оболонки кишечника корови виявили збудника. У чистій культурі збудника вдалося отримати Ф. Туорту і Г. Інгрему в 1912 р. Нині це захворювання спорадично реєструється в багатьох країнах Європи, Африки, Америки, а також Нової Зеландії та Австралії.

Збудник паратуберкульозу — *Mycobacterium paratuberculosis* — представник родини мікобактерій. У «Визначнику бактерій» Берджі (1997) відноситься до Групи 21 «Мікобактерії».

Морфологія. *Mycobacterium paratuberculosis* — кислото-, спирто-, антиформіностійкі палички довжиною 0,5—1,5 мкм і шириною 0,2—0,5 мкм. Збудник поліморфний. Поряд з типовими паличками зустрічаються кокоподібні, диплококоподібні та інші форми.

Збудник нерухливий, спор і капсул не утворює, грамнегативний, добре фарбуються за Цілем — Нільсеном. Аероб. В мазках із патологічного матеріалу, особливо із підслизового шару ураженого кишечника, збудник виявляється у значній кількості. Розміщується купками, гніздами, рідше — по три, чотири або парами. Поодинокі палички зустрічаються лише на початку хвороби. Інколи виявляють зернисті палички, з потовщеним кінцем.

Культуральні властивості. *Mycobacterium paratuberculosis* культивується з великими труднощами, особливо в перших генераціях. На звичайних середовищах не росте. Використовують спеціальні середовища, що містять фактори росту, які одержують екстракцією із бактерій тимофіївки (*B. phlei*) або інших кислотостійких бактерій. Часто використовують середовище Данкіна, до складу якого входить печінковий екстракт, інактивовані бактерії тимофіївки, вміст курячого яйця і деякі інші компоненти; або ж середовище Дюбо-Сміта, основними інгредієнтами якого є гідролізат казеїну, аспарагін, спиртовий екстракт бактерій тимофіївки, інактивована сироватка крові великої рогатої худоби і ряд солей, таких як KH_2PO_4 , Na_2HPO_4 , MgSO_4 , CaCl_2 , ZnSO_4 , CuSO_4 . Всі середовища містить гліцерин. Посіви інкубують при температурі 38°C . Росте збудник дуже повільно. Перші ознаки росту заявляються через 18-20 днів і аж до 3 міс. На щільних середовищах виростають ледве помітні сірувато-білі, пізніше — дещо зморщені сухі колонії, які згодом зливаються в горбкувате нашарування з жовтуватим відтінком. На поверхні рідких середовищ (Дорсе, Данкіна, Вишневського) через 2—3 міс з'являється надзвичайно тонка плівка, яка поступово потовщується і опускається на дно.

Біохімічна активність мікобактерій паратуберкульозу проявляється надзвичайно слабо.

Резистентність. *Mycobacterium paratuberculosis* досить резистентний. В ґрунті, кормах і непроточних водоймах він може зберігатися до року. При нагріванні до 85°C мікроб гине через 5 хв, у молоці, нагрітому до 63°C , інактивується через 30 хв. Лужний розчин формальдегіду знищує збудника

через 3 год. Для дезинфікації використовують гарячі розчини.

Антигенна структура збудника вивчена недостатньо.

Встановлена його спорідненість із *M. avium*.

Патогенність. До паратуберкульозу найбільш сприйнятливі велика рогата худоба, вівці, олені. Рідше хворіють кози, верблюди, яки. Зрідка заражуються й свині. Лабораторні тварини стійкі до зараження. У кролів, хом'яків експериментальне захворювання відтворюється не завжди.

Більш сприйнятливими до інфекції вважаються чорні миші лінії С-57.

Звичайно захворюють тварини з ослабленою резистентністю організму, при порушенні фізіологічної функції кишечника. Збудник проникає і розмножується у підслизовому шарі стінки кишок, лімфатичних вузлах брижі і підщелепних. Токсичні продукти розпаду мікробів зумовлюють інфільтрацію і потовщення кишечних стінок. Порушується ферментативна, секреторна і всмоктуюча функція кишечника. Виникає дисбаланс мінерального, сольового і водного обміну. Спостерігається діарея, яка призводить до зневоднення організму, інтоксикації, виснаження. Це призводить до загибелі тварини.

Діагностика. Заключний діагноз на паратуберкульоз великої рогатої худоби вдається поставити лише за допомогою лабораторних методів досліджень. Для цього застосовують бактеріологічний, гістологічний, серологічний та алергічний методи дослідження. При підозрі на паратуберкульоз від хворих тварин надсилають для лабораторного дослідження фекалії. Від загиблих (чи забитих) тварин відбирають 3—5 різних ділянок тонкого кишечника та 2—4 лімфатичних вузли брижі. Із слизу або обривків слизової оболонки, а також лімфовузлів готують мазки, фарбують за методом Ціля — Нільсена. Виявлення в мазках дрібних кислотостійких паличок темно-червоного кольору, що розміщені скупченнями на синьому фоні, є підставою для попереднього позитивного висновку.

Перед посівом на живильне середовище патологічний матеріал з метою пригнічення сторонньої мікрофлори обробляють 3—6 %-ним розчином сірчаної кислоти та відмивають стерильним фізіологічним розчином. Висівають на казеїнове середовище Дюбо — Сміта. Посіви інкубують при температурі 38 °С протягом 3—4 міс. Культуру, що виросла ідентифікують за характером росту та іншими ознаками.

Біопробу не ставлять.

Серологічна діагностика. Здійснюють постановку РЗК. Використовують паратуберкульозний антиген у вигляді спиртового екстракту із клітин збудника. Інтерпретуючи результати РЗК слід пам'ятати про те, що вона може бути позитивною у випадку зараження тварин туберкульозом.

Алергічна діагностика. Як алерген використовують паратуберкулін (іонін), одержаний із паратуберкульозних культур, або пташиний туберкулін. За допомогою цього методу вдається виявляти інфікованих тварин у інкубаційний період.

Імунітет при паратуберкульозі, нестерильний. Він ґрунтується на гуморальних і клітинних факторах.

Засоби специфічної профілактики хвороби не розроблені. Немає також і ефективних засобів терапії.

ЗБУДНИКИ РИКЕТСІОЗІВ. ХЛАМІДІЇ

План

1. Характеристика рикетсій
2. Збудники рикетсіозів
3. Особливості хламідій

1

Рикетсії — своєрідна група мікроорганізмів, які разом з хламідіями займають проміжне еволюційне місце між бактеріями та вірусами. Вперше описані американським дослідником Х. Рикетсом в 1906 р. при вивченні етіології гарячки Скалистих гір і мексиканського висипного тифу. Бразильський мікробіолог Роша Ліма, який зробив значний внесок у вивчення подібних захворювань запропонував називати їх рикетсіозами, а збудників — рикетсіями.

У визначнику мікробів Бергі рикетсії знаходяться у відділі Gracilicutes, в якому дев'ята секція складається із двох порядків— Rickettsiales і Chlamydiales. У першому порядку налічується вісім родів, серед яких найбільше значення мають: Rickettsia, Coxiella, Ehrlichia, Cowdria та ін. У «Визначнику бактерій» Берджі (1997) відносяться до Групи 9 «Рикетсії і хламідії».

У біологічному циклі рикетсій особливе значення мають членистоногі (кліщі, воші та ін.), які є переносниками мікроорганізмів на тварин і людей. Крім патогенних, можуть зустрічатися і сапрофітні рикетсії. Більшість рикетсіозів є зоонозами. У тварин рикетсії викликають такі хвороби, як Ку-гарячку, рикетсійні моноцитоз, інфекційний гідроперикардит жуйних, кератокон'юнктивіт та інші хвороби. А у людей — висипний тиф, різного роду гарячки (марсельську, Скалистих гір).

Форми рикетсій варіюють від паличко-, ниткоподібних або кокових. Розміри коливаються у межах 0,2— 0,3 x 0,3— 1 мкм. Рикетсії — типові облігатні паразити, які культивуються в живих або переживаючих клітинних системах, зокрема, в епітеліальних клітинах кишечника вошей, кліщів, культурах клітин та у курячих ембріонах. Мікроорганізми грамнегативні, нерухливі, не утворюють спор і капсул, за субмікроскопічною структурою не відрізняються від грамнегативних бактерій. Для вивчення їх морфологічних особливостей фарбують спеціальними методами —

за Романовським

— Гімза, Маккіавелло, срібленням по Морозову.

2

Збудник Ку-рикетсіозу (*Rickettsia burneti*)

Ку-рикетсіоз (Ку-гарячка, рикетсіоз Бернета) — контагіозне, переважно безсимптомне захворювання тварин і людини, яке характеризується короткочасною гарячкою, кон'юнктивітами, пневмоніями, запаленням слизових оболонок, загальним пригніченням, абортами або мертвонародженнями, орхітами, метритами та тимчасовим безпліддям. Нині реєструється в багатьох країнах світу.

Хворобу вперше описав в 1937 р. Деррик в Австралії під назвою

«Q-fever» (Ку-гарячка). «Q» — прописна літера англійського слова

«Query» — не зрозумілий, не визначений. Виділеного від хворих людей збудника детально вивчили Бернет і Фрімен, у зв'язку з чим його назвали *Rickettsia burneti*.

Морфологія. Збудник — *Rickettsia burneti* відрізняється від інших видів рикетсій здатністю утворювати фільтрівні форми. Ниткоподібні різновидності рикетсій досягають в довжину до 20 мкм. Розміщуються у цитоплазмі уражених клітин компактними скупченнями.

Резистентність. Збудники можуть тривалий час зберігаються у зовнішньому середовищі. Так, у висушеній крові — до 6 міс., сечі—до кількох тижнів, фекаліях — більше року. Нагрівання молока до 90 °С збудник витримує протягом 1 год, проте кип'ятіння знищує його через 5 хв. Чутливий до ліпідних розчинників, таких як: ефір, толуол, хлороформ, 70 %-ний етиловий спирт. Слабкі розчини хлораміну і фенолу інактивують його вже через декілька хвилин.

Патогенність. Чутливими до захворювання є велика рогата худоба, вівці, буйволи, верблюди, собаки, свині, коні, деякі інші тварини та птиця.

Встановлено, що переносчиками рикетсій є пасовищні кліщі, а активно поширюють збудник у природі гризуни, дикі тварини й птахи. Люди та тварини

заражаються при укусах кліщів, а також аліментарно і аерогенно.

Інкубаційний період триває в середньому 3 доби. Хвороба починається гарячкою, гострими пневмоніями, запаленнями плаценти, абортами в другу половину вагітності, затриманням посліду. При ускладненні секундарною інфекцією хворі тварини нерідко гинуть.

Діагностика повинна бути комплексною і ґрунтуватися на клініко-епізоотологічних, епідеміологічних даних та на результатах лабораторних досліджень. Для виділення збудника використовують кров, яку відбирають у підозрюваних на захворювання тварин у період підвищення температури тіла. Кров вводять морським свинкам у внутрішньочеревно в дозі 5 мл або підшкірно та на слизові оболонки. Спостерігають за піддослідними тваринами протягом 5 днів. У тварин підвищується температура тіла більш ніж до 39,5 °С і тримається до двох тижнів часто без ознак гарячки. У заражених тварин виявляють переповнення кров'ю внутрішніх органів, помітне збільшення регіонарних лімфатичних вузлів і селезінки. Через 2—3 тижні після зараження у сироватці крові морських свинок за допомогою РА і РЗК знаходять антитіла проти збудника в титрах до 1: 160. Для виділення збудника заражають у жовтковий міхур також курячі ембріони, які зазвичай гинуть через 6 — 9 діб.

Із патологічного матеріалу готують мазки, які фарбують за методами Романовського — Гімза та іншими. У мазках рикетсії у вигляді дрібних паличок або коків розміщуються у цитоплазмі уражених клітин компактними скупченнями..

Алергічну діагностику Ку-рикетсіозу застосовують тільки у медицині.

Біопрепаратів для терапії і профілактики захворювання не розроблено. Для профілактики Ку-гарячки людей застосовують атенуйовану вакцину М-44.

Збудник рикетсіозного моноцитозу

Рикетсіозний моноцитоз (ерліхіоз) — інфекційне захворювання тварин, типовою ознакою якого є раптове підвищення температури тіла, загальне пригнічення та поступова втрата маси тіла. Тварини часто гинуть на фоні розвитку специфічної пневмонії.

У великої рогатої худоби, овець, кіз захворювання викликають *R. bovis*, *R. ovina*, у собак — *R. canis*.

Вперше рикетсіозний моноцитоз був виявлений в 1935 р. серед собак в Алжирі, збудника якого було віднесено до роду *Erlichia*. В наш час захворювання поширення в Африці, Франції, Туреччині та Ірані.

Збудники рикетсіозного моноцитозу в полі зору мікроскопу переважно овальної або паличкоподібної форми. В цитоплазмі моноцитів вони утворюють дрібні поліморфні включення. В процесі розмноження збудника включення можуть значно збільшуватися і нагадувати ягоду шовковиці.

Резистентність. До факторів зовнішнього середовища рикетсії моноцитозу малостійкі, їх існування в природі підтримують пасовищні кліщі із роду *Hyalomma*. В організмі заражених тварин рикетсії можуть зберігатися до 10 міс.

Патогенність. Патогенність рикетсій специфічна, внаслідок чого збудник моноцитозу собак не може викликати захворювання у інших тварин, а *R. bovis* не може переходити на собак. Рикетсії можуть проникати не лише в моноцити, а й в лейкоцити, що призводить до лейко- або тромбопенії. У внутрішніх органах і підшкірній клітковині часто виникають крововиливи.

Діагностика. Для постановки діагнозу на рикетсіозний моноцитоз із периферійної крові тварин готують мазки, які фарбують методом Романовського — Гімза. В позитивних випадках у моноцитах, рідше в лейкоцитах виявляють характерні включення (морули), які складаються з клітин рикетсій. При відсутності збудника в цих препаратах проводять пункцію печінки, селезінки або легень і одержані пунктати також досліджують на наявність включень у моноцитах.

Імунітет при цьому захворюванні нестерильний і триває протягом збереження

збудника в організмі тварин (до року).

Біопрепарати при цьому захворюванні не розроблені. Тому застосовують симптоматичне лікування, а також проводять боротьбу з кліщами — переносниками збудника.

Збудник інфекційного гідроперикардиту (Hydropericarditis infectiosa)

Інфекційний гідроперикардит (серцева вода, коудріоз, серцева водянка) — гостре трансмісивне захворювання тварин, переважно жуйних, для якого характерним є гарячка, септицемія, ураження нервової системи, нагромадження у порожнинах тіла ексудату та запаленням травного тракту. Вперше виявлена в 1838 р. в Південній Африці, а її рикетсійну етіологію встановив у 1925 р. Е. Коудрі. Нині поширена у країнах Африки, Близького Сходу, Американського континенту і деяких держав Європи. Смертність ВРХ становить, а овець і кіз від 40 до 90%.

Збудниками захворювання є рикетсії: у жуйних — *Cowdria ruminantium*, у свиней — *Cowdria suis*. Це невеликі, поліморфні, нерухомі, грамнегативні мікроорганізми круглої, овальної, рідше паличкоподібної форми величиною 0,2 X 0,5 мкм. Фарбуються аніліновими фарбами і за методом Романовського—Гімза. Збудник проявляє тропізм до ендотеліальних клітин кровоносних судин нирок, головного мозку, аорти.

Резистентність. В зовнішньому середовищі дуже нестійкий. В патологічному матеріалі зберігається близько 12 год, у деяких випадках—до чотирьох днів. У крові тварин, які перехворіли, збудник залишається активним до 60 днів. При зберіганні ураженого мозку в льоднику мікроб виживає до 12 днів.

В природних умовах резервуарами та переносниками рикетсій є іксодові кліщі із роду *Amblyomma*. До захворювання чутливі вівці, кози, велика рогата худоба, свині, газелі, антилопи. Із лабораторних тварин збудник уражує пацюків, кролів і морських свинок.

Патогенність. Рикетсії інфекційного перикардиту потрапляють в організм

тварин через укуси кліщів і концентруються в ендотеліальних клітинах судин з наступним розмноженням у них. За рахунок руйнування уражених клітин збільшується проникність стінок кровоносних судин, внаслідок чого в порожнинах тіла з'являється ексудат, а в паренхіматозних органах виникають крововиливи. Перебування рикетсій в крові є причиною гарячки, а їх вплив на нервову систему призводить до появи клінічних ознак, характерних для енцефаліту (рух тварин по колу, скреготіння зубами, судомливе посмикування м'язів, збудження або пригнічення).

Діагностика захворювання комплексна. Враховують клінічні ознаки, епізоотологічні й патолого-анатомічні дані з наступним проведенням лабораторних досліджень. Із ендотелію крупних судин готують мазки та гістозрізи, які фарбують методом Романовського — Гімза. Рикетсії блакитного кольору, розміщуються у цитоплазмі клітин компактними колоніями-включеннями.

Для виділення чистих культур збудника заражають курячі ембріони в жовтковий міхур. Для постановки біопроби використовують молодих тхорів, білих пацюків, ягнят.

Імунітет. Після перенесення хвороби розвивається стійкий імунітет тривалістю від одного до чотирьох років. Інактивовані вакцини імунітету не створюють, а живі — не розроблені.

Збудник рикетсіозного кератокон'юнктивіту (Keratokonjunctivitis richetsion)

Рикетсіозний кератокон'юнктивіт (повальна хвороба очей, повальний кератит, офтальмія) — гостре інфекційне захворювання багатьох видів тварин з ураженням очей і розвитком кон'юнктивіту і кератиту.

Етіологія захворювання не визначена. Але більшість дослідників вважають збудником рикетсії. Вперше хвороба була описана в 1951 р. Коулсом. Збудник захворювання *Rickettsia conjunctivae* характеризується значним поліморфізмом.

Форма збудника частіше за все еліптична. Величина їх 0,3—1,4 X 0,2—1,4 мкм, більшість з яких фарбуються біполярно. Культивуються в жовткового мішку 6—7-добових курячих ембріонів.

Резистентність збудника в зовнішньому середовищі незначна.

Патогенність. В природних умовах хвороба виникає серед поголів'я великої рогатої худоби, верблюдів, птахів і свиней. Основний шлях передачі збудника — повітряно-крапельний, а також через деякі види мух.

Діагноз. При виникненні масових кератокон'юнктивітів їх рикетсійну природу підтверджують результатами мікроскопічних досліджень мазків, які готують зі зскрібків кон'юнктиви й третьої повіка. Фарбують мазки за методом Романовського—Гімза.

Імунітет мало вивчений. Нині засобів специфічної профілактики хвороби не розроблено.

3

ХЛАМІДІЇ

На даний час понад три десятки видів збудників різноманітних форм інфекційних захворювань людини та тварин, що схожі за морфологією, циклом розвитку та наявністю групового антигену об'єднані в одну родину, котра має назву «хламідії» (chlamydia).

Хвороби, зумовлені хламідіями у ссавців, були описані Мак Нуттом і Стемпом лише в 40—50-х роках минулого століття переважно у великої рогатої худоби і овець, а пізніше їх виявили й у тварин інших видів. Захворювання телят із симптомами енцефаломієліту тої ж таки хламідозойної природи були описане в США у 1953 році, потім в Японії, Канаді, Швейцарії та Південній Африці. У 1958 році в США та ФРН одночасно було встановлено етіологічну роль хламідій у виникненні абортів в корів. Слідом за цими повідомленнями, подібні ж надійшли із Бельгії, США, колишніх НДР, Югославії та СРСР. Хламідіоз свиней в Україні виявив і описав Бортнічук В.А. із співробітниками у 1970-75 роках. Вчені одночасно досліджували епідеміологічну роль хламідій, виявлених у свиней. При

серологічному обстеженні обслуговуючого персоналу свинарських комплексів з'ясувалось, що у сироватці крові приблизно п'ятої його частини є антитіла проти групового хламідійного антигену. Тож всерйоз звернули увагу на хламідійну інфекцію в середині 70-х років минулого століття, коли накопичився достатній дослідницький матеріал для синтезу та аналізу справ із захворюванням як в гуманній, так і ветеринарній медицині.

Хламідії відносять до класу *Microtatiobias* (бактерії — облігатні внутрішньоклітинні паразити), порядку *Chlamydiales* ord. nov., родини *Chlamydiaceae*, роду *Chlamydia* з двома видами *Chl. trachomatis*, *Chl. psittaci*. У «Визначнику бактерій» Берджі (1997) відносяться до Групи 9 «Рикетсії і хламідії».

Вид *Chl. trachomatis* об'єднує збудників, що викликають у людей трахому, урогенітальну інфекцію, венеричну лімфогранульому, неонатальну пневмонію, а також ендемічну пневмонію у мишей. Представники цього виду в інфікованих клітинах утворюють компактні включення, що містять глікоген, здатний фарбуватися препаратами йоду. Включення розміщуються у цитоплазматичних везикулах, розрив яких відбувається на пізній стадії інфекції. Представники виду здатні синтезувати фолацин, у зв'язку з чим їх розвиток у клітинах пригнічується судьфадіазинном натрію. Збудники, що об'єднані у вид *Chl. psittaci*, утворюють у клітинах нещільні розпущені мікроколонії, які не фарбуються йодом через відсутність глікогену. Вони нечутливі до судьфадіазину натрію, в цитоплазмі уражених клітин реплікуються повсюди і частіше розташовуються вільно, оскільки мембрани везикул розриваються на ранній стадії інфекції. До цього виду відносять збудників хламідіозів сільськогосподарських, промислових і диких тварин, а також орнітозу птахів. Є дані, що серед представників обох згаданих видів існують імуноваріанти.

Хламідії, як самостійна група організмів, в еволюційному відношенні займають проміжне положення між рикетсіями та вірусами, що виникли в ході регресивної еволюції вільно існуючих мікроорганізмів і їх можна розглядати як попередників істинних вірусів. Подібно до вірусів хламідії можуть розмножуватись і активно існувати лише в живих клітинах, а з бактеріями їх зближує подібність

морфологічних і дещо хімічних структур. Будучи високоспецифічними паразитами на клітинному рівні, ці збудники не мають власного енергетичного обміну за винятком окремих фрагментів, скажімо деяких ферментів енергетичного метаболізму, що спонукають клітину-хазяїна до інтенсифікації обміну речовин на користь паразита на певних стадіях його біологічного розвитку. Отже, хламідії умовно залежні від енергетичного окремо і обміну в клітині- хазяїні в цілому, бо здатні його корегувати власними ензимами.

Здатність хламідій синтезувати деякі біологічні компоненти що характерні для бактерій, можна розглядати з одного боку як атавізм або нерівномірну еволюцію, а з іншого – як високий рівень розвитку адаптивних і компенсаторних механізмів збудника.

Хламідії від вірусів відрізняються тим що:

- хламідії, як і бактерії, мають обидві нуклеїнові кислоти – РНК та ДНК, а віруси одну з них;
- хламідії, як і віруси – внутрішньоклітинні паразити, однак на відміну від останніх у безпосередній контакт з геномом клітини не вступають;
- хламідії виявляються у клітині протягом всього циклу біологічного паразитування, а віруси у фазу репродукції не ідентифікуються;
- розмноження хламідій відбувається за рахунок власних структур, а віруси вимагають напрацювання окремих їх структурних компонентів клітиною паразитування;
- хламідії на відміну від вірусів містять енергетичні ензими.

Хламідії від близьких за структурою рикетсій відрізняються:

- за циклом розвитку хламідії не мають аналогів з іншими прокаріотами, а трансформація зрілих елементарних тілець у проміжні форми, бінарне ділення останніх, розмноження брунькуванням або внутрішньою фрагментацією та зворотній розвиток проміжних тілець до елементарних, створюють передумови для функціонування універсальних і взаємодоповнюючих механізмів біологічного

існування збудника і його циркуляції в природі, що вирізняє його від рикетсій, котрі не мають регулярного циклу розвитку і не володіють механізмами трансформації проміжних форм у дрібні та навпаки;

- за метаболічною активністю хламідії на відміну від рикетсій не синтезують і не використовують у своєму обміні макроергічних сполук (АТФ), не містять цитохрому і не виявлені системи перенесення електронів в елементарних тільцях і саме тому більш інтенсивно розвиваються у клітинах з високим рівнем метаболізму;

- у рикетсій інфекційні всі форми, а у хламідій виключно зрілі елементарні тільця;

- за локалізацією в клітині рикетсії розміщуються вільно, навіть дифузно, а хламідії знаходяться в особливих везикулах-автофагосомах;

- роль проміжних господарів в механізмах передачі збудника хламідіозу малозначима, тоді як для рикетсій вона суттєва майже для всіх видів збудника.

Морфологія. Морфологія хламідій своєрідна, а інфекційною формою є заокруглені елементарні тільця розміром величина яких коливається в межах 250—450 нм (рис. 16). Елементарні тільця є зрілою формою хламідій, котрі можуть знаходитись компактно у внутрішньоклітинних включеннях або бути розсіяними у цитоплазмі епітеліальних клітин, або ж поза ними у міжклітинній рідині. Вони нерухомі, грам-негативні, фарбуються за Маккіавелло переважно у червоний колір, а за Романовським-Гімза в червоно-фіолетовий. Забарвлення хламідій залежить від стадії розвитку. Під звичайним світловим мікроскопом цитоплазматичні форми мають вигляд краплинних утворень (рис. 21).

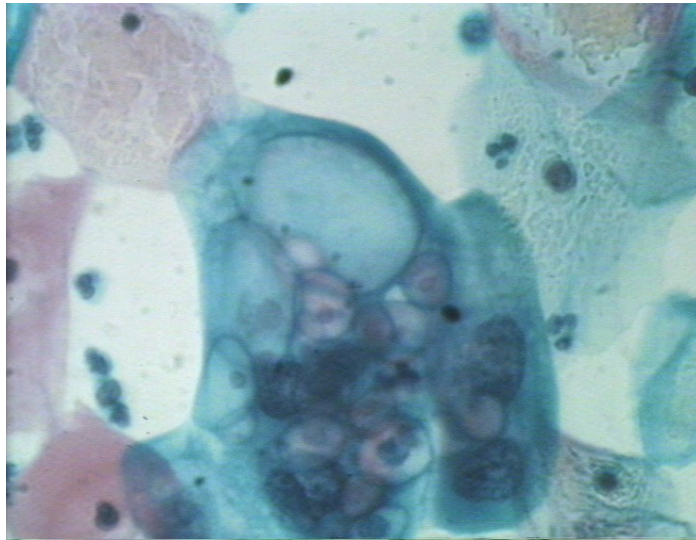


Рис. 21. Хламідії в заражених клітинах. Світлова мікроскопія.

Елементарні тільця мають двошарову оболонку, а рибосоми містять РНК і ДНК. Механізми розвитку хламідій включаються після ендоцитозу в цитоплазму епітеліальної клітини. В останній з'являються ендоцитозні вакуолі, котрі вміщують включення з колоніями часток на різному ступені їх зрілості. Приблизно через 16 год після враження, включення починають диференціюватися на дрібніші структури і повний цикл їх розвитку завершується через 40- 48 год (за деякими даними за 24-48 год). В клітинах, пофарбованих акридином оранжевим, включення спочатку забарвлюються в темно- червоний колір, характерний для РНК, а через 16 годин деякі з них набувають жовто-зеленого, характерного для ДНК забарвлення. Вважають, що новоутворені елементарні тільця можуть розпочати новий цикл розвитку у тій же клітині, призводячи до утворення включень другого покоління, котре на відміну від першого має більш крупні розміри. Зрілі форми хламідій утримують переважно ДНК. Цикл розвитку хламідій включає три основних етапи, а саме контакт елементарного тільца із чутливою епітеліальною клітиною, проникнення його у цитоплазму шляхом ендоцитозу та перетворення ретикулярних тілець через проміжні форми в елементарні тільця нового покоління. Елементарні тільця концентруються у вакуолях цитоплазми. У них же вони перетворюються у великі ретикулярні (сітчасті) форми до 800-1000 нм в діаметрі. Сітчасті форми неінфекційні і розмножуються шляхом бінарного ділення, перетворюючись у дрібні

ущільнені тільця. В одному цитоплазматичному включенні, як вже згадувалось, можуть знаходитись хламідії різних стадій розвитку та розмірів – дрібні,

великі і дуже великі заокруглені утворення-мікроколонії в 1-12 мкм діаметром, котрі розпадаючись вивільняють сотні елементарних тілець.

Хламідії як облігатні внутрішньоклітинні паразити в процесі розмноження проходять складний цикл з утворенням проміжних морфологічних форм. Основним компонентом чистої популяції хламідій є елементарні тільця, що мають сферичну або овальну форму. Хламідії розглядають як грамнегативні, нерухливі бактерії, що не утворюють спор і капсул.

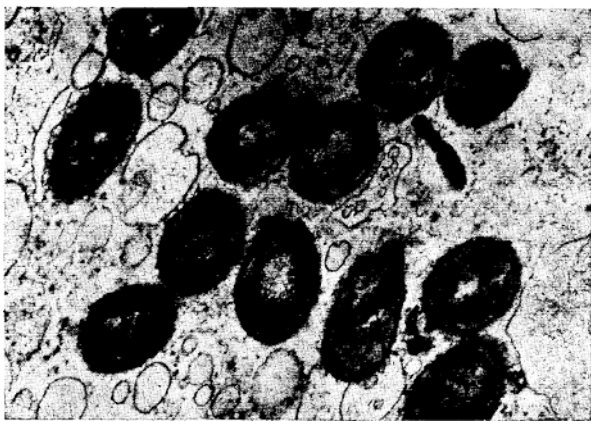


Рис.22. Зрілі елементарні тільця хламідій у цитоплазмі клітини (електронограма — інструментальне збільшення у 30 тис. разів, за В.А. Бортнічуком, 1994р.)

Хламідії оточені двома тришаровими мембранами, які нагадують клітинну стінку й цитоплазматичну мембрану грамнегативних бактерій. Всередині тілець ексцентрично розміщується нуклеоїд овальної або півмісяцевої форми і дифузний матеріал, що містить гранули типу рибосом.

Культуральні властивості. Як облігатні внутрішньоклітинні паразити хламідії не можуть принципіально культивуватися на штучних живильних середовищах. Тому для їх розмноження використовують живі клітинні системи: заражають курячі ембріони у жовтковий міхур, вводять відповідні матеріали в організм білих мишей, морських свинок або ж заражають культури клітин. Хламідії проникають у чутливі клітини, де й відбувається цикл їх розвитку, який, триває 48—72 год (рис. 23).

РЕПЛІКАТИВНИЙ ЦИКЛ ХЛАМІДІЙ

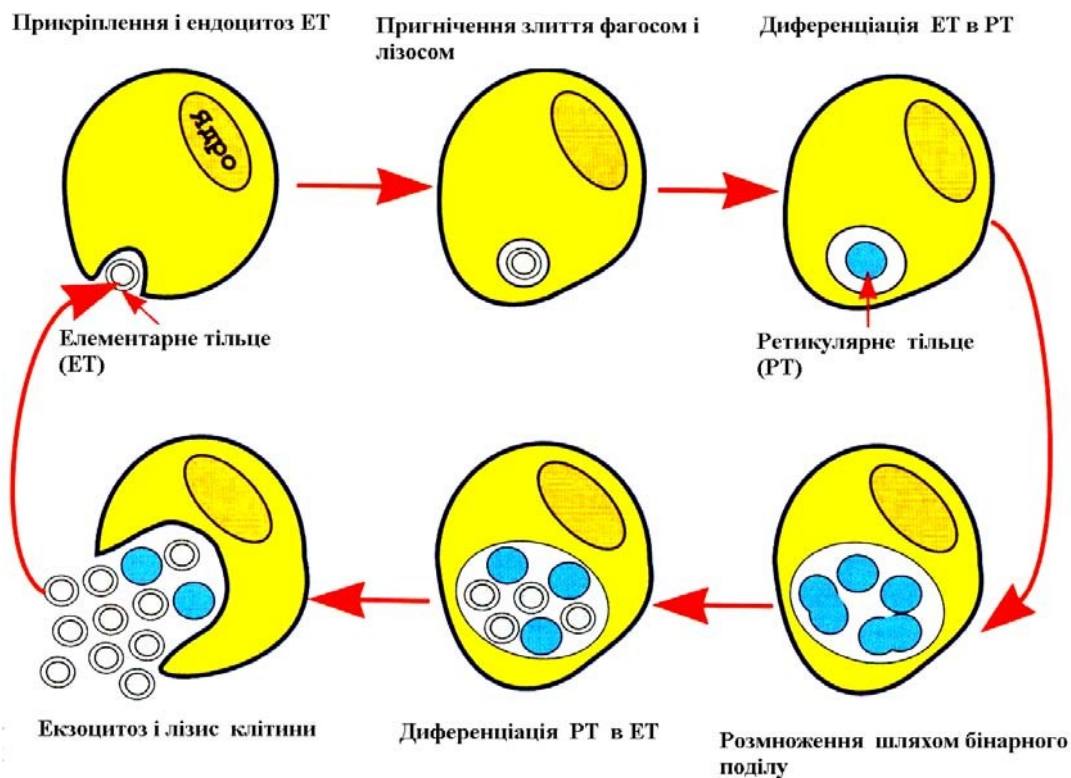


Рис. 23. Реплікативний цикл хламідій.

Резистентність. Збудники хламідіозу вважаються нестійкими до факторів навколишнього середовища. Хламідії гинуть при нагріванні до 55°C протягом 5 хв, а при 75°C вони інактивуються менше ніж за 1 хв. Збудник чутливий до ультрафіолету, прямі промені якого вбивають хламідій за 3 хв. При кімнатній температурі зберігаються до 10, у термостаті — до семи діб. Низькі температури зумовлюють консервуючу дію. При -42°C хламідії зберігаються протягом року, в ліофілізованому стані — більше чотирьох років, проте їх титри при цьому різко знижуються. Звичайні дезінфектанти такі як: 2-процентні розчини їдкого натрію, формальдегіду, хлораміну, йоду та ефір, кислоти, 70° етиловий спирт і перманганат калію, швидко вбивають збудників. Ліофільне висушування інфікованих жовтків з домішуванням 5% сахарози – найкращий спосіб тривалого зберігання життєздатних хламідій (до 3 років). У глибоко замороженій зрідженим азотом спермі (-196°C) хламідії не гинуть впродовж багатьох років, а у висохлій підстилці чи гною

тваринницьких приміщень вони зберігають патогенність протягом декількох місяців. При обробці патологічного матеріалу слід пам'ятати, що збудник нечутливий до стрептоміцину, канаміцину та гентаміцину. Чутливість хламідій до антибіотиків виявилася неоднаковою. Незначний вплив на них зумовлюють пеніцилін, стрептоміцин, поліміксин, мономіцин, неоміцин. Згубну дію щодо них мають антибіотики тетрациклінового ряду, зокрема окситетрациклін, а також рондоміцин, олемофоциклін, тилозин, ахроміцин.

Антигенна структура хламідій досить складна. Порівняно добре вивчено груповий термостабільний антиген, характерний, для усіх представників роду *Chlamydia*. Він витримує автоклавування при 135° С, стійкий проти трипсину, папаїну та нуклеаз. Термолабільний антиген характерний лише для конкретного виду, тобто є видоспецифічним.

Патогенність. Хламідіоз (гальпровіоз, бедсоніоз) – хронічна інфекція, яка у природних умовах хламідії уражують практично всі види сільськогосподарських, багато видів диких тварин і птицю.

Частіше хламідіоз уражує овець, кіз, свиней, велику рогату худобу, коней. Серед хламідій різного походження чітко спостерігається здатність до міграції і паразитування в організмі багатьох видів тварин. Переважна більшість хламідій, особливо збудник орнітозу, небезпечні для людини.

Клінічний прояв хламідіозу знаходиться у прямій залежності від епізоотичної ситуації. У стаціонарно небезпечних господарствах частіше спостерігається хронічний і навіть латентний перебіги хвороби. Хламідіоз може перебігати в декількох клінічних формах: генітальній, респіраторній, нервовій та змішаній. Захворювання досить небезпечне для людини. У новонароджених тварин розвиваються ентерит, пневмонія, кон'юнктивіт, артрит і нерідко енцефаломієліт. В багатьох видів птиці захворювання більше відоме під назвою орнітоз.

Патогенез хламідіозу вивчений мало. Місцем локалізації хламідій в усіх видів тварин є кишечник, звідки вони постійно надходять у зовнішнє середовище. Здорові тварини заражаються переважно аліментарним шляхом, а також через дихальний тракт, статеву сферу. Потрапляючи на слизові оболонки дихальних шляхів,

шлунково- кишкового тракту, кон'юнктиву хламідії проникають в епітеліальні клітини, макрофаги, де відбувається їх первинне розмноження. Запальний процес, що розвивається при цьому, клінічно проявляється у вигляді кон'юнктивіту, бронхопневмонії, ентериту. Внаслідок хламідемії збудник елімінується по всьому організму. У період вагітності хламідії розмножуються в плацентарній тканині, проникають у плід, зумовлюють дистрофічні й некротичні зміни в паренхіматозних органах, що призводить до абортів. У самців хламідії розмножуються в слизовій оболонці сечовивідного каналу, в тканині сім'яників. Виникає хронічний уретрит, вогнищевий орхіт,

баланопостит, простатит.

Діагностика. При діагностиці хламідійних інфекцій спираються на комплекс клінічних та епізоотичних показань, однак основною підставою для постановки діагнозу слугують результати лабораторних досліджень. У лабораторній діагностиці хламідіозу тварин застосовують бактеріологічний та серологічний методи, які використовують у відповідності до „Настанови з лабораторної діагностики хламідіозів сільськогосподарських тварин”, затвердженої Державним департаментом ветеринарної медицини Міністерства АПК України в 2008 році. Для лабораторних досліджень на хламідіоз направляють асептично відібрані шматочки плаценти, легенів, печінки, селезінки, лімфовузлів, вагінально-маточний секрет, сичуг абортів або цілий плід, сім'яники, ексудат з грудної або черевної порожнини, зіскоби з кон'юнктиви очей, слизової матки, еякулят в об'ємі не меншому 1 см³, глибоко заморожену сперму не менш 4 гранул, проби інших органів і тканин. Патологічний матеріал відбирають не пізніше ніж через 2 години після загибелі, забою або абортів в стерильні закриті гумовими пробками флакони. Флакони з патологічним матеріалом або еякулят транспортують в термосі з льодом, глибоко заморожену сперму в контейнері з рідким азотом в день відбору матеріалу, але не пізніше ніж за 24 години після відбору матеріалу, при умові зберігання на холоді з дотриманням застережень, що виключають розповсюдження збудника інфекції.

Залежно від епізоотологічної обстановки захворювання може перебігати в гострій, хронічній і латентній формах. В усіх випадках ураховують те, що інфекція уражує тварин різних вікових груп. При клінічному огляді звертають увагу на наявність у новонароджених тварин бронхопневмоній, ентеритів, кон'юнктивітів, ураження у 10—15 % тварин суглобів і центральної нервової системи. Кількість абортів і мертвонароджень значно коливається. Якщо серед корів протягом року абортують 7—10 %, то серед разових свиноматок цей показник досягає 100 %. Звертають увагу на погіршення якості сперми у плідників, ураження у них статеві сфери, скорочення періоду їх використання.

У лабораторіях ветеринарної медицини діагноз установлюють із

застосуванням таких методів:

- ізоляція хламідій на курячих ембріонах, лабораторних тваринах, культурах клітин з наступною ідентифікацією в реакції імуофлюоресценції (РІФ), імуоферментним методом (ІФА), полімеразно-ланцюговою реакцією (ПЛР);
- виявлення антигену хламідій в патологічному матеріалі та в спермі за допомогою РІФ, ІФА, ПЛР;
- виявлення хламідій методами світлової мікроскопії з подальшою ідентифікацією в РІФ;
- виявлення ДНК хламідій в патматеріалі, спермі, зіскобах з кон'юнктиви та слизвх оболонок генітальних органів за допомогою ПЛР;
- виявлення зростання титрів антитіл до хламідій у сироватках крові методами РЗК, РНГА, ІФА при дослідженні парних сироваток крові з інтервалом 2-4 тижні.

Діагноз на хламідіоз вважають установленим при одержанні позитивних результатів в одному з нижченаведених випадків:

- *хламідії виділені з патматеріалу або сперми на курячих ембріонах, лабораторних тваринах, у культурах клітин і ідентифіковані в РІФ, ІФА, ПЛР;*
- *виявлений антиген хламідій методами ІФА, РІФ;*
- *- хламідії виявлені за допомогою ПЛР.*

Із патологічного матеріалу готують мазки, які фарбують методами Стемпа, Макіавелло, Романовського —Гімза, толуїдиновим синім для звичайної мікроскопії і акридиновим оранжевим — для люмінесцентної. У мазках із плаценти, як правило, виявляють значну кількість хламідій на різних стадіях розвитку: дрібні елементарні тільця розміщуються невеликими скупченнями в цитоплазмі клітин або за їх межами; ініціальні тільця — парами, по чотири, короткими ланцюжками типу диплострептокока, скупченнями по 8,16, інколи й більше часток.

Після обробки акридиновим оранжевим зрілі елементарні тільця у люмінесцентному мікроскопі флуоресціюють зеленим кольором, проміжні форми відрізняються чергуванням оранжевих і жовтих тонів.

Концентрація тілець хламідій значно нижча в інших матеріалах порівняно з

плацентою. Методами Стемпа і Маккіавелло тільця хламідій фарбуються у червоний колір на синьому фоні, за Романовським—Гімза — в синьо-фіолетовий.

Важливе діагностичне значення має реакція імунофлуоресценції (РІФ), яку можна проводити в прямому і непрямому варіантах. У першому випадку використовують імунні хламідійні глобуліни, мічені ФІТЦ, які зв'язуються з тільцями, хламідій як з антигеном, що й сприяє їх інтенсивному світінню в люмінесцентному мікроскопі (рис.). Такі глобуліни можуть виявляти хламідії незалежно від їх походження.

Виділяти хламідії можна лише в спеціальних режимних лабораторіях. З цією метою спеціально обробленою суспензією патологічного матеріалу, звільненого від бактерій і грибів, заражають у жовтковий міхур 6—7-денні курячі ембріони. Специфічна загибель останніх розпочинається на 3—4-й день і триває до 10—12-го дня після зараження. У мазках із стінки жовткового міхура загиблих ембріонів виявляють тільця хламідій, які частіше розміщуються у вигляді нанист по периферії епітеліальних клітин.

Більшість штамів хламідій виявилися патогенними для молодняку білих мишей при різних способах їх зараження.

ЦПД в культурах клітин з'являються не раніше 4-го дня після зараження й характеризуються округленням клітин, які стають більш темними і відшаровуються від скла. В цитоплазмі клітин виявляють скупчення хламідій у вигляді колоній.

Виділені за допомогою курячих ембріонів, лабораторних тварин або культур клітин штами ідентифікують як хламідії на підставі морфологічних, тинкторіальних ознак та за антигенною структурою. При ідентифікації хламідій достовірні результати також одержують від застосування імуноферментного аналізу (ІФА). Допоміжне значення при діагностиці хламідіозу мають реакції дифузійної преципітації (РДП), гемаглютинації і її затримки (РГА та РЗГА), пасивної гемаглютинації (РПГА). Для серологічної діагностики хламідіозу найбільш вживаною є реакція зв'язування комплементу (РЗК) та її модифікації — інгібіторна РЗК і реакція тривалого зв'язування комплементу.

Алергічна діагностика хламідіозу майже не розроблена і застосовують її

тільки для виявлення орнітозу у людей.

Імунітет при хламідіозі переважно клітинний.

Спеціалісти ветеринарної медицини України для профілактики хламідіозу застосовують полівалентну інактивовану вакцину «Плах» (проти парвовірусної інфекції, лептоспірозу, хвороби Ауескі і хламідіозу свиней).

За кордоном застосовують комплексну вакцину для профілактики хламідіозу овець, великої рогатої худоби і свиней. Це жива ембріон- вакцина, виготовлена із штаму хламідій пневмонії котів, безпечного для сільськогосподарських тварин.

Від застосування імунних лікувальних сироваток на початковій стадії розвитку інфекції одержують позитивний ефект (особливо в телят) у поєднанні з іншими препаратами.

Терапія при хламідійній інфекції має бути з одного боку симптоматичною з метою полегшення перебігу хвороби для організму тварини, а з іншого – комплексною, направленою на придушення або ж хоча б пригнічення патогенних властивостей та вірулентного потенціалу збудника. Враховуючи органну локалізацію та змішану етіологію патогенних та проміжних форм інфекційного початку, підходи у боротьбі з хворобою мають бути такими ж як і при лікуванні змішаних вірусно-бактеріальних інфекцій з використанням противірусних, антибактеріальних та хіміотерапевтичних препаратів, здатних ефективно впливати на збудника.

Для лікування хворих на хламідіоз тварин використовують також антибіотики широкого спектра дії, особливо із групи тетрацикліну (біоміцин, окситетрациклін гідрохлорид, дибіоміцин, дитетрациклін, ангеміцину та ін.), макроліди групи тілану – тілозин, фармазин, а також препарати хінолонового і фторхінолонового рядів – офлоксацин, ципрофлоксацин, норфлоксацин, енрофлоксацин. Тут не слід забувати, що циркуляція хламідійної інфекції серед поголів'я, її багаторазовий пасаж через організми тварин із зниженою резистентністю, особливо молодняку, у кілька разів коли не на порядки підвищують вірулентність штамів мікроорганізму. Ось чому без попередньої лабораторної апробації терапевтичних засобів на чутливість до них хламідій, їх використання може бути малоефективним.

ПАТОГЕННІ СПІРОХЕТИ

План

1. Збудник лептоспірозу
2. Збудник дизентерії свиней
3. Збудник кампілобактеріозу
4. Збудник актинобацильозу

1

Збудник лептоспірозу (*Spirocheta interrogans*)

Лептоспіроз — зооантропонозне природно-вогнищеве захворювання теплокровних тварин і людини, яке перебігає в гострій, підгострій, хронічній і персистентній формах. Хвороба характеризується хвилеподібною гарячкою, жовтяницею, гемоглобінурією, некрозом слизових оболонок і шкіри, а також абортами. Інфекція реєструється на всій території України, та в багатьох країнах всіх континентів.

Повідомлення про захворювання людей, що були подібні з лептоспірозом, належить ще до середини XVIII століття. Природа цієї хвороби залишалася невідомою і її називали або за місцевістю, де вона виникала, або у зв'язку з виконанням певних робіт (болотна, водяна, лучна гарячка, хвороба свинопасів і т. ін.). І тільки в 1914 р. японські дослідники Інадо, Ідо та інші виділили із крові людини, яка хворіла на інфекційну жовтяницю, спірохету і в умовах експерименту відтворили захворювання на морських свинках. Вони назвали виділеного збудника *Spirocheta icterohaemorrhagiae*. Подібного збудника німецькі мікробіологи Уленгут і Фромме назвали *Spirocheta interrogans* і *Spirocheta nodosa*. Ще в 1917 р. Ногуші об'єднав відомі спірохети у самостійний рід *Leptospira* (гр. лептос — дрібний і спіра — завиток), а захворювання, яке вони викликали, назвали лептоспірозом. У «Визначнику бактерій» Берджі (1997) відносяться до Групи 2 «Аеробні (мікроаерофільні, рухомі, спіральні) вигнуті грамнегативні бактерії». Значний вклад у вивчення лептоспірозу внесли М. В. Земсков, В. І. Терських, С. Я. Любашенко та ін.

Морфологічно всі лептоспіри однакові й різняться за антигенною структурою.

В природі циркулює понад 220 сероваріантів об'єднаних в 23 серогрупи. Велика кількість їх є сапрофітами.

Збудником лептоспірозу є спірохета *L. interrogans*, куди відносять паразитичні лептоспіри, які живуть і розмножуються в організмі тварин. Крім того, існує група *L. biflexa*, яка об'єднує, вільноживучі, непатогенні лептоспіри, що зустрічаються у зовнішньому середовищі, переважно в вологих ґрунтах і мілких водоймах.

Нині патогенні лептоспіри включають більше 120 серологічних типів, об'єднаних у 18 серологічних груп. У ветеринарній патології найбільше значення мають представники таких серогруп: *Hebdomadis* (16 сероваріантів), *Icterohaemorrhagiae* (13 сероваріантів), *Canicola* (10 сероваріантів), *Tarassovi* (7 сероваріантів), *Romona* (4 сероваріанти).

Морфологія. Збудники лептоспірозу аероби, надзвичайно рухливі мікроорганізми, що належать до звивистих, спіралеподібних мікробів, які мають центральну осьову нитку, навколо якої гвинтоподібно намотана цитоплазма. У лептоспір відсутні спори й капсули, фарбуються за Грамом негативно. Звичайні анілінові фарби лептоспіри сприймають погано, у зв'язку з чим застосовують спеціальні методи фарбування: обробку сріблом за Левадиті, тривале фарбування за Романовським — Гімза. Середня їх довжина 7—14 мкм, проте зустрічаються клітини довжиною 30 мкм і більше або короткі (3—4 мкм) особини. Ширина клітини 0,06—0,15 мкм. Кінці у лептоспір загнуті у вигляді гачків і мають характерні потовщення. За рахунок скорочення осьової нитки лептоспіри інтенсивно рухаються.

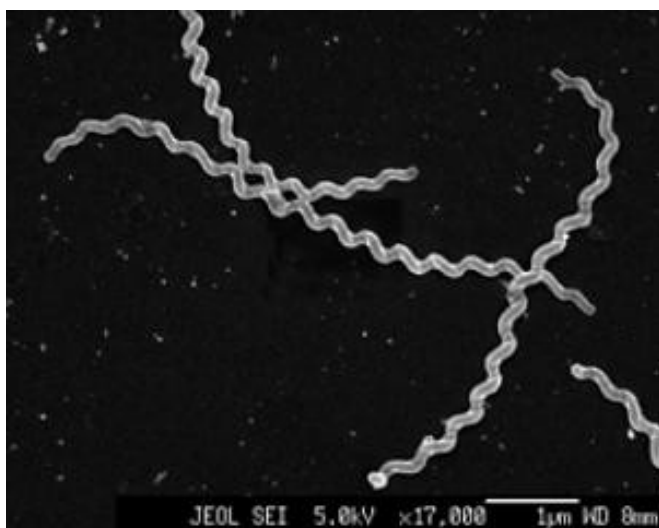


Рис.24 . Лептоспіри. Скануюча ЕМ. х 17000. Інтернет, 2008.

Культуральні властивості. Лептоспіри слабо розмножуються у живильних середовищах, так в 1 мл рідини їх нагромаджується у десятки разів менше, ніж інших мікроорганізмів. Для культивування лептоспир в лабораторних умовах використовують елективні живильні середовища, куди додають до 10% інактивованої сироватки барана чи кроля. Часто використовують також середовище Ферворта — Вольфа у модифікації С. Тарасова, до складу якого входять ще й хлористий натрій і пептон Діфко. Культивують збудник в аеробних умовах при температурі 28—30° С протягом 3 міс. Кращі результати одержують при культивуванні цих мікробів в мікроаерофільних умовах при зниженій концентрації кисню. Характерним є те, що середовище візуально не змінюється навіть у випадку розмноження лептоспир, тому періодично краплю середовища перевіряють на наявність лептоспир шляхом темнопольної мікроскопії. У більшості випадків ці мікроби виростають на - 7—20-й, деколи на 3—5-й день або навіть через 3 місяці.

Біохімічні властивості лептоспир вивчені мало. Вони ферментують ряд вуглеводів частіше до кислоти, інколи — до кислоти й газу.

Резистентність лептоспир до впливу фізико-хімічних факторів невисока. Нагрівання збудника до 60 °С інактивує його вже через 10 с. Швидко він гине при висушуванні. У воді мілких водойм лептоспіри виживають до 10 діб. У дуже вологому ґрунті — до 270 діб. У сечі хворих залишаються живими від кількох годин до кількох діб. Збудники надзвичайно чутливі до кислот і лугів. Незначні концентрації їх знищують лептоспір майже миттєво.

Антигенна структура. Між сероварами лептоспир не існує морфологічних і культуральних відмінностей і різняться вони між собою лише за антигенною будовою. Встановлено два антигени: родоспецифічний гемолітичний антиген і типоспецифічний аглютинін.

Патогенність. Сприятливі до патогенних лептоспир усі сільськогосподарські й

домашні та величезна кількість диких тварин. Хворіє також і птиця, частіше молодняк. Високу чутливість до лептоспірозу проявляють велика рогата худоба, вівці, свині, промислові тварини, менш чутливими є коні, олені, коти, собаки, кури, гризуни. Захворювання дуже небезпечне для людини. Основним джерелом інфекції є хворі та перехворілі тварини і лептоспіроносії, які виділяють збудника у навколишнє середовище з сечею, утворюючи природні, антропургічні та змішані осередки інфекції. Основні природні носії патогенних лептоспир – гризуни, у яких захворювання перебігає в персистентній формі. Збудник лептоспірозу від людини до людини, як правило, не передається.

Збудник лептоспірозу має фактори патогенності: розчинний гемолізін, а також ліпазу й лецитиназу. На організм тварин також впливають ендотоксини, які звільняються після розпаду клітин збудника.

В організм лептоспіри проникають головним чином через ушкоджені шкіру й слизові оболонки. Після нетривалого періоду розмноження у тканинах збудник потрапляє в кров і паренхіматозні органи. В них, а особливо в печінці та нирках, інтенсивно розмножується й внаслідок руйнування виділяє токсини. Токсини лізують еритроцити, підвищують порозність судин і як наслідок – з'являються крововиливи, розвивається прогресуюча гематурія та жовтяниця. На організм негативно впливають не лише ендотоксини, а й аутоантитіла, які утворюються у зв'язку з розпадом уражених тканин організму. В печінці спостерігається зерниста, рідше жирова дистрофія. Під впливом токсичних продуктів в клітинах центральної нервової системи виникає хроматоліз, пригнічується функція гемопоезу, що в поєднанні з гемолізом призводить до анемії. Ураження печінки й інтенсивний розпад еритроцитів є основною причиною жовтяниці. Білірубін, що при цьому утворюється, затримується тканинами і забарвлює їх у жовтий колір. Крім того супроводжується лептоспіроз глибоким порушенням азотистого, вуглеводного та мінерального обмінів.

Діагностику лептоспірозу здійснюють на основі клінічних ознак, патолого-анатомічних досліджень, даних бактеріологічного, молекулярно-генетичного

(ПЛР), серологічного і гістологічного методів досліджень з урахуванням епізоотологічних показників.

Серед методів бактеріологічної діагностики головним є виявлення лептоспир у досліджуваному матеріалі за допомогою мікроскопії в темному полі або виділення культури збудника і постановки біопроби.

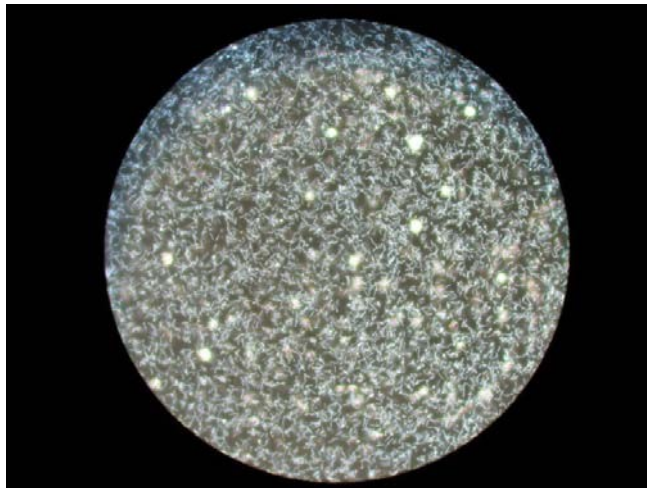


Рис. 25. Лептоспіри в темному полі мікроскопу.

Для прижиттєвої діагностики від хворих тварин відбирають кров і сечу в період гарячки не пізніше сьомого дня від початку хвороби. Для серологічних досліджень кров беруть не раніше ніж за 7 днів після появи перших клінічних ознак хвороби. Після загибелі або забою тварин відбирають серце, нирку.

Виявляють лептоспіри у досліджуваному матеріалі методом темнопольної мікроскопії. У препаратах типу «роздавлена крапля» або «висяча крапля» збудник має форму спіралеподібних тонких сріблястих ниток, кінці яких зігнуті у вигляді гачка й потовщені. При цьому відмічають інтенсивний рух лептоспір.

Для підтвердження патогенності виділених культур ставлять *біопробу* на морських свинках, золотистих хом'яках, кроленятах, і деяких інших тваринах. У лабораторних умовах найчастіше заражають золотистих хом'яків 20—30 — денного віку й кроленят 10—20-денного віку. Морські свинки 3—5-тижневого віку найбільш чутливі до *L. icterohaemorrhagiae*, в меншій мірі — до *L. pomona* і малочутливі до лептоспир інших серологічних груп. Біопробу ставлять також з метою первинного виділення лептоспир, очищення одержаних культур від сторонньої мікрофлори та диференціації виділених культур від сапрофітів. Біопробу вважають позитивною, якщо виділено культуру лептоспир із внутрішніх органів і крові серця, а також встановлюють наявність специфічних антитіл у сироватці крові піддослідних тварин, забитих у другому періоді, в титрах не нижче 1 : 10.

Серологічна діагностика лептоспірозу ґрунтується на дослідженні сироватки крові в реакціях мікроаглютинації (РМА) або макроаглютинації (РА) та ІФА. Краплю суміші сироватка + культура досліджують у темному полі мікроскопа. При наявності в сироватці антитіл відбудеться аглютинація лептоспир з утворенням характерних клубочків у вигляді павучків з наступним лізисом склеєних лептоспир.

Для виявлення лептоспир (експрес-метод) незалежно від серогрупової належності в патологічному матеріалі і об'єктах зовнішнього середовища застосовують імунофлуоресцентний метод, у якому використовують флуоресціюючий глобулін лептоспірозний з міченими ФІТЦ-антитілами. Лептоспири, оброблені специфічним глобуліном, в люмінесцентному мікроскопі зберігають характерну їм форму й світяться порівняно рівномірно зеленуватим світлом.

Викорисовують також РЗК, РНГА, реакцію латекс-аглотинації. Сьогодні найбільш широко в лабораторній практиці застосовується ІФА. В Україні розроблено тест - систему DIA – Leptospirosis – V (тест – система для визначення антитіл класу IgG до патогенних штамів *Leptospira icterohaemorrhagiae* в сироватці крові великої рогатої худоби.

Імунітет. Частина тварин після перенесення інфекції залишаються тривалий час лептоспірносіями. У перехворілих тварин розвивається тривалий достатньо напружений імунітет, який забезпечується переважно гуморальними факторами. В крові нагромаджуються аглютиніни, лізини, преципітини, комплемент зв'язуючі антитіла, гемаглютиніни, гемолізینی, причому титри деяких видів антитіл можуть бути досить високими. Активний імунітет проти лептоспірозу формується штучно шляхом застосування депонованої полівалентної інактивованої вакцини ВДНКІ. Для забезпечення відповідної концентрації антигенів вакцину випускають у двох варіантах: до першого входять антигени серогруп помона, тарассові, іктерогеморагія і канікола. В другому варіанті вакцини використано антигени серогруп помона, тарассові, грипотифоза, гебдомадис. Імунітет після введення тваринам вакцини формується через 2—3 тижні і триває від 6 до 12 міс.

Хворих тварин і лептоспіроносіїв ізолюють та проводять специфічне лікування гіперімунною сироваткою й антибіотиками. Ефективне лікування досягають тими антибіотиками, які виводяться із організму через нирки. Застосовують стрептоміцин та фарматил. Стрептоміцин застосовують в дозі 10—15 тис. ОД на 1 кг маси тіла двічі на день протягом чотирьох діб. Фарматил порівняно із стрептоміцином є більш технологічним (розчинна форма), його вводять один раз на добу і цей препарат в 3 рази дешевший за стрептоміцин.

Збудник дизентерії свиней (*Treponema hyodysenteriae*)

Дизентерія — інфекційне захворювання свиней, яке характеризується кривавим проносом та явищами гострого катарального або катарально-геморагічного коліту та сильним виснаженням хворих тварин. Збудником захворювання є *Treponema hyodysenteriae*, яка належить до родини звивистих мікробів *Spirochaetaceae* і роду *Treponema*. У «Визначнику бактерій» Берджі (1997) відноситься до Групи 1 «Спірохети». Вперше збудника дизентерії свиней виділили в 1972 р. Харрісон і Глок.

Деякі дослідники стверджують, що дизентерію можуть викликати й іншими мікроорганізмами (вірусами, балантидіями та вібріонами). У здорових свиней поряд з основним збудником зустрічається також *T. innocens*, яка є маловірулентним варіантом *T. hyodysenteriae* і відрізняється від останньої нездатністю ферментувати галактосидазу.

Морфологія. Збудник дизентерії — грамнегативні анаеробні спірохети, які мають форму звивистих ниток, довжина яких коливається від 2—4 до 20 мкм, а ширина становить 0,3—0,4 мкм. Кількість завитків варіює від 3 до 12. Трепонеми рухливі, добре фарбуються аніліновими фарбниками і не утворюють спор і капсул.

Культуральні властивості. В лабораторних умовах збудник культивують на спеціальних живильних середовищах, таких як трипсин-агар з додаванням 5 % цитратної крові великої рогатої худоби, соєвий агар з аналогічним вмістом крові, МПБ з дрібними шматочками печінки корови. Кращим живильним середовищем є триптикозо-соєвий перевар з додаванням 10 % свіжої дефібринованої крові овець або великої рогатої худоби. На такому середовищі трепонеми ростуть у вигляді дрібних (до 0,2 мм в діаметрі), прозорих, плоских з рівними краями колоній ослизлої консистенції або дуже тонкого й ніжного суцільного нашарування. Характерним є те, що навколо колоній утворюється зона гемолізу.

Біохімічні властивості. Збудник дизентерії роціпляє глюкозу, мальтозу, лактозу, фруктозу, виділяє індол, не утворює сірководню та не розріджує желатин.

Резистентність збудника дизентерії свиней до факторів зовнішнього середовища відносно висока. Трепонеми в навколишньому середовищі можуть

залишатися активними місяцями, тривалий час виживають у гноївці. Із простих дезінфікуючих засобів добре себе зарекомендували застосовувати 2 %-ний розчин формальдегіду, гарячий 4 %-ний розчин гідроокису натрію, розчин хлорного вапна з вмістом не менше 5 % активного хлору, та 10 % - на емульсію дезінфекційного креоліну.

Патогенність. Хворіють тільки свині різних вікових груп. Більш чутливий молодняк. Перебігає інекція гостро, підгостро й хронічно. Джерелом інфекції є хворі тварини і бактеріоносії. Патогенні трепонеми потрапляють в організм аліментарним шляхом і інвазують гоблетовські клітини товстого відділу кишечника, де розмножуються і на наступному етапі проникають у бокалоподібні клітини. Встановлено, що вже з четвертого дня захворювання розпочинається виражена гіперплазія бокалоподібних клітин. Розвивається запалення, яке досить часто ускладнюється секундарною мікрофлорою. Виникає загальна інтоксикація, на фоні якої за рахунок дисфункції вегетативної нервової системи з'являються секреторні, трофічні й мобільні розлади кишечника, що призводить до глибокого порушення водного, жирового і білкового обмінів. Головна ознака хвороби – профузна діарея. Фекалії з домішками слизу, крові, плівок фібрину. Хворі тварини пригнічені, втрачають апетит, швидко худнуть. Летальність серед молодняку становить 90 - 100, а серед дорослих тварин наближається до 50%.

Діагностика. Діагноз ставлять на основі епізоотологічних, клінічних, патолого-анатомічних і бактеріологічних даних. Для дослідження на дизентерію свиней використовують тільки свіжий матеріал. За життя від хворих свиней стерильним ватним тампоном відбирають патматеріал із прямої кишки. Після забою або безпосередньо після загибелі тварини відбирають ділянки клубової кишки із зонами запалення. Із тканин підслизових шарів уражених зон кишечника готують висячу або роздавлену краплю і досліджують під фазово-контрастним мікроскопом або використовують темнопольову мікроскопію. У позитивних випадках в полі зору мікроскопу виявляють до 10 рухливих трепонем. Трепонемі вдається виявити і в препаратах, пофарбованих за методом Романовського або пофарбованих фуксином.

Для постановки **біопроб** використовують фільтрат патологічного матеріалу в дозі 5 мл, яким заражають кролів в порожнину очеревини. В позитивних випадках через 7—10 днів трепонеми можна виявити в пунктатах із цієї порожнини.

Дизентерію свиней диференціюють від чуми, сальмонельозу, гастроентериту, анаеробної дизентерії, колібактеріозу та харчових токсикозів.

Імунітет не вивчений. У тварин, які перехворіли, настає певна стійкість до повторного зараження цим збудником.

Біопрепарати не розроблені. Збудник чутливий до трихополу, диметридазолу, ронідазолу, феноксиметилпеніциліну, тіамуліну, лінкоміцину, ампіциліну, фуразолідону, діарексу, тилозину та осарсолу. Для лікування хворих тварин застосовують осарсол, ніфулін, тилан, фармазин, трихопол, ветдипасфен та ін. Частіше за все застосовують осарсол, який згодовують із кормом або в свіжому содовому розчині (в 100 мл води додають 10 г бікарбонату натрію і 2,5 г осарсолу). Осарсол дають двічі на добу протягом трьох днів підряд. Перед його застосуванням свиней витримують на голодній дієті.

3

Збудник кампілобактеріозу (Campylobacteriosis)

Кампілобактеріоз (вібріоз) — інфекційне захворювання переважно великої рогатої худоби та овець, що характеризується абортами, частими перегулами, затриманням посліду, вагінітами, метритами, народженням нежиттєздатного потомства та безпліддям. На кампілобактеріоз хворіє людина.

Збудники кампілобактеріозу належать до родини Spirillaceae, роду Campylobacter, який об'єднує два патогенні види кампілобактерій: Campylobacter fetus subspecies fetus з двома підвидами — Campylobacter subspecies ventralis і Campylobacter fetus subspecies fetus, а також Campylobacter jejuni, що спричиняють захворювання на кампілобактеріоз великої рогатої худоби. Кампілобактеріоз у овець викликають патогенні кампілобактерії — Campylobacter fetus subspecies fetus. У

«Визначнику бактерій» Берджі (1997) відносяться до Групи 2 «Аеробні (мікроаерофільні, рухомі, спіральні) вигнуті грамнегативні бактерії». Збудник кампілобактеріозу вперше був виявлений у 1913 р. Дж. Мак-Фадьеном і С. Штокменом у матеріалах овець, що абортували.

Морфологія. Кампілобактерії мають форму спіралі або штопора, чи коротких, зігнутих у вигляді коми паличок, які можуть також мати вигляд чайки, яка летить (рис.26). Розміри збудника коливаються за довжиною від 1,5 до 5—7 мкм, шириною — від 0,2 до 0,5 мкм. Кампілобактерії не утворюють спор і капсул. Збудник грамнегативний, завдяки джгутикам може активно рухатись. При виявленні збудника препарати краще фарбувати карболовим фуксином, спиртовим розчином метиленової синьки або генціановим фіолетовим. Морфологічно окремі види й підвиди кампілобактерій майже не різняться між собою.

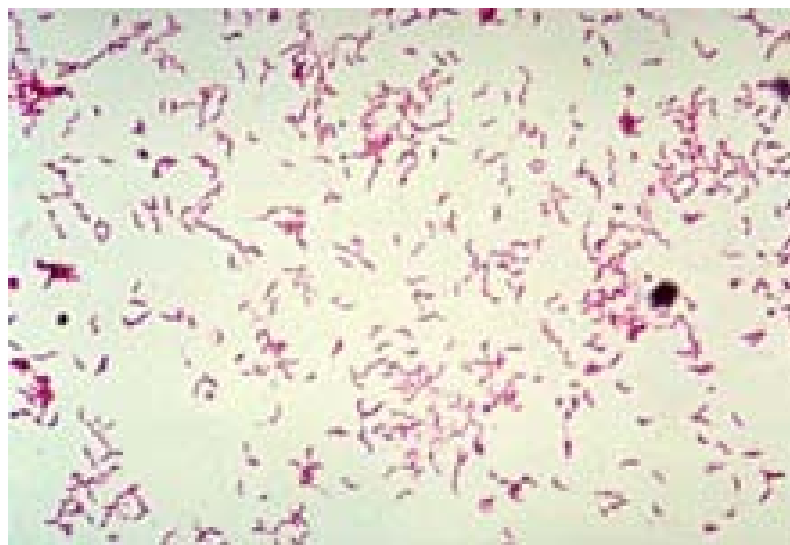


Рис.26. Збудник кампілобактеріозу, світлова мікроскопія.
Фарбування карболовим фуксином.

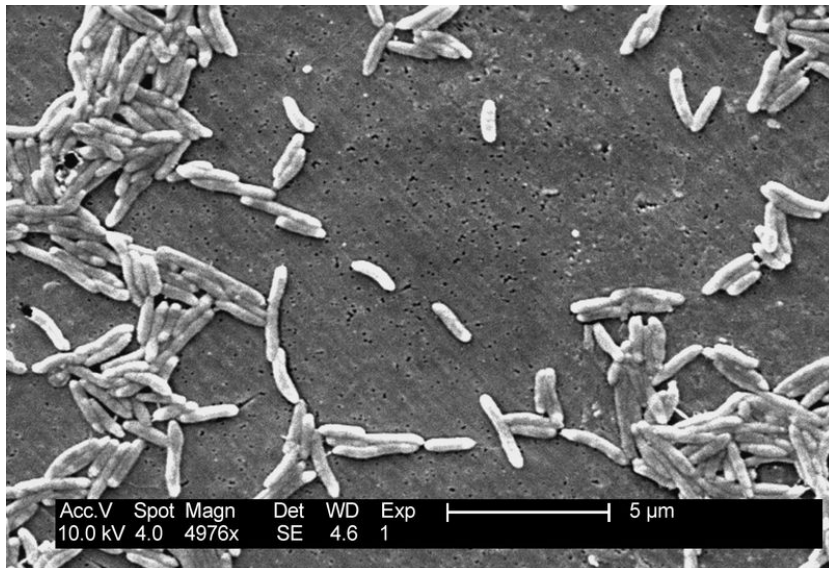


Рис.27 . Збудник кампілобактеріозу, скануюча ЕМ.

Культуральні властивості. Збудник вібриозу краще культивується в середовищах із підвищеним вмістом вуглекислого газу. Посіви роблять на спеціальні середовища, а саме в 0,2 %-й м'ясо- печінковий пептонний агар, мартенівський агар та ін. Середовища краще збагачувати дефібринованою кров'ю великої рогатої худоби, кролів овець, або коней до 10%, та додавати екстракт сухих дріжджів. В напіврідкому МППА кампілобактери ростуть під поверхнею середовища у вигляді сірувато-блакитного диска товщиною до 4 мм. На щільних середовищах збудники вібриозу утворюють росинчасте нашарування або ж дрібні з блакитним відтінком колонії.

Біохімічні властивості. Збудник кампілобактеріозу не ферментують вуглеводів, не утворюють індолу, редукують нітрати в нітрити, утворюють каталазу, не змінюють кольору лакмусового молока, а за певних умов культивування виділяють сірководень.

Резистентність. Збудник вібриозу відносно малостійкий до факторів зовнішнього середовища. У гноївці, воді, ґрунті при температурі 18—27 °С зберігається лише до 20 днів, а при 6 °С — до 1міс. Дуже чутливий до нагрівання — при 56 °С гине через 10 хв. Звичайні розчини дезінфікуючих речовин знищують кампілобактери через декілька хвилин. Виявляють виражену стійкість проти низьких температур.

Антигенна структура. Між видами кампілобактерів встановлені виражені антигенні розбіжності, а також — споріднені антигенні зв'язки між представниками роду кампілобактер і бруцелями.

Патогенність. У природних умовах на кампілобактеріоз хворіють статевозрілі телиці, корови, вівцематки і досить рідко — кози. У корів основним джерелом збудника хвороби є інфіковані бугаї-плідники, в препуціальному мішку яких, рідше у спермі кампілобактерії можуть зберігатися роками. У кіз, свиней і собак описані гастроентерити кампілобактеріозної природи. Подібні процеси описані й у людей. В експериментальних умовах захворювання можна відтворити у вагітних овець, кіз, хом'яків і морських свинок. В організм корів, як і бугаїв, збудник проникає в основному статевим шляхом, овець — через заражені корми та воду. У плідників розвивається хронічний запальний процес в сім'яниках, придатках, уретрі. При проникненні в статеві органи корів кампілобактери спричиняють вагініти й ендометрити. Спостерігається рання загибель ембріонів, а при пізнішому зараженні можливі аборти.

Діагностика. Діагноз ставлять на основі клініко- епізоотологічних даних і результатів лабораторного дослідження. Випадки абортів, часті перегули та яловість, народження нежиттєздатного молодняку дозволяє лише запідозрити кампілобактеріоз. Для уточнення діагнозу необхідні лабораторні дослідження, насамперед бактеріологічні, для чого в лабораторію направляють патологічний матеріал: від корів, нетелей, вівцематок — абортований плід (або голову, печінку з жовчним міхуром, легені плода, шлунок), плаценту, слиз із шийки матки; від самців-плідників — препуціальний слиз, сперму і секрет придаткових статевих залоз. Для виділення чистої культури збудника часто суспензією патологічного матеріалу заражають в черевну порожнину або піхву вагітних морських свинок. Із абортованих плодів яких і виділяють чисту культуру.

Серологічну диференціацію проводять за допомогою РА з моноспецифічними кампілобактерійними аглютинуючими

сироватками. В неблагополучних господарствах для масового обстеження молочного поголів'я, як діагностичний тест використовують постановку реакції аглютинації з вагінальним слизом (РАВС).

Імунітет. Механізм імунітету — клітинно-гуморальний. Корови і вівці, що перехворіли на вібріоз, повторно не абортують, а у бугаїв чутливість до збудника залишається. У перехворілих овець створюється стійкий тривалий імунітет. У корів ступінь стійкості значно нижча. Для активної імунізації овець застосовують інактивовану емульсин-вакцину, яка створює імунітет тривалістю до року.

Лікування хворих тварин буде ефективним лише у разі одночасного проведення загальної та місцевої терапії. Для лікування бугаїв застосовують суміш емульсії стрептоміцину та пеніциліну, яку готують із розрахунку по 10000000 ОД кожного антибіотика в 50 мл риб'ячого жиру або олії. Емульсію вводять у препуціальний мішок протягом 4 діб. Одночасно з місцевим лікуванням бугаям двічі на добу проводять ін'єкції цих же антибіотиків внутрішньом'язево. Через тиждень такий курс терапії повторюють.

4

Збудник актинобацильозу (*Actinobacillus Lignieresii*)

Актинобацильоз (псевдоактиномікоз) — хронічне захворювання великої рогатої худоби та овець, для якого характерним є ураження лімфатичної системи, що призводить до виникнення лімфангітів та лімфаденітів (переважно в ділянці голови й шиї). Актинобацильоз є самостійним захворюванням і за рядом характерних ознак відрізняється насамперед від актиномікозу.

Збудник актинобацильозу — *Actinobacillus Lignieresii*. Вперше був виділений від великої рогатої худоби в Аргентині Ліньером і Шпітцем в 1902 р. За сучасною номенклатурою його відносять до родини Pasteurellaceae, роду *Actinobacillus*. У «Визначнику бактерій» Берджі (1997) відноситься до Групи

5 «Факультативно анаеробні грамнегативні палички, підгрупа 3».

Морфологія. Збудник *Actinobacillus Lignieresii* — переважно поліморфна паличка з заокругленими кінцями довжиною до 3 мкм але спостерігають в полі зору мікроскопа і кокоподібні форми величиною до 0,5 мкм. Збудник грамнегативний, не утворює спор але має ніжну капсулу, анілінові фарбники сприймає добре. В препаратах характеризується біполярністю.

Культуральні властивості. *Actinobacillus Lignieresii* добре росте на звичайних середовищах при рН 7,2—7,4 і температурі 37°C. Але значно краще росте в бульйоні і агарі Хоттінгера. На рідких середовищах через добу після посіву відмічається рівномірне помутніння та випадання ослизлого осаду. Деколи на поверхні бульйону утворюється ніжна плівка та пристінне кільце. А на щільних середовищах збудник актинобацильозу утворює матові напівпрозорі колонії діаметром до 4 мм, ослизлої консистенції, які важко знімаються з агару. При наступних пересівах виростають прозорі з блакитним відтінком колонії з рівними кінцями діаметром до 1 мм.

Патогенність. Захворювання характерне для великої рогатої худоби і овець. Експериментальну інфекцію на лабораторних тваринах відтворити вдається не завжди. Тільки при введенні великих доз збудника в черевну порожнину білі миші гинуть. Надзвичайно чутливими до експериментального інфікування виявилися тижневі курчата.

Збудник актинобацильозу проникає в організм через пошкодження слизової оболонки ротової порожнини та язика, потрапляє у лімфатичні судини, в яких потім утворюються поодинокі гранульоми. Далі збудник заноситься у регіональні лімфатичні вузли, в яких розвивається запалення і формуються гранульоми різної величини. Частіше за все вражаються підщелепні, заглоткові, рідше навколо вушні і під'язичні лімфовузли. У тварин з високою резистентністю процес локалізується тільки в цих вузлах. При зниженні резистентності організму збудник легко долає ці бар'єри, проникає у паренхіматозні органи, головний і спинний мозок, кров.

Діагностика актинобацильозу базується на даних бактеріологічних досліджень. Вони передбачають виділення із патологічного матеріалу чистої культури збудника, вивчення його морфологічних, культуральних і патогенних властивостей. У лабораторію направляють гранульоми із уражених лімфовузлів і судин разом з сполучнотканинною капсулою. Матеріал висівають в пробірки з МПА, МПБ, бульйоном та агаром Хоттінгера, які поміщають у термостат на добу. Крім того висіви також роблять із уражених внутрішніх органів. Із колоній і бульйонних культур готують мазки, в яких у позитивних випадках виявляють поліморфні грамнегативні палички довжиною до 3 мкм.

Біопробу ставлять на 7-добових курчатах. В позитивних випадках курчата гинуть через 1—5 діб після зараження. **Імунітет** при актинобацильозі переважно клітинний. Про це свідчить утворення навколо осередка запалення гранульом з величезною сполучнотканинною капсулою. Гуморальні фактори захисту мають менше значення.

Біопрепаратів для специфічної профілактики і терапії

ЛЕКЦІЯ 12

Збудник бешихи, лістеріозу, пастерельозу

План

1. Збудник бешихи свиней
2. Збудник лістеріозу
3. Збудник пастерельозу

1

Збудник бешихи свиней (*Erysipelotrix rhusiopathiae*)

Бешиха свиней (*Erysipelas suis* – лат.; Diamond disease – англ., рожа, рос.) — гостра інфекційна хвороба. Характеризується ознаками септицемії, ериматозними явищами шкіри, зрідка ендокардитом та запаленням суглобів. Вперше захворювання було вивчене Л. Пастером і Тюїє (1882). Нині його реєструють у багатьох країнах світу.

Збудник -*Erysipelotrix rhusiopathiae* (*Erysipelotrix insidiosa*, *Bac. erysipelatis suis*, *Bac. rhusiopathiae suis*) . Відкритий Лефлером у 1885 р. За сучасною класифікацією належить до остаточно не визначеного роду *Erysipelotrix*. У Визначнику бактерій Берджи (1997) відноситься до Групи 19 «Грампозитивні неспороутворюючі палички правильної форми».

Морфологія. *Erysipelotrix rhusiopathiae* - тоненька пряма чи ледь зігнута паличка 0,8 – 2,5 довжиною та 0,2 – 0,4 мкм діаметром. У мазках, отриманих з старих культур та з уражених клапанів серця хворих (загиблих) тварин виявляються ниткоподібні, інколи розгалужені, форми. Нерухлива. Спор і капсул не утворює. Грампозитивна.

Культуральні властивості. Хемоорганотроф. Факультативний анаероб. Ріст найбільш інтенсивний при створенні мікроаерофільних умов. Невибаглива до живильних середовищ – добре росте на МПА та МПБ. Оптимальна для росту температура - в межах 30 – 37° С, - рН – 7,2 – 7,4. На щільному середовищі утворює дрібні колонії- росинки. Типовими є

колонії S-форми – ледь помітні неозброєним оком, прозорі, з рівними краями та блискучою поверхнею. Зрідка, особливо при посіві матеріалів від хронічно хворих тварин, формуються колонії R-форми. Останні, як правило, дещо крупніші за попередніх, мають шорстку поверхню та нерівні, з коренеподібними відростками, краї.

При культивуванні у рідкому середовищі спостерігають ледь помітне помутніння та незначний пилевидний осад. Останній під час легкого струшування підіймається у вигляді хмаринки. На МПЖ, при посіві уколом, через 5 – 6 діб утворює сірувато- білий стрижень від якого відходять ніжні відростки (ріст культури нагадує лампову щітку). Желатина при цьому не розріджується.

В мазках, зроблених з колоній S-форми, *Erysipelotrix rhusiopathiae* має вигляд грампозитивних паличок, а в мазках, отриманих з колоній R-и форми, - ниток чи ланцюгів, нерідко грамнегативних.

Біохімічні властивості. *Erysipelotrix rhusiopathiae* характеризується невиразною ферментативною активністю. Ферментує з утворенням кислоти без газу глюкозу й лактозу. Маніт та цукрозу не змінює . Протеолітичні властивості також слабкі - желатин не розріджує, індолу не утворює. Обумовлює утворення сірководню.

Антигенна структура. *Erysipelotrix rhusiopathiae* має складну антигенну структуру. У нього виявлені групоспецифічний (соматичний ,термостабільний) та видовий (термолабільний) антигени. На основі антигенної характеристики збудника бешихи свиней було запропоновано розрізняти три серотипи : А, В та N. Пізніше ,при дослідженні великої кількості польових штамів збудника (біля 2 тис.) , було визначено 27 серотипів. Найбільш часто від свиней виділяють серотипи 1,2,5 та 6. Основним протективним антигеном вважається поверхневий білок 64 – 66 кДа. Одночасно він має також відношення до вірулентної характеристики

штаму – ті, що продукують його у великій кількості, закономірно більш вірулентні.

Резистентність. Збудник бешихи досить стійкий до дії різноманітних факторів. У ґрунті він виживає до 8 міс., у трупах тварин – до 4-х, у водопровідній воді – понад 3 міс. Майже півроку збудник не гине у засоленій свинині та протягом трьох місяців у копченостях. При 70 °С він гине протягом 3 – хв., при 100 °С – за кілька секунд, під дією прямих сонячних променів – за 10 – 12 діб. Збудник чутливий до 2 – 3 %-них розчинів формальдегіду та гідроксиду натрію, 10%-го хлорного вапна та 20%-ної суспензії свіжо погашеного вапна.

Патогенність Найбільш чутливі до *Erysipelotrix rhusiopathiae* свині віком 3 – 2 міс. Іноді захворюють також вівці, велика рогата худоба, собаки, кури, гуси, голуби та інші тварини. Можуть хворіти і люди. Кролі малочутливі. Високочутливі білі миші та голуби.

У природних умовах збудник проникає в організм аліментарно, аерогенним шляхом, а також через пошкоджені слизові оболонки, шкіру, покуси кровососів. Суттєву роль для реалізації патогенних властивостей штаму мають поверхнево розташовані білки - адгезини. Вони забезпечують прикріплення бактерій до поверхні клітин та подальше їх розмноження (колонізацію) Окрім адгезинів важливими факторами вірулентності у збудника бешихи є нейрамінідаза, гіалуонідаза, які сприяють проникненню збудника в органи і тканини, забезпечують розповсюдження його по організму та пошкоджують різноманітні структури, тобто володіють елементами як інвазивності так і агресивності. В реалізації вірулентних властивостей збудника велике значення має здатність його штамів пригнічувати фагоцитоз (розмножуються всередині фагоцитів).

Потрапивши в організм збудник спочатку розмножується в місці первинної фіксації, звідки проникає у кров і лімфу та розноситься по всьому організму. Генералізована інфекція характеризується ураженням серцево-

судинної системи. Утворюються тромби, порушується трофіка тканин, виникають функціональні розлади систем організму і тварина гине. В реалізації патогенних потенцій збудника мають значення як наявність у відповідного штаму згаданих вище факторів вірулентності так і імунологічний статус тварини.

Проникнення збудника в організм може завершитись формуванням специфічного імунітету, або ж клінічним проявом хвороби. Перебіг захворювання може бути блискавичним, гострим, напівгострим та хронічним. Найбільш характерні ознаки бешихи можна спостерігати під час гострого та напівгострого перебігу хвороби. Температура тіла підвищується до 42 – 42,5 °С. Хворі втрачають апетит, з'являються ознаки кон'юнктивіту, розлади харчо травлення. Нерідко на шкірі формуються вогнища екзантеми - червонуваті плями (кропивниця) (рис.28 та 29). В області черева та під щелепового простору шкіра набуває синюшного відтінку. В разі гострого перебігу свині гинуть протягом 3 - 5 діб. Хронічний перебіг хвороби характеризується розвитком верукозного ендокардиту, запаленням суглобів, некрозами шкіри. При розтині трупів, вияляють збільшені і гіперемійовані лімфатичні вузли, кровови у пробковому шарі нирок та у слизовій оболонці шлунка і кишечника. При хронічному перебігу хвороби – бородавчасті вирости на клапанах серця, зрідка – фіброзні розщеплення синовіальних оболонок у суглобах.



Рис. 28. Кропивниця у свині.

Діагностика. В лабораторію надсилають труп, або шматочки (серця, селезінки), нирку, трубчасту кістку. В разі хронічного перебігу обов'язково серце (з клапанами).

Готують мазки-відбитки з внутрішніх органів, фарбують за Грамом та мікроскопують. У позитивних випадках спостерігають грампозитивні палички, розташовані поодинокі, невеличкими групами, а в мазках, виготовлених з уражених клапанів серця, - ниткоподібні форми, інколи грамнегативні.



Рис. 29. Рожисте запалення у людини.

Здійснюють посіви на МПА та МПБ, інкубують в аеробних умовах протягом доби (в разі відсутності ознак росту, - ще 24 години). Отриману культуру ідентифікують за морфологічними, культуральними ознаками та серологічними і біологічними властивостями. Досліджують на рухливість.

Серологічну ідентифікацію здійснюють шляхом постановки РА, використовуючи стандартну гіперімунну сироватку проти бешихи свиней. На предметне скло наносять краплю сироватки, розбавленої фізрозчином 1 : 50, а потім, за допомогою бактеріологічної петлі, вносять добову культуру мікроорганізму, вирощеного на МПА, й ретельно змішують. Якщо мікроорганізм є збудником бешихи, спостерігають явища аглютинації – з'являються крупинки та пластівці, сироватка становиться прозорою.

Біологічне дослідження здійснюють на білих мишах масою 16 – 18 г. чи голубах. Мишам вводять підшкірно 0,1 – 0,2 мл суспензії з патологічного матеріалу (1 : 10) або 24-годинну бульйонну культуру.

При наявності в матеріалі збудника бешихи миші гинуть протягом 2 – 4 діб. Голубам матеріал вводять внутрішньом'язово в дозі 0,2 – 0,3 мл. Вони гинуть при наявності збудника бешихи за такий же термін, що й миші. Тварин, що загинули, розтинають, готують мазки, мікроскопують їх та, при необхідності, здійснюють реізоляцію збудника шляхом висіву на живильні середовища.

Експресдіагностику бешихи можна здійснити за допомогою РІФ чи ПЛР.

Діагностуючи бешиху свиней слід, перш за все, здійснювати

диференціацію від збудника лістеріозу та мати на вазі, що крім *Erysipelotrix rhusiopathiae* існує ще один вид мікроорганізмів – *Erysipelotrix tonsillarum*, який належить до цього ж роду, проте для свиней мало патогенний. Необхідно також знати, що в організмі білих мишей може перебувати подібна за морфологією *Bact. murisepticum*, яка на відміну від збудника бешихи, ферментує цукрозу, не патогенна для голуба та не аглютинується проти бешиховою сироваткою.

Імунітет Тварини, що перехворіли, набувають напруженого імунітету. Поствакцинальний імунітет триває до 4 – 6 місяців, пасивний – до 2 тижнів. Механізм імунного захисту при бешихі ґрунтуються на комплексній дії гуморальних та клітинних факторів.

Для створення штучного імунітету було розроблено ряд інактивованих і живих вакцин, гіперімунні сироватки. Останнім часом дослідники під час розробки специфічних препаратів орієнтуються на технології, що забезпечують належний вміст протективних антигенів. У збудника бешихи виявлені ряд поверхневих антигенів з виразною протективною активністю (зокрема білок *spr A* та ін. молекулярною масою в межах 64 – 66 кДа).

Першу живу вакцину одержали Л. Пастер та Тюльє у 1833 р. Атенуацію збудника вони здійснили шляхом пасажування на кролях. Після вакцинації атенуїтованим штамом дослідники вводили вірулентний штам збудника бешихи (одержаний шляхом пасажування на голубах). Цей метод набув у свій час широкого застосування, проте, із-за незручностей, поступився іншим. В Росії перші живі вакцини проти бешихи отримали Д.Ф. Конев (1899), використовуючи пастерівський метод, отримав дві вакцини. Перша вакцина отримана шляхом семикратного пасажування

збудника на кролях, друга – чотирьохразового. Тваринам спочатку вводили першу, більш ослаблену вакцину, а потім - другу. Пізніше В.П. Меркулов та А.Б. Епштейн (1951) модифікувавши другу вакцину Конєва, запропонували депоновану живу вакцину.

У 1931 р. румунським дослідником В. Виноградником був запропонований штам ВР-2. В результаті численних пасажів на штучних живильних середовищах штам збудника став практично апатогенним для свиней, білих мишей і голубів, зберігши виразну імуногенність. Нині розроблені технології отримання живих вакцин на основі штаму ВР-2 (окремі на базі модифікованих його клонів) В Україні застосовують кілька живих вакцин: вакцина із штаму ВР-2 (жива), вакцина «Бишивак» (на основі 2-го штаму вакцини Конєва, депонована), вакцина «Рузівак» (на основі штамів ВР-2 та 6/24). Живі вакцини достатньо оперативно створюють імунітет, зручні у застосуванні. Щодо їх імуногенності, є різні спостереження. Не у всіх випадках застосування спостерігається достатня тривалість імунітету. Інколи мають місце і ускладнення як результат надмірної залишкової вірулентності вакцинного штаму. Важливою умовою профілактики можливих ускладнень є застосування препаратів з урахуванням фізіологічного стану тварин, що підлягають щепленню, а також факторів довкілля. Як свідчать спостереження, застосування живих вакцин влітку (в спеку) нерідко призводить до спалаху хвороби. Застереження з цього приводу звучать і у відповідних Інструкціях. Немаловажним негативним елементом застосування живих вакцин є те, що вакцинні штами розмножуються в організмі вакцинованих тварин та виділяються у довкілля, де тривалий час можуть зберігатись та розмножуватись. Потрапляючи в організм гризунів, такі штами можуть слугувати джерелом селекціонування більш вірулентних клонів. У зв'язку з викладеним, при наявності можливостей, фахівці віддають перевагу

застосуванню інактивованих препаратів. Ще у 40-ві роки минулого сторіччя Г.Д.Глуховцевим була розроблена інактивована гідроокисалюмінійова формолвакцина, яку тривалий час використовували для профілактики бешихи. Нині провідні фірми світу пропонують достатньо широкий арсенал інактивованих вакцин, які являють собою вбиті мікробні тіла або ж їх лізати та різноманітні ад'юванти. Перевага надається масляним ад'ювантам. З'явилися вакцини, що містять антигени не одного, а кількох серологічних типів. В Україні (ІВМ УААН) розроблена та введена у практику ветеринарної медицини Емульсин - вакцина проти бешихи свиней інактивована (2006 р.). Препарат містить високоефективний ад'ювант Montanide ISA25. В Україні зареєстровано комбіновану вакцину, запропоновану в Нідерландах «Porcilis ery+Parvo» - вакцина проти бешихи й парвовірусу свиней, інактивована. Комбіновану вакцину застосовують у господарствах з метою профілактики бешихи та парвовірусної інфекції свиней.

Успіхи молекулярної біології сприяли дослідженням в плані отримання субодиничних та рекомбінантних вакцин. Методом генної

інженерії нині отримані продукти з виразною протективною активністю при бешисі свиней. Є всі підстави вважати, що найближчим часом будуть запропоновані специфічні препарати нового покоління, високо імуногенні та абсолютно нешкідливі.

Розроблена та широко використовується з профілактичною метою та для лікування хворих гіпеїмунна протибешихова сироватка. Отримують її шляхом гіперімунізації свиней, коней, волів чи овець. При цьому використовують не менше 10 штамів збудника бешихи свиней серологічних типів А та В. Сироватки контролюють на стерильність, реактогенність та імуногенність.

Збудник лістеріозу (*Listeria monocytogenes*)

Лістеріоз (Listeriosis) – інфекційна хвороба тварин і людини. Характеризується септичними явищами, ураженням центральної нервової системи і статевих органів, широко розповсюджена, небезпечна для людини, завдає значні економічні збитки галузі тваринництва. На території України вперше лістеріоз (у свиней) діагностував завідувач кафедри мікробіології Київського ветеринарного інституту Т.П. Слабоспицький (1936).

Збудник - *Listeria monocytogenes*. Був ізольований у 1911 році шведським дослідником Гюльсферс від хворих кролів і був названий *Bacteria hepatis*. У 1927 р. Пірі (Pirie Н, 1927) виділив аналогічний мікроорганізм від гризунів та назвав його *Listeria monocytogenes* (родова назва на честь англійського хірурга Д. Лістера). Належить до

Групи 19 «Грампозитивні палички правильної форми» (визначник бактерій Берджи, 1997). Крім *Listeria monocytogenes* до роду *Listeria* належать *L. grayi* та *L. murrayi*, *L. innocua*, *L. ivanovii*, *L. seeligeri*,

L. welchimeri.

Морфологія. *Listeria monocytogenes* – поліморфна паличка з заокругленими кінцями, розміром 0,4 – 0,5 х 0,5 – 2 мкм. Зустрічаються коковидні та рідше ниткоподібні клітини. Рухлива, перитрих (рис. 30). Спор і капсул не утворює. За Грамом фарбується позитивно. У мазках, зроблених з культури, розміщується поодинокі, коротенькими ланцюжками, інколи зустрічається характерне розташування у вигляді римської цифри V та палисаду.

Культуральні властивості. Хемоорганотроф. Метаболізм бродильного типу. Факультативний анаероб. Роста на звичайних живильних середовищах. Для виділення та культивування лістерій запропоновано також ряд спеціальних живильних середовищ на базі хотінгерівського ферментативного гідролізату з додаванням жовтка курячих яєць та інших компонентів (глюкози, гліцерину тощо)

Оптимальна для росту температура становить 30 – 37 °С, - рН - 7,0 – 7,5. Проте може рости і в діапазоні 4 - 45 ° С. Ріст перитрихіальних джгутиків закономірно спостерігається при температурі 20 – 25 ° С, що слід пам'ятати при визначенні рухливості виділених штамів. На МПА утворює дрібні колонії-росинки, розміром 0,2 – 2 мм у діаметрі (рис 32). На кров'яному агарі навколо колоній спостерігається зона β – гемолізу. На щільних середовищах зазвичай утворює колонії S-форми. Колонії злегка випуклі, напівпрозорі, з рівними краями, голубовато-сірі при звичайному та з голубувато-зеленим відтінком при боковому освітленні. Проте у

окремих випадках, зокрема під час інкубування при неоптимальній температурі, формуються колонії R- форми. У МПБ *Listeria monocytogenes* зумовлює незначне помутніння та утворює слизуватий осад.

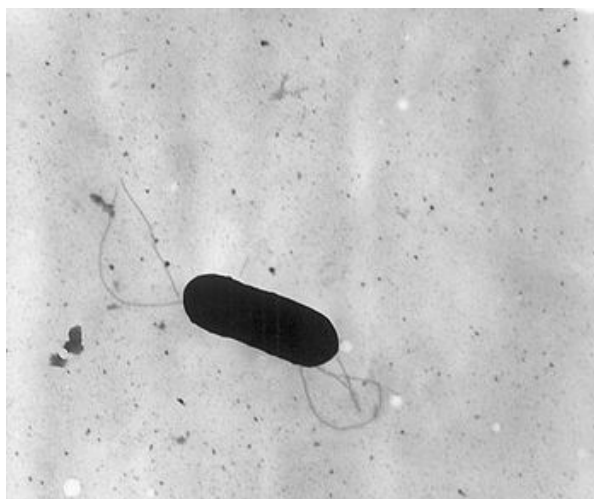


Рис. 30. Збудник лістеріозу під ЕМ.



Рис. 31. Збудник лістеріозу. Світлова мікроскопія.

Біохімічні властивості. *Listeria monocytogenes* ферментує з утворенням кислоти без газу глюкозу, левульозу, рамному та саліцин. Дульцит, саліцин і рафінозу не розщеплює. Каталазопозитивна, редукує лакмус, нейтральний червоний та метиленовий синій. Протеолітичні властивості не виражені (желатина не розріджується, індол та сірководень не виявляються).

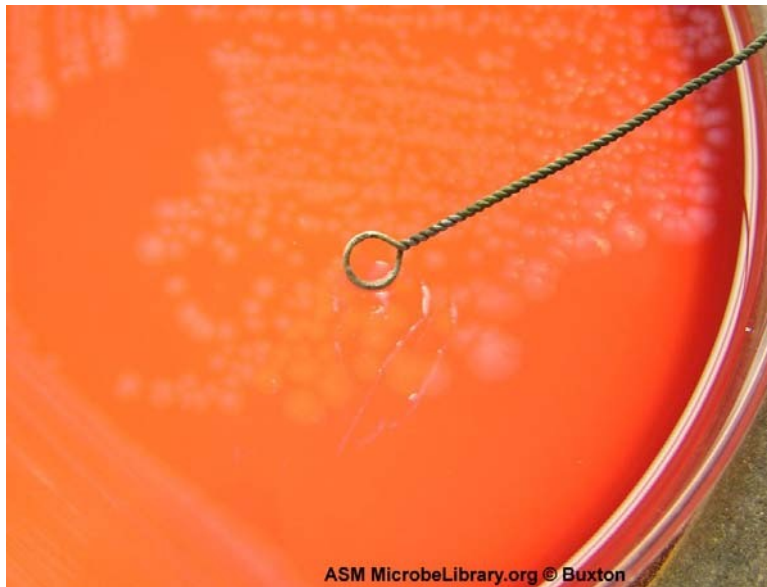


Рис. 32. S форми колонії лістерій на агарі.

Антигенна структура. Лістерії мають складну антигенну структуру та характеризуються виразним антигенним поліморфізмом. Вони містять соматичний та джгутиковий

антигени. Нині охарактеризовано 7 основних серологічних типів збудника лістеріозу. Останні включають по декілька антигенних підтипів.

Резистентність. Лістерії здатні тривалий час виживати у зовнішньому середовищі. У ґрунті залишаються життєздатними протягом 6 - 11 міс., у воді – понад рік, у гною – близько 7 міс., у м'ясо-кістковому борошні – понад 130 діб, у висівках – понад 100 діб, Утваринницьких приміщеннях виживають близько 2 міс., на території ферми – від тижня (влітку) до чотирьох місяців (взимку). Лістерії можуть не лише зберігатись, а й , при певних умовах, розмножуватись у зовнішньому середовищі (ґрунт, трупи та ін.). Гинуть лістерії під дією 2,5%-них розчинів формальдегіду та гідроксиду натрію , а також при використанні хлорного вапна, що містить 2% активного хлору, протягом 20 хв. Лістерії чутливі до антибіотиків тетрациклінового ряду.

Патогенність. *Listeria monocytogenes* патогенна для овець, кіз, свиней, великої рогатої худоби, коней, кролів, курей, качок, та багатьох інших домашніх і диких ссавців і птахів. Чутливі до лістеріозу також гризуни. Серед лабораторних тварин найбільш чутливі білі миші і кролі. Факторами вірулентності у лістей є екзо- та ендотоксини. Вони продукують нейрооксин, гемотоксин, фермент гіалуроїдазу та ін. Циркуючі в природі штами *Listeria monocytogenes* суттєво різняться за вірулентністю.

Хворі тварини та тварини-бактеріоносії виділяють збудника з абортів плодами, виділеннями з статевих органів, носа, з сечею, калом, молоком. Резервуаром збудника в природі є гризуни. В організм тварин будник потрапляє через слизові оболонки носа, ротової порожнини, кон'юнктиву, через травний тракт та через шкіру. В залежності від місця проникання збудник поширюється в організмі лімфо генним, гематогенним чи нейрогенним шляхами.

Він здатний розмножуватись у макрофагах, що також сприяє інтенсивному поширенню його в організмі.

В залежності від переважної локалізації збудника виникає септична чи нервова форма хвороби. У першому випадку уражуються практично усі органи, в останньому – переважно центральна нервова система. Перебіг хвороби може бути гострим, напівгострим та хронічним. У великої рогатої худоби частіше реєструється нервова форма лістеріозу. Тварини пригнічені, апетит відсутній, через кілька діб – некоординовані рухи, судороги, приступи буйства, парези окремих груп м'язів. Нерідко спостерігається парез нижньої щелепи, втрата зору, кон'юнктивіт. Інколи підвищується температура тіла. Тільні корови можуть абортувати. Виникають метрити та мастити.

У телят реєструють переважно септичну форму хвороби.

У інших видів тварин також мають місце ознаки ураження центральної нервової системи та , переважно у молодняка, сепсису. У птахів частіше реєструють нервову форму лістеріозу.

При септичній формі хвороби лістерії заселяють всі органи і тканини, обумовлюючи дегенеративні зміни, при нервовій – локалізуються переважно у головному і спинному мозку. У вагітних тварин вони вражають репродуктивну сферу та плід, обумовлюючи аборти.

Патологоанатомічні зміни залежать від форми хвороби. При септичній формі завжди виявляють гіперемію та набряк легень, ознаки запалення слизової оболонки шлунково-кишкового тракту, крововиливи та вогнища некрозу у печінці, селезінці, нирках, збільшення лімфатичних вузлів. При нервовій – інфекцію судин та набряк головного мозку.

Діагностика. В лабораторію надсилають трупи дрібних

тварин або головний мозок, шматочки печінки, легень, селезінку, нирку, абортований плід та його оболонки, витіки з статевих органів тварин, що абортували, секрет уражених долей вим'я. Від хворих тварин, в період лихоманки, відбирають кров з метою виділення гемокультури. Для серологічного дослідження надсилають проби сироваток крові.

Готують мазки-відбитки, фарбують за методом Грама. У позитивних випадках виявляють грампозитивні поліморфні бактерії. При наявності відповідних компонентів частину мазків досліджують в РІФ.

З метою виділення збудника здійснюють посіви на звичайні та елективні живильні середовища (наприклад печінковий агар з вмістом 1% глюкози та 2 – 3% гліцерину, МПА з телуритом калію і сироваткою крові та ін.). Паралельно здійснюють посів на кров'яний агар. Інкубацію здійснюють при 37 °С в мікроаерофільних умовах (10% CO₂). При відсутності ознак росту, посіви витримують у термостаті протягом двох тижнів. Частину патологічного матеріалу зберігають у холодильнику і, при необхідності, здійснюють повторні посіви на живильні середовища. При наявності ознак росту, ретельно аналізують його ознаки. При необхідності вивчають біохімічні властивості. Диференціюють збудника лістеріозу від збудника бешихи (табл. 4).

1. Диференційні ознаки збудника бешихи та збудника лістеріозу

Ознака	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Escherichia coli</i>
Рухливість	-	+
Проба на каталазу	+	-
Розклад салі цинку	+	-

Знебарвлення індикаторних середовищ	+	-
РА з проти бешиховою сироваткою	-	+
Кон'юнктивальна проба на морських свинках	+	-

Біологічне дослідження здійснюють на дорослих білих Мишах або мишенятах 5 – 6-добового віку. Суспензію з патологічного матеріалу 1 : 5 чи 2- добову бульйонну культуру збудника вводять 2 – 3 білим Машам підшкірно або інтраперитонеально в дозі 0,2 – 0,3 мл. При наявності збудника миші гинуть на 2 – 6 добу, мишенята – через 18 – 37 год.

Широко практикують також зараження морських свинок у кон'юнктиву (кон'юнктивальна проба), морських свинок або кролів внутрішньошкірно (внутрішкірна проба).

На кон'юнктиву ока морської свинки наносять 2 краплі бульйонної культури і злегка масажують повіки, користуючись ватним тампоном. Вірулентні штами лістерій обумовлюють гнійний кератокон'юнктивіт, ознаки якого проявляються на 2 – 4 добу після зараження.

При постановці внутрішкірної проби , на одному з боків вистригають та вводять 0,3 – 0,5 мл бульйонної культури. Вірулентні штами збудника лістеріозу обумовлюють появу ознак

запалення (через 48 год) , некрозу та утворення струпу.

З метою диференціації лістерій в межах їх роду запропоновано використовувати спеціальні живильні середовища з вмістом 0,5% активованого вугілля та без нього. На середовищі з активованим вугіллям

Listeria monocytogenes, на відміну від інших представників роду, обумовлює гідроліз лецитину.

В процесі лабораторної діагностики хвороби, диференціації збудників бешихи та лістеріозу можуть бути використані також молекулярно-генетичні методи (ПЛР) та відповідні бактеріофаги.

Серологічну діагностику здійснюють шляхом постановки РА та РЗК, використовуючи діагностичні антигени. Результат вважається позитивним в разі виявлення відповідних антитіл у розбавленні 1 : 200 і вище (вівці, кози, свині), - 1 : 400 і вище (коні, велика рогата худоба) та 1 : 50 і вище (кролі).

Імунітет. Імунітет при лістеріозі відносний. Для штучної імунізації запропоновано ряд вакцин, зокрема живу вакцину з штамму АУФ. Після одноразового введення великій рогатій худобі, свиням та вівцям формується імунітет тривалістю 6 міс. В Україні розроблено та впроваджено у практику ветеринарної медицини інактивовану вакцину «Концентрована інактивована вакцина проти лістеріозу тварин».

3

Збудник пастерельозу (*Pasteurella multocida* (звідка *Pasteurella haemolytica*))

Пастерельоз (геморагічна септицемія, холера курей) — інфекційна хвороба багатьох видів домашніх і диких тварин. Захворювання характеризується ознаками септицемії, геморагічним запаленням серозних та слизових оболонок, нерідко запаленням легень, шлунково-кишкового тракту, суглобів.

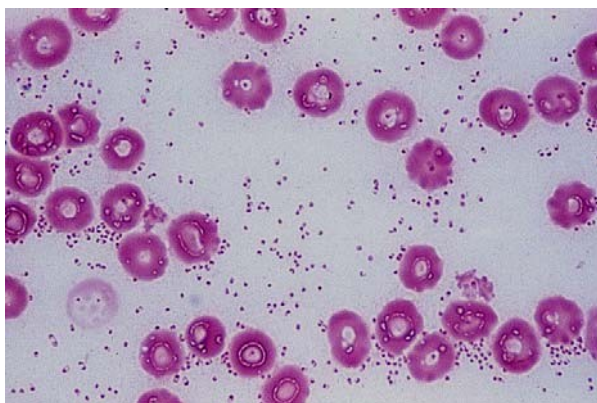
Збудник - *Pasteurella multocida* (звідка *Pasteurella haemolytica*) належить до роду *Pasteurella* з родини *Pasteurellaceae*. У визначнику бактерій Берджі пастерели включені до третьої підгрупи Групи 5 « Факультативно анаеробні грамнегативні палички».

Вперше Л. Пастер у 1879 р. виявив збудника холери курей, назвавши його *Bact. bipolare septicum*. Пізніше подібні мікроорганізми були виділені від великої рогатої худоби, свиней, овець, кролів та інших видів тварин, які одержали відповідно назви *Bact. bipolare bovissepticum*, *Bact. bipolare suissepticum*, *Bact. bipolare ovisepticum*, *Bact. bipolare caprisepticum*, *Bact. bipolare cynicilisepticum*. Вважалося, що для кожного виду тварин існує відповідний збудник пастерельозу. При подальшому вивченні згаданих мікроорганізмів було встановлено надзвичайну їх подібність. На честь Л. Пастера мікроорганізми назвали пастерелами, запровадивши у мікробіології відповідний рід та родину. Основним збудником пастерел вважається *Pasteurella multocida*. У той же час нині описано ще біля 20 видів та підвидів пастерел, патогенність яких детально вивчається.

Морфологія. *Pasteurella multocida* — коротка еліпсоподібна паличка 1,0 – 2,0 мкм довжиною та 0,3— 1,0 мкм діаметром (рис. 33). У мазках від хворої птиці частіше мікробні клітини овоїдної (яйцеподібної) форми. В мазках, зроблених з культур,— кокоподібні, інколи паличкоподібні. Пастерели нерухливі, спор не

утворюють. Можуть утворювати мікрокапсулу. Грамнегативні. Фарбуються біполярно: інтенсивно на полюсах та ледь помітно у центральній частині. Біполярність найбільш виражена в мазках, пофарбованих метиленовою синькою або ж фарбою Романовського—Гімза (рис. 33).

Культуральні властивості. Хемоорганотроф. Характеризується як дихальним так і бродильним типами метаболізму. Факультативний анаероб. Оптимальна для розвитку температура 37—38 °С. Проте може рости й при кімнатній температурі. Оптимальний показник рН 7,2—7,4. Росте на звичайних живильних середовищах. Інтенсивність росту помітно зростає при внесенні кров'яної сироватки. На МПА утворює дрібні випуклі прозорі безбарвні флуоресцюючі колонії S- форми. Інколи збудник формує крупніші слизистої консистенції (М- форма) або ж з нерівними краями та шорсткою поверхнею (R-форма) колонії. В МПБ пастерели зумовлюють незначну каламуть і утворюють осад. Останній при струшуванні пробірки піднімається у вигляді косички (S -форма) або дрібних крупинок та пластівців (R- форма). Мукоїдні штами ростуть надзвичайно інтенсивно з утворенням



великої кількості слизистого» осаду.

Рис. 33. Пастерели. Світлова мікроскопія.

Біохімічні властивості. Мікроб ферментує ряд цукрів, утворює індол, H_2S , каталазу, желатин не розріджує, гемолізу на

кров'янім агарі не викликає. Вивчення біохімічних ознак дає змогу диференціювати *Pasteurella multocida* від інших видів пастерел. Нижче наведено біохімічні властивості окремих видів роду *Pasteurella*. *Антигенна структура.* *Pasteurella multocida* має соматичний (О) та капсульний (К) антигени. За хімічним складом К-антигени є глікопротеїнами.

За характеристикою останнього було запропоновано поділяти пастерели на чотири серологічні типи : А, В, Д та Е (Картер, 1961). Пастерели серологічного типу А частіше викликають захворювання у птахів. Від савців переважно виділяють пастерели серологічних типів В та Е. Пастерели серологічного типу Д викликають захворювання у всіх видів тварин.

Резистентність. *Pasteurella multocida* може виживати у трупах тварин до 4 міс, у гною, воді — до трьох тижнів, у ґрунті — до 1 міс. Збудник досить чутливий до висушування. При 70—90 °С гине за 5— 10 хв, при кип'ятінні—миттєво. Прямі сонячні промені вбивають його за кілька хвилин. Розчини фенолу, крезолу, хлорного вапна, гідро- ксиду натрію в загальновідомих для дезинфекції концентраціях зне- шкоджують збудник за кілька хвилин.

Патогенність. У природі циркулюють штами пастерел з різною вірулентністю. Остання досить лабільна, може змінюватися у той чи інший бік. Зокрема, при культивуванні на штучних живильних середовищах вона зменшується і, навпаки, помітно зростає у процесі пасажування на чутливих, особливо з ослабленою резистентністю, тваринах.

Pasteurella multocida екзотоксинів не продукує. Основними факторами її патогенності є ендотоксини та капсулоутворення. Збудник патогенний для всіх видів домашніх та диких ссавців, птахів, а також людини. Штами пастерел закономірно більш патогенні для видів тварин з матеріалів яких вони були виділені.

Серед лабораторних тварин найбільш чутливі білі миші, кролі і голуби.



Рис.34. Пастерели, виділені від птиці (ліворуч) та від великої рогатої худоби (праворуч); електроннограма на Никифоровою та Скалинським)

Пастерельоз може виникати як екзогенна або ж ендогенна інфекція. У разі екзогенної інфекції збудник проникає в організм аліментарно, аерогенним шляхом або ж через пошкоджені шкіру чи слизові оболонки. Збудник швидко розмножується, проникає у кров та лімфу, зумовлюючи септицемію. Відбувається масове пошкодження капілярів. Спостерігається геморагічний діатез. Порушується живлення тканин, наростають деструктивні явища. Останні пов'язані, зокрема, з нагромадженням значної кількості ендотоксину. Важливе значення у патогенезі пастерельозу має здатність пастерел пригнічувати імунні реакції організму, зокрема фагоцитоз.

У великої рогатої худоби підвищується температура тіла до 40 °С і вище. Спостерігається втрата апетиту, слабкість. Зменшується або повністю припиняється молокоутворення. Нерідко

виникає кривавий пронос, інколи опухають голова, шия, глотка, підгруддя, суглоби. Гостре захворювання триває від 12—15 год до 3—4 діб. Смертність може досягати 80—85 %.

У овець гострий перебіг пастерельозу також характеризується гарячкою, пригніченням, появою набряків підшкірної клітковини у передній частині тулуба. При напівгострому перебігу хвороби спостерігаються запалення легень, плеври, травного тракту, реєструються бурсити та артрити.

У свиней пастерельоз виникає частіше як секундарна інфекція й може мати гострий, напівгострий та хронічний перебіг. Це ж стосується і птиці. Але у останніх спостерігається ще й надгострий перебіг, при якому птиця гине раптово, без прояву будь-яких клінічних ознак захворювання.

Типовим для пастерельозу є крововиливи під серозними оболонками перикарду, епікарду, плеври, слизовими оболонками трахеї, кишечника. Лімфатичні вузли збільшені, темно-червоного кольору. В підшкірній клітковині в ділянці голови, шиї, підгрудка — серозно-фібринозні інфільтрати. В легенях — нерідко ознаки фібринозно-гнійної плевропневмонії. В печінці, рідше в лімфатичних вузлах, легенях, нирках спостерігаються дрібні сірувато-жовтого кольору вогнища некрозу. При артритах — в уражених суглобах виявляється сироподібний гнійний ексудат.

Діагностика. Ґрунтується на виділенні збудника та вивченні його властивостей. Матеріалом для дослідження є трупи дрібних тварин, уражені ділянки паренхіматозних органів, кров з серця, трубчаста кістка. Для виділення збудника використовують лише свіжий патологічний матеріал, відібраний від кількох трупів. В період лихоманки пастерели вдається виділити також з проб крові хворих тварин.

Мазки фарбують за Грамом, синькою Лефлера або ж за

Романовським-Гімза. У позитивних випадках спостерігають характерні біполярно пофарбовані кокоподібні (овоподібні) палички. Для виділення збудника здійснюють посіви з внутрішніх органів, лімфатичних вузлів, крові, трубчастої кістки, мозку на збагачені (містять 5 – 10 % крові чи сироватки крові вівці або коня) МПА та МПБ, інкубують протягом 24—48 год. Ідентифікацію збудника здійснюють на основі детального вивчення морфологічних , культуральних, ферментативних та, при можливості, і серологічних властивостей. Слід пам'ятати, що в мазках з культури пастерели коко-подібні, значно відрізняються від тих, що спостерігаються в мазках, зроблених з патологічного матеріалу.

Біологічне дослідження проводять на білих мишах або ж кролях. Заражають їх суспензією з патологічного матеріалу або ж виділеною культурою. Білим мишам вводять підшкірно 0,2 мл, кролям — 0,5 мл матеріалу. Важливо пам'ятати про можливе бактеріоносійство у кролів. Для біопроби можна використовувати лише клінічно здорових, вільних від пастерел, тварин. При наявності збудника у досліджуваному матеріалі заражені тварини гинуть через 18—36 год. При діагностиці пастерельозу (холери) курей біопробу ставлять на голубах або ж 90—120-добових курчатах. 0,5 мл бульйонної культури збудника вводять внутрішньом'язово.

Бактеріологічне дослідження вважають позитивним, якщо з патологічного матеріалу виділено вірулентний для лабораторної тварини штам пастерел. Однак для остаточного діагнозу захворювання необхідно проаналізувати клініко-епізоотологічні дані, результати патологоанатомічного розтину. Завжди слід пам'ятати про широку циркуляцію пастерел у природі та можливість змішаних інфекцій.

Імунітет. Тварини, які перехворіли на пастерельоз,

набувають імунітету. Проте імунітет нестерильний. Штучний імунітет можна створити за допомогою живих та інактивованих вакцин, сироватки. Можливість створення штучного імунітету у птиці була доведена ще Л. Пастером (1890). Нині використовують: преципітовані формолвакцину проти пастерельозу сільськогосподарських тварин, напіврідку гідроокисалюмінієву формолвакцину проти пастерельозу великої рогатої худоби та буйволів, емульговану (масляно-ад'ювантну) вакцину проти пастерельозу великої рогатої худоби, емульговану (масляно-ад'ювантну) вакцину проти пастерельозу птиці, емульсин-вакцину проти пастерельозу курей та індиків, суху авірулентну вакцину, вакцину з штамів колишньої Краснодарської НДВС (штами К та АВ).

Найбільш широко використовують емульговані препарати у зв'язку з їх високою імуногенністю та нешкідливістю. Широкого застосування набули, зокрема, емульгована вакцина проти пастерельозу великої рогатої худоби та овець і аналогічна вакцина проти пастерельозу свиней. Для приготування першої використовують вірулентні штами пастерел, виділені від великої рогатої худоби, буйволів і овець. Вакцинні штами характеризуються широким спектром імуногенності. їх зберігають у ліофілізованому стані і періодично пасажують через організм відповідних видів тварин. Справа в тому, що лише вірулентні штами, які утворюють капсули, достатньо імуногенні.

Вакцинні штами вирощують на збагачених стимуляторами росту живильних середовищах, сконцентровують за допомогою сепаратора, суспендують у фосфатному буфері. В 1 мл суспензії повинно бути 200 млрд мікробних тіл. Інактивацію здійснюють формаліном. Останній (0,25 %-ний) вносять у суспензію, яку витримують протягом 24 год при температурі 37 °C і періодично

перемішують. Після цього визначають якість інактивації і здійснюють емульгування.

Емульгування проводять механічним диспергуванням інактивованої формаліном бактеріальної суспензії в ад'юванті — хімічно чистому легкому мінеральному маслі з емульгатором — безводним ланоліном. До складу ад'юванту входить 83 % легкого мінерального масла та 17 % безводного ланоліну. Для приготування емульсій-вакцини беруть 52 % інактивованої бактеріальної суспензії та 48 % суміші легкого мінерального масла з ланоліном.

Кожну серію вакцини перевіряють на стерильність, стабільність, нешкідливість та імуногенність.

Стерильність визначають на живильних середовищах. Для оцінки стабільності флакони з вакциною ставлять у термостат при 37 °С на 14 діб. Фізичні властивості (загальний вигляд, гомогенність) повинні залишитися без будь-яких змін. Допускається лише відшарування на 0,5—1 см фази вакцини над гомогенною емульсією.

Нешкідливість вакцини визначають шляхом підшкірного введення її білим мишам.

Імуногенність препарату оцінюють на кролях. П'яти кролям внутрішньом'язово вводять по 1,5 мл вакцини. Через 30 днів вакцинованим і трьом контрольним тваринам вводять по смертельній дозі пастерел. Вакцина вважається імуногенною, якщо серед вакцинованих тварин виживе не менше трьох, а контрольні усі загинуть. За тваринами спостерігають не менше семи днів.

Методики приготування інших емульсій-вакцин подібні. Відрізняються вони, головним чином, вакцинними штамами пастерел.

Емульговану вакцину проти пастерельозу великої рогатої худоби, буйволів і овець та аналогічну проти пастерельозу свиней застосовують з профілактичною метою. Вводять препарат одноразово внутрішньо-м'язово в дозах: великій рогатій худобі та буйволам 3 мл, вівцям 2, свиням 3 мл. Імунітет створюється не менше як на 12 міс.

Емульговану вакцину проти пастерельозу птиці вводять також одноразово. Препарат ін'єктують підшкірно в дозі 1,5 мл незалежно від виду. Курей вакцинують з 2,5-місячного віку, качок — з 1,5-місячного.

В Україні біофабрики нині виробляють ряд інактивовних вакцин «Формолвакцина проти пастерельозу великої рогатої худоби, буйволів і овець, масляна», «Формолвакцина проти пастерельозу великої рогатої худоби, буйволів і овець, ГОА напіврідка», «Фомолвакцина проти пастерельозу овець і свиней, преципітована», «Бактерин-вакцина проти пастерельозу сільськогосподарської птиці, інактивована», «Вакцина проти пастерельозу качок і гусей, емульсована», «Вакцина проти пастерельозу птиці, сорбована, інактивована» та ін., а також зареєстровані препарати інших

виробників, зокрема Німеччини («Talovac 108/FC» (вакцина проти пастерельозу птиці інактивована, антиген – інактивовані бактерії – *P. multocida*, серотип А-1) та Нідерланди («Nodilis FC inas» (вакцина проти пастерельозу птиці інактивована, містить антигени *P. multocida*, серотипів 1 - 5). Використовуюч. згадані вакцини, необхідно уважно аналізувати антигенний їх склад на предмет відповідності його антигенній характеристиці збудника пастерельозу в регіоні, у якому вони використовуються з метою специфічної профілактики хвороби.

З метою профілактики пастерельозу серед птиці застосовують також живі вакцини, виготовлені з французьких авірулентних штамів збудника та із слабовірулентних штамів АВ і К. Живі вакцини з слабовірулентних штамів застосовують у неблагополучних щодо пастерельозу господарствах, у яких вирощують водоплавну птицю. Качок вакцинують з 1-місячного віку одноразово, а старших з 2-місячного віку, препарат вводять два рази. Спочатку вводять вакцину з штаму АВ в синус голови в дозі 0,2 мл, а через сім днів — другу вакцину з штаму К у такій же дозі в протилежний синус.

Живі вакцини можуть викликати ускладнення, тому застосовують їх дуже обережно. Забороняється, зокрема, вакцинувати хвору й ослаблену птицю.

Гіперімунну сироватку проти пастерельозу великої рогатої худоби, буйволів, овець та свиней готують гіперімунізацією волів вірулентними й імуногенними штамми пастерел, спочатку інактивованими теплом, а потім живими.

Сироватку застосовують переважно з профілактичною метою, зокрема вводять її телятам, поросятим та ягнятам у перші дні поставитварин на тваринницькі комплекси. Телятам та поросятим вводять по 10—30 мл, дорослим тваринам — по 30—40. Застосування гіперімунної сироватки з лікувальною метою ефективне лише на початку захворювання. Вводять її внутрішньом'язово або ж внутрішньовенно у подвійній профілактичній дозі.

Пастерели чутливі до гентаміцину, лівоміцетину, стрептоміцину та тетрацикліну.

Лекція 13. Збудник сибірки

План

1. Морфологія та культуральні властивості.
2. Патогенність
3. Діагностика

1

(*Bacillus anthracis*)

Сибірка (*Anthrax*, сибирская язва) — гостре інфекційне захворювання тварин і людини. Характеризується септицемією, інтоксикацією та утворенням карбункулів. Латинська назва хвороби «*Anthrax*» пов'язана з тим, що на верхівці карбункулів у хворої людини утворюється виразка, яка пізніше, в результаті підсихання кірочок темного кольору, стає блискучою мов шматочок вугілля (антрацит).

Захворювання зустрічається в усіх країнах світу. Має, в основному, спорадичний перебіг, зрідка у вигляді ензоотій або епізоотій.

Збудник сибірки (*Bacillus anthracis*) - представник родини *Bacillaceae*. У Визначнику бактерій Берджі (1997) рід *Bacillus* належить до Групи 18 — «Грампозитивні палички і коки, утворюючі спори».

Французькі вчені Давен та Райєр (1850), а дещо пізніше Поллендер (1855) і професор Дерптського ветеринарного училища в Росії Брауель (1857) спостерігали збудника у крові загинувших та хворих тварин. Брауель надавав цьому факту діагностичне значення. Проте остаточно значення спостережень згаданих дослідників було усвідомлене лише після того, як Давен (1863) експериментально довів етіологічне значення винаходів.

У чистій культурі *Bac. anthracis* була одержана Р. Кохом (1876) та Л. Пастером (1877).

Морфологія. *Bac. anthracis* порівняно велика паличка, 3—10 мкм довжиною і 1—1,3 мкм діаметром, нерухлива, утворює спори та капсулу (рис. 35 та 36). В мазках-відбитках з патологічного матеріалу розміщена поодинокі, парно та у вигляді коротких ланцюгів. У пофарбованих препаратах виявляється характерна ознака: кінці паличок, що стикаються поміж собою, різко «обрубані». Інколи спостерігається своєрідна форма ланцюгів у вигляді бамбукової палиці: мікробні

клітини в місцях з'єднання дещо потовщені, а центральна їх частина стиснена. В мазках із патологічного матеріалу збудник має капсулу, із культур — має вигляд довгих стрептобацил. Лише атипові його штами утворюють коротенькі ланцюги.

Капсулоутворення у *Bac. anthracis* спостерігається в організмі та на середовищах, збагачених кров'ю, кров'яною сироваткою. Капсула має вигляд компактного грануляційного шару, що тісно прилягає до клітинної стінки.

Спори збудник утворює у зовнішньому середовищі при відповідних умовах (температура, наявність молекулярного кисню, волога). При температурі нижче 12 °С та вище 42 °С спори не утворюються. Не утворюються вони також і в організмі хворих, у трупах, які не розтинали. Спори овальні, інколи кулясті, розміром 1,2—1,5

X 0,8—1,0 мкм, розміщені центрально, зрідка субтермінально.

Bac. anthracis добре фарбується спиртово-водними розчинами анілінових фарб, за Грамом позитивно. Однак у надто молодих чи, навпаки, старих культурах можуть зустрічатися і грамнегативні клітини.

Культуральні властивості. *Bac. anthracis* — факультативний ана- ероб. Добре росте в аеробних умовах, проте може розвиватися і в анае-робних. Температурний оптимум для росту і розвитку збудника - в межах 37—38 °С, оптимальний показник рН середовища - 7,2—7,6. До живильних середовищ не вибагливий. Росте на простих середовищах (МПБ, МПА, МПЖ), а також на картоплі, в молоці, у різних рослинних субстратах: настоях з соломи, сіна, екстракті з гороху, сої та ін.

На МПА *Bac. anthracis* вже через 17—24 год. після посіву утворює сірувато-білі з матовою поверхнею колонії діаметром 3—5 мм, схожі на сніжинки. Краї колоній нерівні — під мікроскопом мають вигляд локоноподібних утворень з ниткоподібних структур, схожих на голо- ву міфічної Медузи Горгони.

На сироватковому агарі, при наявності 10—50 % вуглекислоти, *Bac. anthracis* утворює колонії S- або M-форми. В мазках з таких ко- лоній збудник покритий капсулою.

В МПБ *Bac. anthracis* утворює пухкий , що має вигляд шматочка вати, осад. Рідина залишається прозорою. Проте S - та M-форми мо- жуть зумовити незначну

каламуть бульйону.

При посіві на МПЖ уколом на 2—5-ту добу культивування з'являється жовтувато-білий стрижень, від якого під прямим кутом радіально відходять ніжні бокові відростки у вигляді ялинки, перевернутої верхівкою вниз. Желатина розріджується повільно лійкоподібно, пізніше — у вигляді мішечка.

Зрідка окремі штами в результаті окислення тирозину можуть зумовлювати в агарі чи бульйоні коричневий колір.

Біохімічні властивості. *Bac. anthracis* ферментує з утворенням кислоти глюкозу, мальтозу, сахарозу, тригалоу, фруктозу та декстрин. Арабінозу, рамнозу, галактозу, манозу, рафінозу, інουλін, маніт, дульцит, сорбіт та інозит не змінює. Дає позитивну реакцію Фогеса-Проскауера, редукує метиленовий синій, відновлює нітрати. Збудник синтезує лецитиназу і повільно коагулює розчин жовтка курячого яйця. Має помірно виражену протеолітичну активність.

Антигенна структура. *Bac. anthracis* має соматичний полісахаридної природи (С) та капсульний глютамінполіпептидний (Р) антигени. Перший виявляють як у вірулентних штамів, так і у невірулентних. Він неімуногенний. Капсульний антиген характерний для вірулентних штамів збудника. Він дає перехресні серологічні реакції з поліпептидом *Bac. subtilis*, *Bac. cereus* та *Bac. megatherium*. Антигенна активність характерна також для екзотоксинів збудника.

Резистентність. Вегетативні клітини *Bac. anthracis* нестійкі. Вони гинуть у групі протягом 2—3 діб. За тиждень труп повністю може звільнитися від збудника сибірки, при умові, що його не розтинали. При нагріванні до 60 °С вегетативна форма збудника гине за 15 хв, при кип'ятінні — миттєво, швидко гине під дією прямих сонячних променів та дезінфікуючих речовин. Розчини формаліну (2 %-ні), фенолу (5 %-ні), хлораміну (5—10 %-ні), свіжого хлорного вапна (6 %-ні) вбивають його протягом 5 хв.

Низькі температури консервують збудника, і його вегетативні форми можуть залишатися життєздатними тривалий час. Так, при — 10 °С вони виживають понад 20 діб.

Спори *Bac. anthracis*, навпаки, - надзвичайно стійкі. Роками можуть зберігатися у трупах, воді, десятки років у ґрунті. Сухий жар при 120—140 °C вбиває спори лише протягом 2—3 год, при 150 °C — за 1 год., кип'ятіння — за 1 год, автоклавування при 110 °C — через 5—10 хв. *Bac. anthracis* чутлива до пенициліну, хлортетрацикліну і левоміцетину. Антагоністичну дію на неї виявляють сальмонели, кишкова паличка, протей, стафілококи, актиноміцети та ряд інших мікроорганізмів. Пригнічує розмноження *Bac anthracis* ризосфера деяких вищих рослин, зокрема конюшини, ревеню, пшениці, жита, часнику.

Для знешкодження спорових форм збудника необхідна тривала дія дезинфектантів. Так, 10 %-ний розчин гідроксиду натрію вбиває їх протягом 2 год, 2 %-ний формалін — за 10—15 хв, 5—10 %-ний розчин хлораміну — протягом кількох годин і навіть діб.

2

Патогенність. До сибірки досить чутливі усі травоядні тварини, свині малосприйнятливі. М'ясоїдні тварини відносно резистентні. Зрідка хворіють собаки, вовки, лисиці, песці. Серед птахів сибірку зареєстровано у качок, страусів. Лабораторні тварини (білі миші, кролі, морські свинки) високочутливі до *Bac. anthracis*, захворювають при будь-якому введенні патологічного матеріалу або культури збудника. Досить чутливі до сибірки і люди.

Факторами вірулентності *Bac. anthracis* є його токсини, ферменти та капсулоутворення.

Збудник сибірки секретує складний екзотоксин. Він містить три компоненти: едематогенний фактор (EF), протективний антиген (РА) та летальний фактор (LF) або відповідно I, II, III фактори.

Едематогенний фактор — ліпопротеїн. Він зумовлює місцеву запальну реакцію — набряк та руйнування тканини. Протективний антиген — нетоксичний, характеризується вираженою імуногенною дією. Летальний токсин в ізольованому вигляді також нетоксичний, проте якщо його змішати з протективним антигеном, викликає загибель морських свинок, білих мишей, щурів. Протективний антиген та летальний токсин є білками.

Всі три фактори екзотоксину характеризуються синергічною взаємодією — вони викликають едематичні явища і летальний ефект. Співвідношення цих факторів у різних штамів може бути неоднаковим, що в певній мірі і визначає індивідуальну патогенну (вірулентну) їх характеристику.

Основним фактором інвазивності збудника є поліпептид Д- глютамінової кислоти. Певна роль належить також екзоферментам.

Джерелом інфекції є хворі тварини, трупи загиблих, неупорядковані скотомогильники та ін. Факторами передачі збудника можуть бути контаміновані корми, вода, повітря, кровососи, обслуговуючий персонал, різні види тварин.

Зараження тварин може бути аліментарним, через пошкоджені шкіру та слизові оболонки укуси кровососів. Людина може заразитись при контакті з хворими тваринами, при споживанні м'ясопродуктів від хворих тварин, при контакті з контамінованою збудником шкірсировою та ін.

Збудник має виражену інвазивність. Він легко переборює захисні реакції організму, зокрема, за допомогою агресинів гальмує опсонізацію, швидко розмножується і проникає у кров. Виникає септицемія. Виділювані у великій кількості екзотоксин і екзоферменти руйнують клітини. Наявність капсули запобігає завершеному фагоцитозу, і збудник без перешкод розноситься до всіх органів і тканин. Виникає гіпоксія, порушується кислотно-лужна рівновага. Створюються умови, при яких неможливий нормальний обмін речовин, і тварина гине. Характер прояву інфекції пов'язаний з місцем проникнення збудника в організм, його вірулентністю, резистентністю макроорганізму та умовами зовнішнього середовища. Залежно від локалізації та основних патологічних явищ розрізняють карбункульозну, кишкову, легенеvu і ангінозну (тонзиллярну) форми сибірки.

Перебіг захворювання може бути блискавичним, гострим, напівгострим та абортивним. У першому випадку тварина гине раптово, без будь-яких ознак захворювання. Вівця, наприклад, раптом тяжко дихає, тремтить, падає на землю і гине протягом кількох хвилин з тяжкими судорогами.

Гострий перебіг характеризується підвищенням температури тіла,

прискореним диханням, тахікардією, відмовою від корму. В різних ділянках тіла (на ший, крупі) можуть з'являтися карбункули, спочатку тверді, болючі та гарячі, а через кілька годин — холодні, неболючі, тістоподібні. Тварини гинуть протягом 1—3 днів.

Хронічний перебіг сибірки спостерігається частіше у свиней. Характерною ознакою є ураження заглоткових лімфатичних вузлів набряк глотки та гортані.

Труп загиблих від сибірки тварин здутий, залякання його не виражене. З природних отворів виділяється кров'яниста рідина. Кров темна, лакоподібна, незвернута. Лімфатичні вузли збільшені, пронизані крововиливами. Останні виявляють також у підшкірній клітковині. Там же — кров'яністі інфільтрати. Селезінка значно збільшена, що є однією з найхарактерніших ознак сибірки. Консистенція її дрябла, пульпа на розрізі тече у вигляді дьогтьоподібної маси. Однак слід пам'ятати, що підозрілі на сибірку трупи розтинати суворо заборонено.

3

Діагностика. Лабораторна діагностика сибірки ґрунтується на проведенні мікроскопічного, бактеріологічного, біологічного та серологічного досліджень.

В лабораторію відсилають вухо (раковину), відрізане з того боку, на якому лежить труп, товсті мазки крові (нефіксовані). Якщо захворювання запідозрили після розтину трупа чи забою тварини, відбирають шматочки селезінки, печінки, лімфатичні вузли. Від свиней — заглоткові лімфатичні вузли та ділянки набряклої сполучної тканини. Патологічний матеріал повинен бути свіжим і терміново доставленим у лабораторію згідно з правилами доставки особливо небезпечного матеріалу.

Лабораторному дослідженню інколи підлягають також проби ґрунту, кормів, води, шкіри. Відбір і доставку їх здійснюють відповідно до діючих інструктивних матеріалів.

Мікроскопічне дослідження. Мазки з крові, мазки-відбитки з шматочків органів фарбують за Грамом та за одним з методів для виявлення капсул —

Рєбігєра, Михіна, Ольта. В разі виявлення грампозитивних, оточених капсулою, характерних паличок, роблять попередній позитивний висновок щодо наявності збудника сибірки. Попередній діагноз є підставою для вжиття лікарем ветеринарної медицини відповідних заходів у господарстві.

Незалежно від результатів мікроскопії здійснюють посів матеріалів на звичайні живильні середовища, які проглядають через 18—24 год. У разі відсутності ознак росту, посіви витримують у термостаті 48 год. При наявності ознак росту, описують колонії, вивчають їх під мікроскопом, роблять мазки, фарбують їх і мікроскопують. Слід пам'ятати, що в природі існують аеробні бацили-сапрофіти, так звані антракоїди, які за рядом ознак подібні до збудника сибірки.

Диференціацію збудника сибірки і антракоїдів здійснюють за допомогою ряду тестів. На відміну від антракоїдів, збудник сибірки патогенний для білих мишей, утворює капсулу, лізується сибірковим бактеріофагом, втрачає ригідну стінку клітини під впливом пеніциліну (тест «намисто перлини»), нерухливий, не гемолізує еритроцитів крові. Для ідентифікації збудника сибірки використовують також імуно-флуоресцентний метод.

Біологічну пробу ставлять на білих мишах або морських свинках. Суспензію з патологічного матеріалу (1 : 2), вводять підшкірно двом білим мишам у дозі 0,1—0,2 мл, морським свинкам — по 0,5—1 мл. При наявності в матеріалі збудника сибірки тварини гинуть протягом 1—3 діб. З крові серця та органів загинув тварин готують мазки, фарбують їх і мікроскопують. Збудника реізолюють на живильних середовищах. Слід пам'ятати, що загибель білих мишей може викликати також *V. cereus* у разі введення матеріалу інтраперитонеально.

Тест «намисто перлини» оснований на пригніченні пеніциліном синтезу компонентів клітинної стінки у *Bac. anthracis*. Досліджувану культуру засівають в пробірки або бактеріологічні чашки з МПА, який містить 0,5 та 0,05 ОД пеніциліну в 1 мл. Інкують протягом 3 год у термостаті. На агарі з пеніциліном *Bac. anthracis* утворює ланцюги з сферичних клітин, що нагадують «намисто перлини». Антракоїди в аналогічних умовах морфології не змінюють. Чутливість до відповідного бактеріофагу (стандартний сибірковий бактеріофаг гамма МВА або К-BIEB)

визначають методом краплі, яка стікає (пробірковим методом), мікрометодом або за допомогою реакції зростання титру бактеріофагу. Частіше застосовують перший метод.

Спочатку виділену культуру засівають на скошений МПА в пробірці. Потім наносять краплю стандартного бактеріофага і, ставлячи пробірку вертикально, дають змогу бактеріофагу стекти вниз. Інкують у термостаті і періодично роздивляються характер росту. Якщо досліджувана культура є збудником сибірки, «слід» бактеріофага виявиться стерильним і, навпаки, у випадку, коли культура являє собою антракоід, спостерігається суцільний ріст.

Люмінесцентну мікроскопію здійснюють прямим або непрямим методом. Обидва методи високоспецифічні. Проте постановка РІФ потребує належних навичок і в разі недостатньої компетенції дослідника результат може виявитися неточним.

Серологічну діагностику здійснюють за допомогою реакції преципітації, постановка якої описана в загальній частині.

Імунітет. В результаті перехворювання сибіркою у тварин формується тривалий напружений імунітет. Він створюється також у результаті вакцинації тварин або застосування протисибіркової сироватки.

Основою протисибіркового імунітету є гуморальні та клітинні фактори. Протективні антитіла індукуються протективним антигеном, який, за сучасними даними, є одним з складових екзотоксину *Bac. anthracis*. Значення фагоцитозу в імунітеті проти сибірки відмічав ще І. І. Мечников (1901). Нині доведено суттєву роль в протисибірковому імунітеті усіх клітинних факторів, причетних до збереження гомеостазу організму.

Для штучної імунізації тварин широко використовують живі спорові вакцини. Вперше вакцину проти сибірки запропонував Л. Пастер у 1881 р. Через два роки в Росії Л. С. Ценковський, скориставшись методикою Л. Пастера, приготував першу та другу вакцини проти сибірки. Дослідник вірулентну культуру збудника засівав у бульйон і інкубував при 42,5 °С протягом 12 діб. Таким чином було одержано першу вакцину. Другу вакцину виготовляли аналогічно. Різниця була

лише у тому, що інкубація тривала не 12, а шість діб., Вегетативні клітини переводились у спорові при 35 °С протягом шести діб. Спори стабілізували 30 %-ним гліцерином.

Вакцини Пастера та Ценковського широко застосовували протягом кількох десятиліть. Вони забезпечували стабільний імунітет, проте нерідко спостерігалися ускладнення через залишкову вірулентність штаму. Останнє змусило дослідників вести пошуки більш досконалих препаратів.

Широкого застосування набула вакцина СТІ, запропонована Н. Гінзбургом (1940) на основі безкапсульного варіанта збудника сибірки (штам СТІ-1). Вакцинний штам вирощують на збагаченому МПА при температурі 34 °С протягом 72 год. Контролюють процес спороутворення. Кількість спор повинна бути в межах не менш 95 % від кількості бацилярних форм. Потім культуру суспендують у фізрозчині. При виготовленні рідкої вакцини суспензію змішують з 30 %-ним розчином гліцерину з таким розрахунком, щоб кількість спор у 1 мл була в межах 25—35 млн.

При виготовленні сухої вакцини суспензію спор змішують із за- хисним середовищем (1 : 1) і ліофілізують. Потім препарати контролюють на чистоту росту, концентрацію життєздатних спор, імуногенність і нешкідливість.

Імуногенність оцінюють на десяти морських свинках масою 400—450 г. Вакцину вводять підшкірно, перший раз в дозі 0,1 мл, другий — через вісім днів у дозі 0,2 мл. Через 12 днів після повторного введення вакцинованих і контрольних тварин заражають другою вакциною Ценковського (матрикс 71) у дозі 500—800 спор , підшкірно. За тваринами спостерігають протягом десяти днів. Вакцина вважається імуногенною, якщо з десяти вакцинованих морських свинок не менше восьми залишаться живими, а серед контрольних не менше восьми загинуть протягом 3—4 днів.

Вакцину СТІ застосовують для профілактики сибірки у тварин. Імунітет настає через 10 днів після вакцинації і триває не менше року.

Розроблено також вакцину з штаму № 55. Біофабрики випускають її у двох варіантах — рідку та ліофілізовану. Препарат вводять один раз, підшкірно з 3-

місячного віку тварини. Імунітет триває не менше року.

В Україні розроблено (Завірюха А.І.) ефективну вакцину з штаму K79-Z. Вона містить живі спори відповідного штаму збудника сибірки у 30%-му розчин гліцерину (рідка) , або ж в середовищі висушування (суха). Вакцину застосовують для імунізації всіх видів сприйнятливих тварин. Імунітет настає через 2 тижні після щеплення і триває протягом року. Біофабрики випускають також подібну вакцину із штаму СБ.

Окрім живої вакцини, академік Завірюха А.І. запропонував інактивовану вакцину Антракол. Антракол (токсин-вакцина проти сибірки тварин) являє собою культуральну рідину збудника сибірки, (штам K79-Z), з вмістом екзотоксину як стимулятора росту. Використовується для щеплення всіх видів тварин у випадках, коли застосування живих вакцин протипоказане (вік тварини, фізіологічний статус та ін), а також в разі необхідності термінового створення несприйнятливості стада. Імунітет настає протягом кількох годин після щеплення та триває 2,5 – 6 міс. В разі застосування інактивованої вакцини, через 2 тижні після зняття карантину, тварин необхідно прищепити живою вакциною.

Для пасивної імунізації проти сибірки використовують гіперімунну сироватку. Готують її шляхом гіперімунізації коней. Використовують сироватку як для профілактики, так і під час лікування тварин.

Крім гіперімунної сироватки, біофабрики готують також специфічний протисибірковий глобулін. Лікувальний ефект сироватки та глобуліну значно поліпшується при одночасному застосуванні антибіотиків. Bac. anthracis чутлива до пеніциліну, стрептоміцину, хлортетра-цикліну, левоміцетину.

Збудники ботулізму та злоякісного набряку.

План

1. Морфологія, культуральні та біохімічні властивості збудника ботулізму.
2. Резистентність, патогенність та діагностика збудника ботулізму.
3. Збудник злоякісного набряку

1

Ботулізм — гострий кормовий токсикоз з ознаками ураження центральної нервової системи. Характеризується розвитком парезів і паралічів, високою смертністю. Захворювання відоме з середини XII століття. Вперше воно було описане при спостереженні за хворими людьми, які заразилися, вживаючи зіпсовану ковбасу. Назва захворювання пов'язана з цією обставиною (лат. *botulinus* — ковбаса). Ботулізм у тварин став відомим на початку XX століття. Нині захворювання людини і тварин реєструють в усіх країнах.

Збудник — *Cl. Botulinum* відкритий у 1896 р. Ван Ерменгемом, який виділив його з ковбаси та шинки, а потім з селезінки та вмісту кишечника людини, яка померла після вживання названих продуктів. Належить до роду *Clostridium* родини *Bacillaceae*.

Морфологія. Збудник ботулізму — велика поліморфна паличка довжиною 4—9 мкм, діаметром — 0,3—0,8 мкм (рис.40 та 41). Можуть зустрічатися і значно коротші — кокоподібні та довші — ниткоподібні клітини. В мазках розміщені поодинокі, по дві, інколи коротенькими ланцюжками. Перитрих. Проте у старих культурах джгутики часто відсутні, тому рухливість спостерігається переважно у молодій культурі. Збудник капсул не утворює. Спори овальні, розміщені термінально або субтермінально. В останньому випадку споруючі клітини мають характерний для цього мікроорганізму вигляд тенісної ракетки.

Збудник добре фарбується аніліновими фарбниками, грампозитивний у молодій культурі. В старих культурах переважають грамнегативні клітини.

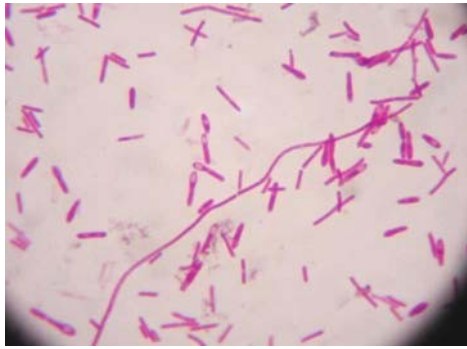


Рис. 40. Збудник ботулізму. Світлова мікроскопія. Інтернет, 2009р.



Рис. 41. Збудник ботулізму. Електронна мікроскопія. Інтернет, 2009р.

Культуральні властивості. *СІ. botulinum*—облігатний анаероб. Культивується на спеціальних живильних середовищах; глюкозокров'яному агарі Цейслера, середовищі Кіта—Тароці, бульйоні Хотингера з шматочками печінки, під вазеліновим маслом.

Температурний оптимум залежить від сероваріанта збудника. Збудники сероварів А, В, С та Д краще ростуть при температурі 35 °С, Е та F — при 28—30 °С. Спори останніх двох сероваріантів можуть проростати навіть при температурі 4 °С. Оптимальне рН для усіх сероваріантів збудника знаходиться у межах 7,4—7,6.

На поверхні щільного живильного середовища збудник утворює колонії неправильної форми з відростками або дрібні з порівняно рівними краями. При культивуванні на кров'яному агарі навколо колоній спостерігається зона β-гемолізу.

Середовище Кіта—Тароці спочатку стає каламутним, пізніше прояснюється і на дні пробірки з'являється осад.

Біохімічні властивості. *СІ. botulinum* ферментує з утворенням кислоти та газу глюкозу, левульозу, мальтозу, гліцерин, декстрин, саліцин, інозит. Деякі сероваріанти (А, В) характеризуються високою протеолітичною активністю. Збудник викликає маслянокисле бродіння, що супроводжується запахом, який нагадує запах згірлого масла.

Ферментативні властивості у збудника ботулізму нестабільні й залежать від його штаму, що потрібно враховувати в процесі ідентифікації.

Антигенна структура. Збудник ботулізму має сім серологічних варіантів: А, В, С (Сi, Сg), D, Е, F та G. Кожний серологічний варіант характеризується специфічною імуногенністю, продукує відповідний екзотоксин. Визначають токсини за допомогою реакції нейтралізації.

Специфічність у сероваріантів А, В та Е майже абсолютна, — у сероваріантів С та D — відносна. Незначна кількість токсину С може нейтралізуватися антитоксином D і, навпаки, невелика кількість його нейтралізується антитоксином С.

Збудник ботулізму має соматичний (О) та джгутиковий (Н) антигени. Перший груповий, другий — типоспецифічний.

Резистентність. Збудник у вегетативній формі нестійкий у зовнішньому середовищі. При температурі 80 °С — гине за 30 хв, при кип'ятінні протягом 2—3 хв. Спори, навпаки, надзвичайно резистентні. Вони можуть витримувати кип'ятіння протягом кількох годин. Так, спори сероваріантів А та В гинуть лише через 6 год. Така ж резистентність і у серовару F. Спори серовару Е найменш резистентні проти високих температур. При автоклавуванні (+120 °С) протягом 30 хв спори усіх сероваріантів збудника гинуть.

Спори *C. botulinum* надзвичайно резистентні й проти хімічних речовин. Не менше доби вони зберігаються у 5 %-ному розчині фенолу, до 2 міс не руйнуються в етиловому спирті.

Ботуліновий токсин при кип'ятінні руйнується протягом 15—20 хв. Проте якщо він знаходиться в продуктах (м'ясо, риба та ін.) для його знешкодження продукт потрібно кип'ятити кілька годин. Ефект при цьому залежить від об'єму та фізико-хімічної характеристики субстрату.

Ботуліновий токсин кілька місяців не руйнується у зерні. Він резистентний проти протеолітичних ферментів шлунково-кишкового тракту. Більше того, у кислому вмісті шлунково-кишкового тракту резистентність його проти інших факторів зростає. При цьому помітно підсилюється активність сероваріанта Е.

Ботуліновий токсин руйнується під дією іонізуючої радіації, прямих сонячних променів, у лужному середовищі (8,5 і вище).

Патогенність. *Cl. botulinum* продукує найсильніший бактеріальний токсин. Він утворюється в умовах анаеробіозу, при достатній вологості, в умовах нейтрального та слабнокислого середовища в продуктах та кормах рослинного або тваринного походження. Збудник ботулізму значно поширений у природі. Його виявляють у ґрунті, гною, воді, на поверхні рослин, в шлунково-кишковому тракті клінічно здорових людей і тварин, звідки він може контамінувати корми і, розмножуючись в певних умовах, зумовити нагромадження токсину. Нерідко причиною спалаху ботулізму є згодовування силосу, в процесі приготування, в який випадково потрапили трупи дрібних тварин (мишей, зайців, птахів та ін.). Умови, що створюються при силосуванні, забезпечують розмноження збудника, який нерідко входить до складу шлунково-кишкової мікрофлори згаданих тварин.

Ботуліновий токсин включає ряд факторів патогенності, зокрема нейротоксичний, гемолітичний. Він характеризується кумулятивною здатністю — надходячи в організм невеликими дозами, може досягти рівня, при якому настає отруєння тварини. До ботулінового токсину чутливі люди, коні, велика та дрібна рогата худоба, норки, птиця, незалежно від віку та породи. У великої рогатої худоби захворювання частіше спричиняють сероваріанти С і D, у коней — А, В, С, D, у норок та птиці -сероваріантом С. Досить стійкі проти ботулінового токсину свині, собаки, коти. Із лабораторних тварин найбільш чутливі білі миші, морські свинки та кролі. Щури порівняно резистентні.

Тварини захворюють на ботулізм, коли поїдають корм, який містить токсин збудника. Він досить швидко всмоктується у кров, надходить у тканини легень, печінки, серця, мозку, м'язи та ін. Він

викликає розлад функції кори головного мозку. Нервові клітини перезбуджуються, виснажуються і гинуть. Руйнуються центри довгастого мозку, що призводить до паралічу м'язів глотки, язика, нижньої щелепи. Діючи на периферичну нервову систему, токсин гальмує виділення ацетилхоліну, що призводить до порушення нервово-м'язових зв'язків. Останнє зумовлює послаблення м'язів тіла, порушення рухів, паралічу серця, системи дихання, асфіксії. Однак існує думка, що пов'язані з дефіцитом ацетилхоліну явища не відіграють суттєвої ролі в патогенезі ботулізму.

Перебіг захворювання може бути блискавичним, гострим, напів-гострим та хронічним. У разі гострого перебігу захворювання у коней та великої рогатої худоби спостерігається стривоженість, погіршення рефлекторної збудливості. Тварини рухаються з трудом, часом лягають і не піднімаються. Порушується дихання, спостерігаються тахікардія і аритмія. Розвивається спочатку гіпотонія, а потім атонія шлунково-кишкового тракту. Виникає параліч нижньої щелепи, язика. З ротової порожнини постійно виділяється слина. Жуйка відсутня.

У тварин інших видів ознаки дещо подібні описаним вище.

Загибель тварин при гострому перебігу ботулізму досягає 90—95 %.

При розтині трупів спостерігається жовтяничність підшкірної клітковини, крововиливи на серці, серозних покриттях, катарально-геморагічне запалення слизової оболонки кишечника. Головний мозок набряклий, з ознаками крововиливів.

2

Діагностика. Лабораторна діагностика ґрунтується на виявленні токсину і в меншій мірі на виділенні збудника.

В лабораторію надсилають проби корму, підозрюваного в токсино-утворенні, кров та паренхіматозні органи від трупів.. Матеріал подрібнюють і ретельно розтирають у ступці, додавши

стерильний пісок або побите скло. Вносять подвійну кількість (від кількості матеріалу) фізіологічного розчину й матеріал суспендують. Одержану суспензію використовують для виявлення токсину та виділення збудника.

Посів матеріалу здійснюють на середовище Кіта — Тароці. Частину його прогрівають при температурі 80 °С протягом 1 год і засівають на глюкозо-кров'яний агар Цейслера. Інкують кілька днів, періодично продивляючись посіви. При появі ознак росту на живиль-середовищі роблять мазки, фарбують їх за Грамом і мікроскопують.

Ботуліновий токсин виявляють біологічним методом. Одержану вищезазначеним способом суспензію з патологічного матеріалу витримують при кімнатній температурі 1—2 год, а потім центрифугують при 3000 об./хв або фільтрують через бактеріальний фільтр. Цитризовану кров, сироватку крові, виділену культуру краще фільтрувати через бактеріальний фільтр. Необхідно враховувати, що у крові (сироватці) токсин швидко руйнується, тому досліджувати їх необхідно зразу ж після одержання.

Звільнену від мікроорганізмів рідину вводять білим мишам масою 16—18 г у дозі 0,5—0,8 мл інтраперитонеально або підшкірно. Паралельно заражають мишей цим же, але прогрітим при 100 °С протягом 30 хв матеріалом. При наявності ботулінового токсину тварини, яким вводили непрогрітий матеріал, захворюють з ознаками, характерними для ботулізму (послаблення м'язів, паралічі) і гинуть, а ті, яким вводили прогрітий, — залишаються живими.

Крім білих мишей, для постановки біологічної проби з метою визначення ботулінового токсину можна використовувати також морських свинок.

Ідентифікацію токсину здійснюють за допомогою реакції нейтралізації. Досліджуваний матеріал перед введенням тварині змішують з полівалентною та моновалентними антиботуліновими сироватками і витримують протягом 30 хв при 37 °С. Тварини, які одержали суміш токсину з гомологічною сироваткою, виживають, решта — гинуть.

Імунітет. При ботулізмі імунітет антитоксичний і типоспецифічний. Перехворілі тварини залишаються чутливими до інших сероварів збудника (токсинів).

Для штучної імунізації тварин застосовують ботуліновий анатоксин. Нині імунізують головним чином хутрових звірів, зокрема норок, оскільки цим тваринам нерідко згодовують неякісні м'ясні продукти, внаслідок чого вони часто хворіють на ботулізм.

Застосовують концентрований формол-галуновий анатоксин типу С. Нормам вводять його з 40-денного віку до 1 мл внутрішньом'язово. Несприйнятливість настає через 15—20 днів і зберігається протягом року.

Розроблена також асоційована вакцина проти ботулізму та пастерельозу норок. Препарат містить антиген CI. botulinum сероваріанта С та P. multocida штам «Норка». Вводять його внутрішньом'язово одноразово в дозі 1,5 мл незалежно від віку тварини. Імунітет формується протягом 2—3 тижнів і зберігається один рік.

У медичній практиці застосовують антиботуліонову сироватку.

3

Збудник злоякісного набряку

Злоякісний набряк (рановий газовий набряк, газова гангрена, газова інфекція) — гостра неконтагіозна ранова інфекція тварин і людини.

Хворіють на злоякісний набряк усі види тварин, у тому числі й

птиця. Захворювання характеризується появою набряків у м'яких тканинах, некротичними явищами, інтоксикацією організму. Хвороба виникає частіше після поранень. Особливо небезпечні глибокі й колоті рани. Спостерігається вона також зрідка й після хірургічних втручань та акушерсько-гінекологічних маніпуляцій. До злоякісного набряку чутливі й люди.

Захворювання зустрічається повсюди, має переважно спорадичний перебіг.

Збудники. Злоякісний набряк — захворювання полімікробної етіології. Основними його збудниками є патогенні клостридії: *Cl. septicum*, *Cl. novyi*, *Cl. perfringens*, *Cl. histolyticum*, *Cl. sordellii*. У сільськогосподарських тварин захворювання частіше викликає *Cl. septicum* переважно в асоціації з іншими клостридіями. Збудники злоякісного набряку значно поширені в природі, розмножуються у шлунково-кишковому тракті тварин та людини. Після загибелі тварини кількість їх надзвичайно збільшується у зв'язку з прониканням клостридій в органи і тканини, де вони інтенсивно розмножуються, контамінуючи ґрунт та інші об'єкти зовнішнього середовища. У ґрунті вони можуть перебувати тривалий час, а при наявності сприятливих умов ще й розмножуватися.

Cl. septicum (*vibrio septique*) виділений у 1877 р. з трупа корови Партером і Жубером.

Морфологія. *Cl. septicum* — поліморфна паличка довжиною 2—10 мкм і діаметром 0,8—2 мкм. В мазках з патологічного матеріалу та культури зустрічаються поодинокі палички, інколи розміщені парами,

коротенькими ланцюжками. Зрідка спостерігаються ниткоподібні клітини.

Збудник рухливий у молодій культурі, перитрих. Утворює овальні субтермінально й іноді центральне розміщені спори. Він погано фарбується спиртово-водними розчинами анілінових фарб у звичайних концентраціях. Грампозитивний лише у препаратах з молодих культур.

Культуральні властивості. Облігатний анаероб. Оптимальна для росту температура 37 °С, рН середовища — 7,6. На поверхні кров'яного агару формує ніжні блискучі колонії з нерівними бахромчастими краями, інколи спостерігається вуалеподібний ріст, а навколо колоній — зона гемолізу.

В середовищі Кіта—Тароці — ріст інтенсивний, зумовлює значне його помутніння та помірне газоутворення. Потім середовище стає прозорим, утворюється осад. При культивуванні на мозковому середовищі спостерігається газоутворення, колір середовища не змінюється.

Біохімічні властивості. *Cl. septicum* ферментує з утворенням кислоти і газу глюкозу, галактозу, левульозу, мальтозу і саліцин, зрідка сахарозу. Розріджує желатину. Лакмусове молоко зсідається з утворенням кислоти й газу. У невеликій кількості утворює H₂S, індол не утворює.

Резистентність. Спори *Cl. septicum* витримують кип'ятіння протягом 2—15 хв. Роками вони зберігаються у ґрунті. Вегетативна форма збудника нестійка.

Патогенність. *Cl. septicum* патогенна для тварин усіх видів і людини. Збудник синтезує екзотоксин, до складу якого входять кілька компонентів:

α , β , γ . Переважає α -токсин. Останній характеризується гемолітичною та некротизуючою властивостями, зумовлює летальність. При внутрішньовенному введенні його у білих мишей спостерігаються судороги, паралічі, настає смерть.

β та γ -токсини — гемолізینی, γ -токсин — гіалуронідаза. Виявляють також колагеназу та фібринолізин.

Cl. septicum може викликати злоякісний набряк у тварин та людини, а також брудот у овець. Легко заражаються коні, велика рогата худоба, вівці, свині. Чутливі усі види лабораторних тварин. Частіше в експериментальних умовах заражають морських свинок. Матеріал ін'єктують внутрішньом'язово або підшкірно. Тварини гинуть протягом 8—20 год після зараження. На місці введення збудника волосяний покрив знімається, шкіра легко відокремлюється, підшкірний шар має червоний колір, м'язи набряклі, геморагічно інфільтровані, містять пухирці газу. В грудній та черевній порожнинах — значна кількість рідини. В мазках з серозних покривів поверхні печінки виявляють ниткоподібні клітини збудника.

Антигенна структура. У *Cl. septicum* виявляють соматичний (O) та джгутиковий (H) антигени. За характеристикою останнього розрізняють шість серологічних варіантів збудника.

Cl. perfringens (*Cl. welchii*) виділений у 1892 р. Уелчем та Неттолом. Надзвичайно поширений. Входить до складу мікрофлори шлунково-кишкового тракту, звідки, виділяючись, контамінує різні об'єкти зовнішнього середовища. Майже постійно виділяється з ґрунту, особливо з гумусу.

Морфологія. *Cl. perfringens* — поліморфна паличка довжиною 4—8 мкм діаметром 0,6—1,5 мкм. Зустрічаються кокоподібні та ниткоподібні форми. В організмі, а також на збагачених білком

середовищах утворює капсулу. В процесі тривалого культивування на середовищах з дефіцитом білка здатність до капсулоутворення втрачається. Збудник утворює овальні субтермінально розміщені спори.

Cl. perfringens добре фарбується аніліновими фарбами. В препаратах з молодій культури — грампозитивний, з старої грамнегативний.

Культуральні властивості. *Cl. perfringens* — анаероб, але лабораторні штами можуть рости в мікроаерофільних і навіть в аеробних умовах.

На кров'яному агарі збудник формує дрібні (2—4 мм), спочатку мутні або сірувато-білі, а пізніше зеленкуваті колонії, навколо яких спостерігається зона гемолізу. Колонії неоднотипні: гладенькі (S-форма), шорсткі (R-форма) та слизисті (M-форма). Колонії S-форми майже правильної круглої форми з рівними краями та гладенькою поверхнею. Колонії R-форми мають шорстку поверхню, порізані краї інколи з ниткоподібними відростками. Колонії M-форми округлі, з куполоподібним рельєфом, слизистою консистенцією. Зустрічаються також і колонії змішаного (0-форми) варіанта. В препаратах, зроблених з S-форми колоній, збудник має вигляд коротких безкапсульних клітин, з колоній R-форми — ниткоподібний або у вигляді ланцюгів з паличкоподібних клітин, в препаратах з M-форми колоній — виявляють капсульні клітини.

В середовищі Кіта—Тароці *Cl. perfringens* спричиняє помутніння та газоутворення. Через 3—5 діб середовище стає прозорим, а на дні пробірки з'являється значна кількість білуватого осаду. Відчувається запах масляної кислоти.

При культивуванні збудника на мозковому середовищі колір

останнього не змінюється.

Біохімічні властивості. *C. perfringens* ферментує з утворенням кислоти та газу глюкозу, лактозу, галактозу, сахарозу та мальтозу. Характеризується незначними протеолітичними властивостями: повільно розріджує желатину, коагульовану сироватку крові, білок курячого яйця. Індол, за деяким винятком, не утворює. Молоко не пептонізує. Протеолітична активність збудника сероваріанта А порівняно з іншими сероваріантами дещо вища. Желатину, наприклад, він розріджує за 24 год.

Антигенна структура. *C. perfringens* має шість антигенних сероваріантів: А, В, С, D, Е та F. Диференціація на сероваріанти пов'язана з антигенною характеристикою токсинів збудника і здійснюють її за допомогою реакції нейтралізації. Кожний сероваріант продукує специфічний екзотоксин, який нейтралізується лише гомологічною сироваткою.

Сероваріант А *C. perfringens* (*C. welchii*) —збудник злоякісного набряку в людини та тварин. Він спричиняє ентеротоксемію у телят і свиней, некротичний мастит у овець, кіз та корів, харчову токсикоінфекцію у людини. Продукує альфа-, бета- та каппа-токсини.

Сероваріант В *C. perfringens* (*Lambdysenteribacillus*) зумовлює анаеробну дизентерію (некротичний ентерит) у ягнят, козенят, телят, поросят, лошат і курчат. Продукує альфа-, бета- епсилон-токсини, протеїназу та гіалуронідазу.

Сероваріант С *C. perfringens* (*Bac. paludis*) виділяє α та β -токсини. Викликає геморагічну ентеротоксемію у овець, зрідка у телят, поросят, кіз та верблюдів. Сероваріант D *C. perfringens* (*Bac. ovitoxicus*) продукує α та ϵ -токсини. Викликає ентеротоксемію у овець («м'яка нирка»), «трав'яну хворобу» у коней. Сероваріант Е *C.*

perfringens продукує альфа- та йота-токсини, колагеназу та протеїназу. Виділяють від хворих на ентеротоксемію телят та ягнят. Сероваріант F CI. perfringens (Bac. enterotoxicus) виділяє альфа- та бета-токсини. Викликає некротичний ентерит у людини.

Резистентність. Вегетативні клітини нестійкі. Спори можуть витримувати кип'ятіння до 3 год.

Патогенність. CI. perfringens може викликати захворювання у різних видів тварин, людини. Характеристика викликаного ними процесу у значній мірі пов'язана з серологічним варіантом та особливостями штаму збудника. До експериментального зараження надзвичайно чутливі голуби, морські свинки, більш резистентні кролі, білі миші, щурі.

При внутрішньом'язовому або підшкірному введенні збудника морська свинка гине через 12—24 год. При розтині трупів на місці введення виявляють набряк, розплавлення тканини, скупчення газу. При зараженні інших видів лабораторних тварин ознаки подібні описаним вище.

Збудник виробляє не менше 15 факторів патогенності, що входять до складу його екзотоксину. Основним серед них вважається α -токсин -фосфоліпаза (лецитиназа C). Він характеризується летальною, некротизуючою, гемолітичною та цитопатогенною дією. (З-токсин — летальний некротизуючий фактор; гамма-токсин — також летальний фактор; дельта-токсин—летальний гемолітичний фактор; епсилон-токсин — летальний некротизуючий протоксин, що активується трипсином; тета-токсин—гемолізін з незначно вираженими летальними та некротизуючими властивостями; йота-токсин—летальний некротизуючий протоксин, що активізується трипсином; каппа-токсин — колагеназа; лямбда-токсин — желатиназа; мі-токсин

— гіалуронідаза; ні-токсин—дезоксирибонуклеаза. Виявляють також нейрамінідазу, плазмокоагулазу та фібринолізин.

Швидко розмножуючись в організмі, *СІ. perfringens* виділяє описані вище фактори патогенності, які зумовлюють швидкий розпад тканини. Колагеназа і гіалуронідаза руйнують сполучну тканину, лецитиназа- С —лецитин мембран м'язових волокон, фактори з гемолітичною та некротизуючою характеристиками зумовлюють відповідні дії. В результаті комплексної дії факторів патогенності збудника швидко розвиваються явища, що призводять до смерті тварини.

СІ. повуї виділений Нові в 1883 р. з трупа морської свинки.

Морфологія. *СІ. повуї* — порівняно велика, довжиною 4—8 мкм, діаметром 1—1,5 мкм поліморфна паличка. Капсул не синтезує. Утворює спори круглої чи овальної форми, розміщені субтермінально. Перитрих, рухлива у молодих культурах. Грампозитивна у молодих та грамнегативна у старих культурах.

Культуральні властивості. *СІ. повуї* — облігатний анаероб. Оптимальна для його розвитку температура 37 °С,— рН — 7,8.

На кров'яному агарі утворює сірого відтінку шорсткі з випуклим центром колонії діаметром 3—8 мм. Краї колоній нерівні, порізані. Навколо них утворюється зона β-гемолізу.

В середовищі Кіта—Тароці збудник викликає інтенсивне помутніння, незначне газоутворення. Через кілька днів середовище світлішає, на шматочках печінки з'являється осад. Колір мозкового середовища *СІ. повуї* не змінює.

Біохімічні властивості. Серовари А, В, С ферментують глюкозу, фруктозу та мальтозу, сероваріант D — лише глюкозу. Всі серологічні варіанти збудника ферментують гліцерин.

Протеолітична активність збудника також незначна. Желатину він розріджує повільно, індолу та сірководню не утворює, молоко не пеп-тонізує. Біохімічні властивості *СІ. повуї* нестабільні, залежать від штаму збудника.

Антигенна структура. За характеристикою розчинних антигенів розрізняють чотири серологічні варіанти *СІ. повуї*: А, В, С та D. Серовар А (*СІ. oedematicus*) —збудник злоякісного набряку у людини» та тварин. Його виявляють також при браздоті овець. Продукує альфа-, гамма- та дельта-токсини. Серовар В (*СІ. gigas*) — збудник інфекційного некротичного ентериту овець. Викликає злоякісний набряк у людини, травоядних тварин, у великої рогатої худоби та свиней - некротичний гепатит. Екскретує альфа- та бета-токсини. Серовар С (*СІ. bubalosum*) продукує гамма-токсин. Спричиняє хронічний остеомієліт у буйволів. Серовар D (*СІ. haemolyticum*) синтезує бета-, ета- та тета-токсини. Викликає інфекційну ентеротоксемію у великої рогатої худоби, інколи у овець та свиней.

Резистентність. Вегетативна форма *СІ. повуї* нестійка. Спори, навпаки, надзвичайно резистентні. Вони витримують кип'ятіння протягом 2 год, можуть виживати в ґрунті до 10 років.

Патогенність. *СІ. повуї* патогенна для коней та інших непарнокопитних тварин, великої рогатої худоби, овець, кіз; свиней, диких ссавців, птахів, китів, черепах. Із лабораторних тварин надзвичайно чутливі морські свинки. При підшкірному введенні культури морським свинкам на місці введення матеріалу спостерігається желеподібний набряк. На розтині — незначні зміни тканини м'язів, яка бліда або ледь гіперемійована.

Комплекс факторів вірулентності визначається серологічним

варіантом збудника.

Cl. histolyticum — виділений у 1916 р. Вейнбергом і Сегеном з вмісту рани при газовій гангрені у людини. Цей мікроорганізм є представником нормальної мікрофлори тваринного організму. Він зрідка входить до складу мікроорганізмів, що зумовлюють злоякісний набряк. Відомі також поодинокі випадки, коли *Cl. histolyticum* викликав це захворювання самостійно.

Морфологія. Порівнюючи з іншими патогенними анаеробами *Cl. histolyticum* досить маленька паличка, довжиною 3—5 мкм та діаметром в межах 0,2—0,5 мкм. Капсулу не утворює. Спори овальні, розміщені центрально або субтермінально, рухлива. Перитрих. Грампозитивна лише у молодій культурі.

Культуральні властивості. Анаероб, але може рости в мікроаерофільних і навіть в аеробних умовах.

На кров'яному агарі утворює дрібні, 0,5—1 мм діаметром, прозорі S-форми колонії. Навколо них зрідка спостерігається зона гемолізу. Згодом колонії можуть втрачати прозорість, стають сіруватобілими або матово-білими з нерівними краями.

В середовищі Кіта — Тароці ріст *Cl. histolyticum* проявляється рівномірним помутнінням середовища, газоутворення не спостерігається. Пізніше воно стає прозорим, а на дні пробірки виявляється осад.

Мозкове середовище при рості *Cl. histolyticum* поступово стає чорним.

Біохімічні властивості. Цукри не ферментує. Лише окремі штами здатні розкласти глюкозу, проте загальноприйнятими методами (зокрема, за допомогою середовища Гіса) встановити цього не вдається. Збудник має виражені протеолітичні властивості:

розріджує желатину, коагульовану сироватку крові, білок яйця, пептонізує молоко.

Сірководень утворює, індол не виявляється.

Антигенна структура. Антигенна структура *CI. histolyticum* складна. За допомогою реакції нейтралізації вдається диференціювати екзотоксини (гамма, бета та дельта) збудника, оскільки вони мають специфічну антигенну характеристику і здатні індукувати відповідні антитіла.

Резистентність. Вегетативні клітини малостійкі. Спори можуть витримувати кип'ятіння до 1 год.

Патогенність. *CI. histolyticum* утворює складний токсин, що включає п'ять компонентів: альфа-токсин — летальний, уражує центральну нервову систему, бета-токсин—фермент колагеназа, гамма-токсин — фермент протеїназа, дельта-токсин — фермент еластаза та епсилон-токсин — гемолізін.

Факторами вірулентності у *CI. histolyticum* є також фермент дезоксирибонуклеаза та протеолітичні ферменти. Збудник патогенний для тварин і людини. Захворювання, викликане *CI. histolyticum*,—самостійно або в асоціації з іншими анаеробами, має надзвичайно тяжкий перебіг. До речі, й назва збудника свідчить про це (*Histolyticum* — грецьке — розчиняючий тканини).

Серед лабораторних тварин до *CI. histolyticum* надзвичайно чутливі морські свинки. При внутрішньом'язовому введенні їм 0,5—1 мл свіжої культури на місці введення спостерігається припухлість, почервоніння, утворюється спочатку виразка, потім — розплавлення м'язів аж до кістки. Тварина гине протягом 18—28 год.

CI. sordellii (*CI. oedematies*) виділена Сорделі, в 1922 р. від хворої на газову гангрену людини.

Морфологія. *C. sordellii* — поліморфна паличка довжиною 3— 8 мкм і діаметром 1,2—1,5 мкм. Капсули не утворює. Спори овальної форми, розміщені центральне або субтермінально. Рухлива в молодих культурах. Перитрих. За Грамом фарбується позитивно.

Культуральні властивості. *C. sordellii* — облігатний анаероб. На кров'яному агарі утворює сірвато-білого кольору неправильної форми з шорсткою поверхнею колонії. Навколо них спостерігається вузька зона гемолізу.

В середовищі Кіта-Тароці викликає значне його помутніння та газоутворення. У старих культурах виявляють ниткоподібний слиз. Відчувається неприємний гнильний запах.

Біохімічні властивості. *C. sordellii* ферментує глюкозу, мальтозу, фруктозу; лактозу та цукрозу не змінює. Має виражену протеолітичну активність. Розріджує желатину та коагульовану кров'яну сироватку, пептон гідролізує молоко, утворює сірководень. Індол не виявляють.

Патогенність. *C. sordellii* спричиняє захворювання у сільсько-господарських та інших видів тварин. Виділяють її від великої рогатої худоби при анаеробній гемоглобінурії, ентеротоксемії, а також бразоті і ентеротоксемії овець.

Факторами вірулентності *C. sordellii* є екзотоксин, який характеризується летальною та некротичною дією, лецитиназа С, здатна гемолізувати еритроцити крові і в меншій мірі кроля, а також гіалуронідаза, фібринолізин та уреаза.

При штучному зараженні лабораторних тварин (введення бульйонної культури підшкірне або внутрішньом'язово) спостерігається їх загибель приблизно через 24 год. На місці введення матеріалу спостерігається желатиноподібний набряк, нерідко з пухирцями газу.

Патогенез зловиякісного набряку. Розмножуючись у місці проникнення, збудник виділяє токсин та інші фактори вірулентності. Це сприяє пригніченню захисних реакцій і швидкому поширенню збудника по організму. Велике значення при цьому має стан тканини, куди вперше потрапив збудник. Розвитку патологічного процесу сприяє наявність некротизованих, пошкоджених тканин, а також умови анаеробіозу. Останній забезпечується, зокрема, розмноженням аеробних мікроорганізмів, які поглинають кисень. **У розвитку зловиякісного набряку розрізняють інфекційну та токсичну фази.** Такий поділ є досить умовним, оскільки токсини та інші фактори вірулентності нагромаджуються паралельно розмноженню збудника.

Надзвичайно сприятливим середовищем для розмноження патогенних анаеробів є багата на глікоген м'язова тканина. На початку захворювання спостерігається набрякання, а пізніше — розпад м'язів і сполучної тканини. Патогенна дія мікробних токсинів доповнюється дією компонентів, що утворюються внаслідок розпаду тканин. Виникає сильна інтоксикація.

Характер патологічного процесу у значній мірі залежить від характеристики асоціантів. Встановлений потенційований характер дії токсинів різних видів патогенних анаеробів. Так, введення токсинів *Cl. bubalosum* та *Cl. haemolyticum* в одне й те ж місце одночасно супроводжується більш вираженою патогенною дією ніж введення їх у різні місця.

Велике значення у розвитку захворювання мають резистентність організму тварини, характер рани, кількісна та якісна характеристика мікроорганізмів, що потрапили в рану.

Інкубаційний період може бути від кількох годин до кількох діб. Тварина стає пригніченою. Пульс прискорюється. Дихання

затруднюється. Температура тіла частіше підвищується. При дослідженні місця поранення виявляють припухлість. З рани часто витікає піниста рідина жовтуватого чи коричнево-червоного кольору. При натисканні на набряклі тканини нерідко відчувається крепітація. Спочатку гаряча й болюча припухлість невдовзі стає холодною і малочутливою.

У корів злякисний набряк порівняно часто, крім поранень, може спостерігатися після ускладнених отелень, абортів, затримання посліду. У таких випадках спостерігається опухання соромітних губ, почервоніння слизової оболонки вагіни, смердючі виділення.

Хвороба триває 1—4 доби. При розтині трупів спостерігаються значні зміни в місці первинного проникнення збудника. Тканини просочені інфільтратом. При розрізі їх витікає серозна чи серозно-геморагічна рідина. Уражені м'язи дряблі, темно-бурого або, навпаки, блідо-сірого кольору. При наявності *CI. histolyticum* спостерігається глибокий розпад усіх тканин, навіть кісткової.

Діагностика. Лабораторна діагностика злякисного набряку ґрунтується на результатах бактеріологічного і біологічного досліджень.

У лабораторію надсилають шматочки уражених м'язів, внутрішніх органів, ексудат. Від трупів овець, крім зазначених, надсилають частину сичуга та тонкого відділу кишечника з вмістом для диференціації браздоту й ентеротоксемії.

Мазки фарбують за Грамом і Муромцевим. Наявність великої кількості грампозитивних бактерій свідчить лише про можливість клостридійної інфекції, остаточний висновок можна зробити лише після виділення збудників та визначення їх токсинів.

Виділення збудника здійснюють на середовищах Кіта—Тароці,

кров'яному агарі з глюкозою. Якщо матеріал несвіжий, його перед посівом прогрівають 15—20 хв при температурі 80 °С, щоб знищити вегетативні форми бактерій. Посіви інкубують в анаеробних умовах протягом 24—48 год, вивчають культуральні властивості, мікроскопують. При необхідності досліджують біохімічні властивості. Здатність ферментувати вуглеводи та багатоатомні спирти визначають на напіврідкому агарі з відповідними компонентами та індикатором. Протеолітичні властивості оцінюють посівом на молоко, желатину, мозкове середовище, коагульовану сироватку.

Біопробу ставлять на морських свинках. Суспензію з патологічного матеріалу в дозі 0,5 мл вводять підшкірно в ділянці м'язів черева двом тваринам. Спостереження ведуть протягом 18 діб. При наявності збудників свинки гинуть через 16—48 год. Вивчають патолого-анатомічні зміни, мікроскопують мазки-відбитки з уражених місць, внутрішніх органів, діафрагмальної поверхні печінки.

Ідентифікацію збудників здійснюють вивченням культуральних, морфологічних, тинкторіальних, біохімічних та антигенних властивостей ізольованих мікроорганізмів. Ставлять реакцію нейтралізації із стандартними діагностичними сироватками. З цією метою спочатку одержують збудники у чистій культурі, вирощують їх у рідкому середовищі, центрифугуванням звільняють від бактеріальної маси. Надосадову рідину (токсин) вводять білим мишам по 0,2 мл в черевну порожнину або внутрішньовенне. Біопробу можна ставити також на морських свинках. Матеріал у дозі 0,1 мл їм вводять внутрішньошкірно. Якщо білі миші гинуть, а у морських свинок на місці введення матеріалу з'являється некроз шкіри, ставлять реакцію нейтралізації. Для цього токсин змішують з різними видоспецифічними сироватками. Суміш витримують протягом 40 хв при

37 °C і вводять по 0,5 мл внутрішньовенне білим мишам (по дві тварини на кожну пробу) або по 0,2 мл внутрішньошкірно морським свинкам. Результат враховують спочатку через 5—6 год, а кінцевий — через 72 год. Сироватка може нейтралізувати лише гомологічний антиген (відповідного збудника), решта — викликають у тварин описані вище явища.

Імунітет. Імунітет при злоякісному набряку антитоксичний. З метою штучної імунізації використовують полівалентну антитоксичну сироватку у поєднанні з антибіотиками широкого спектру дії. Ці заходи проводять лише в стаціонарно неблагополучних пунктах перед масовими обробками тварин, пов'язаними з можливим їх травмуванням.

ПАТОГЕННІ АНАЕРОБИ

План

1. Група патогенних анаеробів
2. Збудник емфізематозного карбункула
3. Збудник правця
4. Збудник бродзоту
5. Збудник інфекційної анаеробної ентеротоксемії тварин
6. Збудник некробактеріозу

1

Серед анаеробів є види, що можуть спричиняти захворювання у людини та тварин. Вони об'єднані в так звану групу патогенних анаеробів, до складу якої входять представники роду клостридій — *Clostridium* та роду фузобактерій — *Fusobacterium*. Перші належать до Групи 18 «Грампозитивні палички і коки, утворюючі спори», останні - до Групи 6 «Грамнегативні, анаеробні, прямі, зігнуті і спіральні бактерії» (Берджи, 1997).

Рід клостридій належить до родини *Bacillaceae*. Він об'єднує близько сотні видів, в основному сапрофітних. Природним резервуаром цих мікроорганізмів є ґрунт. Чимало з них можуть існувати в шлунково-кишковому тракті людини та тварин. Деякі види, що характеризуються факторами вірулентності, за певних умов можуть викликати захворювання.

Клостридії подібні між собою морфологією та рядом інших властивостей. Це досить великі, переважно рухливі, грампозитивні у молодих та грамнегативні у старих культурах спороутворюючі палички. Спори помітно перевищують діаметр мікробної клітини. Розміщені вони в центрі клітини, термінально або субтермінально, що залежить насамперед від виду. Нерідко спостерігаються веретеноподібні клітини. Останнє зумовило найменування роду (*Clostridium* — маленьке веретено).

Патогенні клостридії характеризуються активними ферментативними властивостями, токсиноутворенням.

Еволюція клостридій призвела до надзвичайної життєздатності їх у різноманітних умовах. Наявність відповідних ферментних систем, здатність утворювати спори дають змогу цим мікроорганізмам існувати в ґрунті, шлунково-кишковому тракті макроорганізмів, виявляю-

чи при цьому надзвичайну резистентність проти будь-яких негативних факторів.

Патогенні анаероби є збудниками стовбняка, ботулізму, злукісного набряку, бродзоту та інших захворювань. Особливістю патогенної характеристики патогенних анаеробів є те, що у них поєднуються надзвичайно низька інвазивність та виражена агресивність. Останнє стало підставою для віднесення деяких клостридіозів (стовбняк, ботулізм) до токсикоінфекцій.

На відміну від клостридій, представник роду фузарій — збудник некробактеріозу грамнегативний, спор не утворює, нерухливий, надзвичайно поліморфний мікроорганізм.

2

Збудник емфізематозного карбункула (*Cl. chauvoei*)

Емфізематозний карбункул (емкар) — гостре неконтагіозне захворювання переважно великої рогатої худоби. Характеризується утворенням крепітуючих набряків у місцях, багатих на м'язову тканину, високою летальністю. Захворювання реєструють на території усіх країн,

Збудник — *Cl. chauvoei* відкритий Фезером в 1876 р. У чистій культурі вперше одержаний Ру (1887), а дещо пізніше Кітазато (1889).

Морфологія. *Cl. chauvoei* — пряма або злегка зігнута паличка із заокругленими кінцями, довжиною 2—8 мкм та 0,6—1 мкм — в діаметрі, поліморфна. В мазках з патологічного матеріалу чи культури виявляють веретено-, грушо- та лимоноподібні, а інколи й кулясті форми *Cl. chauvoei*. Збудник рухливий. Капсули не утворює. Спороутворення спостерігається як в ураженому організмі, так і в зовнішньому середовищі. Спори розміщені центральне або субтермінально.

Аніліновими фарбниками фарбується добре, в молодих культурах

— за Грамом позитивно, в старих — негативно.

Культуральні властивості. *СІ. chauvoui*— сировий анаероб. Оптимальна для розвитку температура 36—38 °С, рН середовища — 7,2—7,4. На простих живильних середовищах не росте. Культивують його на середовищі Кіта—Тароці, глюкозо-кров'яному агарі Цейслера, мозковому середовищі.

При рості збудника на середовищі Кіта—Тароці спочатку спостерігається помутніння бульйону, який через 20—24 години поступово просвітлюється і через 2—3 доби стає повністю прозорим. На дні пробірки виявляють пухкий білуватий осад. Спостерігається незначне газоутворення.

На глюкозо-кров'яному агарі Цейслера збудник утворює круглі (форми перламутрового гудзика) або форми виноградного листя плескати синьо-фіолетового кольору колонії. Навколо колоній виявляють невелику зону β -гемолізу.

Ріст на мозковому середовищі супроводжується газоутворенням, зміщенням рН у кислий бік та незначним його почервонінням через кілька діб.

Біохімічні властивості. *СІ. chauvoui* має протеолітичні ферменти, що зумовлює повільне розрідження желатини, яєчного білка та сироватки крові, що зілася. Більшість штамів утворюють сірководень, індол не виявляється. Нітрати не редукує, ферментує з утворенням кислоти і газу глюкозу, галактозу, цукрозу, лактозу, мальтозу. Гліцерин, маніт, саліцин та інουλін не змінює.

Антигенна структура. Збудник містить термостабільний соматичний (О) та термолабільний джгутиковий (Н) антигени. Антигенної варіабельності не виявлено. Деякі відмінності Н-антигену спостерігаються у штамів, ізольованих від великої рогатої худоби і овець.

Крім О- та Н-антигенів збудник містить також споровий S-антиген. Останній має антигенну спорідненість з *СІ. septicum*.

Резистентність. Вегетативні форми збудника нестійкі. Спори, навпаки, - надзвичайно резистентні. В ґрунті вони зберігаються десятки років і, при наявності необхідних умов, можуть проростати у вегетативні клітини. До 3 міс. збудник виживає у трупах, до 6 міс. — у гною, більше двох років — у солонині.

Під дією прямих сонячних променів він гине протягом 24 годин, при кип'ятінні

— за 2 год. Під дією 3 %-го розчину формальдегіду збудник гине за 10—15 хв. Досить стійкий проти гідроксиду натрію, 6 %-ний розчин останнього вбиває його лише за 6—7 діб.

Патогенність. У природних умовах хворіє переважно велика рогата худоба, рідше — вівці. Зустрічаються поодинокі випадки захворювання серед кіз, буйволів, оленів, лосів. Верблюдів і свиней вдається заразити в експериментальних умовах. Люди не хворіють.

Серед лабораторних тварин найбільш чутливі морські свинки. Щурі й білі миші малосприйнятливі. Кролі досить резистентні, проте їх можна заразити при одночасному застосуванні інших мікроорганізмів, зокрема сінної палички, а також при введенні молочної кислоти або хлориду кальцію.

Факторами патогенності *СІ. chauvovae* є його токсини та ферменти. Збудник синтезує екзотоксин, який характеризується гемотоксичною та некротизуючою активністю. Частина компонентів токсину *СІ. chauvovae* аналогічна летальній та некротизуючій фракціям токсину *СІ. septicum*.

Важливими факторами патогенності у *СІ. chauvovae* є ферменти дезоксирибонуклеаза (фактор бета), гіалуронідаза (фактор гамма), а також киснелабільний гемолізін.

Збудник проникає в організм аліментарним шляхом, через пошкоджені зовнішні покриви, інколи аерогенно. Потрапивши у кров'яне русло, збудник розноситься по всьому організму, зокрема попадає в багаті м'язами його ділянки. Надзвичайно сприятливими умовами для його розмноження є місця пошкодженої м'язової тканини (гематоми, вогнища некрозу та ін.). Інтенсивному розмноженню збудника сприяє велика кількість глікогену в м'язовій тканині. Характерні для нього фактори патогенності зумовлюють запалення. Пригнічується фагоцитоз, руйнуються судини, некротизується тканина. Токсини збудника та продукти розпаду ураженої тканини призводять до загальної реакції з боку організму. Підвищується температура тіла, порушуються робота серця, органів дихання, функція печінки. Тварина швидко гине.

Захворювання може мати надгострий та гострий перебіг. В останньому випадку

температура тіла підвищується до 41—42 °С. У місцях, багатих на мускулатуру (стегно, круп, шия, груди, між щелепами), інколи в ділянці глотки з'являються припухлості. Спочатку вони тверді, гарячі й болючі, пізніше стають холодними і нечутливими. При пальпації припухлостей (карбункулів) відчувається крепітація, при перкусії — тимпанічний звук. Шкіра в місцях припухлості темно-червона. Швидко розвиваються ознаки інтоксикації організму, й тварина гине протягом 1—2, інколи — 3—10 діб.

Зрідка спостерігаються випадки, коли захворювання не супроводжується появою характерних припухлостей. Характерними патологоанатомічними ознаками при емфізематозному карбункулі є надзвичайне здуття газами, витікання з природних отворів кров'янистої пінистої рідини, наявність геморагічно запалених ділянок м'язів. Останні темно-червоного кольору, пронизані пухирцями газу, мають запах прогірклого масла. Регіональні лімфатичні вузли збільшені, на розрізі темно-червоного кольору, з вогнищами крововиливів. Кров зсілася. В грудній та черевній порожнинах — каламутна рідина. Селезінка набрякла, консистенція її дрябла. Однак слід пам'ятати, що трупи в разі підозри на захворювання емфізематозним карбункулом, розтинати заборонено.

Діагностика. Лабораторна діагностика ґрунтується на результатах бактеріологічного та біологічного досліджень. В лабораторію надсилають шматочки уражених м'язів, ексудат з набряків, кров. Матеріал слід відбирати не пізніше 4 год після загибелі тварини. Якщо труп тварини випадково піддали розтину (розтин трупів при підозрі, що тварина загинула від емфізематозного карбункулу, заборонений), надсилають також шматочки внутрішніх органів. Мазки-відбитки фарбують за Грамом, методом Муромцева і мікроскопують. Результати мікроскопічного дослідження мають лише орієнтовне значення.

Виділення чистої культури збудника потребує попереднього видалення із досліджуваного матеріалу сторонніх мікроорганізмів. З цією метою матеріал прогрівають при 80 °С протягом 15 хв. За таких умов гинуть вегетативні клітини, спори ж виживають. Можна скористатися також селективним живильним середовищем з фенолом, кристал-віолетом чи азидом натрію.

Матеріал висівають на середовище Кіта—Тароці, в МПБ, на МПА, глюкозо-кров'яний агар. Інкубацію здійснюють протягом 24—48 год. З середовища Кіта—Тароці здійснюють періодичні пересіви на кров'яний агар. На основі вивчення культуральних властивостей роблять попередній висновок щодо наявності збудника. Для остаточної його ідентифікації вивчають біохімічні властивості, патогенність.

Біологічне дослідження. Біологічну пробу ставлять на морських свинках. Матеріал — суспензію з паренхіматозних органів або сві- жовиділену культуру, вводять у ділянці черева підшкірно, в дозі 0,5— 1 мл. За тваринами спостерігають до 10 діб. При наявності збудника емкару вони гинуть протягом 16—48 год з характерними патолого- анатомічними ознаками. На місці введення матеріалу спостерігається кров'янистий ексудат, крововиливи. Шкіра погано відокремлюється від м'язів. Підшкірна клітковина набрякла, геморагічно інфільтрована, м'язи темно-червоного кольору, сухі. Газоутворення буває не завжди. В мазках-відбитках з поверхні печінки збудник має вигляд паличок, розміщених поодиноку, по дві.

Збудника емфізематозного карбункула необхідно диференціювати від *Bac. anthracis*, *Cl. septicum*. Роблять це на основі вивчення культуральних та біохімічних властивостей виділеної культури. З цією ж метою використовують і специфічні сироватки: ставлять реакцію аглютинації або нейтралізації.

Для експрес-діагностики захворювання запропонована РІФ.

Імунітет. Тварини, які перехворіли, набувають стійкого тривалого імунітету. За своєю природою імунітет при емфізематозному карбункулі антитоксичний та антибактеріальний.

Для створення штучного імунітету запропоновано ряд біологічних препаратів. Перші вакцини являли собою висушені при

37 °С компоненти з уражених м'язів тварин, які загинули від емфізематозного карбункулу. Однак препарати виявилися досить реактогенними. Пізніше стали виготовляти культуральні вакцини (Леклоні, Валле, 1928; Муромцев С. Н., 1929), Ф. І. Каган та А. І. Колесова (1958) запропонували концентровану гідроксидалюмінієву формалвакцину проти емфізематозного карбункула великої рогатої худоби й овець. Вакцину вводять внутрішньом'язово в дозі 2 мл, незалежно

від віку тварини. Імунітет настає через 12—14 діб і триває 5—6 міс. На біофабриках України готують «Формолвакцину проти емфізематозного карбункула великої рогатої худоби і овець». Вакцинний штам збудника інактивований формаліном, антиген сконцентрований шляхом осадження за допомогою гідроксиду окису алюмінію. Препарат застосовують для імунізації великої рогатої худоби з 4-х, а овець – з 6-ти місячного віку. Імунітет формується на 14 добу і триває до 6 місяців.

Запропоновано також живу вакцину на основі високоімуногенного штаму 2/14. Цей штам протягом 44 років підтримували на штучних живильних середовищах і він втратив вірулентність, зберігши імуногенні властивості. Жива вакцина, виготовлена на основі штаму 2/14, значно перевершує за імуногенністю концентровану гідроксидалюмінієву формолвакцину і, що особливо важливо, зумовлює імунітет тривалістю 12 міс і більше.

З профілактичною та лікувальною метою зрідка застосовують специфічну сироватку, одержану шляхом гіперімунізації телят або лоша́т.

Для лікування застосовують антибіотики тетрациклінового ряду.

3

Збудник правця (*Cl. tetani*)

Стовбняк (Tetanus)— гостра ранова неконтагіозна інфекція людини та тварин. Характеризується підвищеною рефлекторною збудливістю, клонічними й тонічними скороченнями мускулатури тіла або окремих груп м'язів, високою смертністю.

Хвороба у тварин була відома ще за 2—3 тис. років до нової ери. Стовбняк у людини вперше описав Гіппократ (IV століття до н. е.), звернувши увагу на ригідність м'язів (tetani — затвердіння), звідси й латинська назва захворювання Tetanus (рис. 37).



Рис. 37. Ригідність м'язів при правцю.

Захворювання зустрічається в усіх країнах світу. Переважає спорадичний його

перебіг.

Збудник—*Cl. tetani*. Відкритий Н. Д. Монастирським (1883) та А. Ніколайєрем (1884). Чиста його культура була одержана Кітазато, (1889).

Належить до Групи 18 «Грампозитивні палички і коки, утворюючі спори» (Берджи, 1997 р.).

Морфологія. *Cl. tetani* — тоненька паличка, довжиною від 3 до 12 мкм, діаметром 0,3—0,8 мкм (рис. 38 та 39). У культурах зустрічаються також ниткоподібні клітини. Рухлива (перитрих).

Капсул не синтезує, утворює спори. Останні розміщені термінально, діаметр їх у 2—3 рази перевищує діаметр вегетативної клітини, що надає мікроорганізму характерного вигляду барабанної палички. Спороутворення може відбуватися як у зовнішньому середовищі, так і в ураженому організмі тварини, в місці розмноження збудника. В культурі спороутворення спостерігається звичайно на 2—3-тю добу культивування. Збудник добре фарбується аніліновими фарбами. В молодих культурах завжди грампозитивний, у старих — грамнегативний.

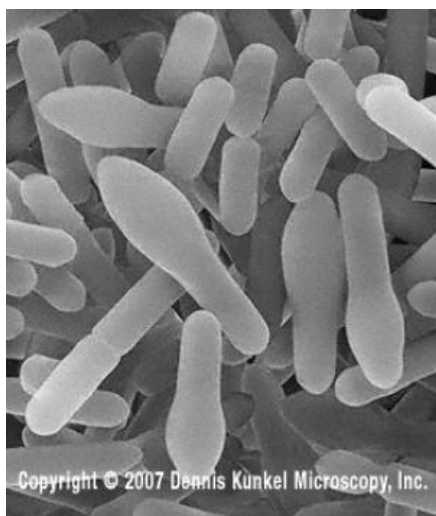


Рис. 38. Збудник правця. СЕМ. За Д. Канкель. 2007 р.

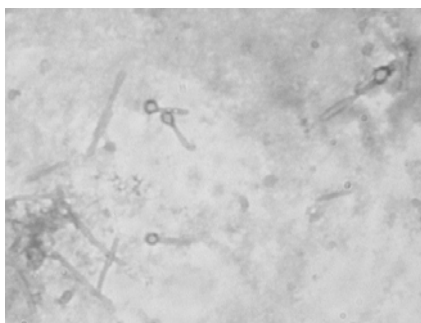


Рис. 39. Збудник правця. Світлова мікроскопія. Інтернет 2008 р.

Культуральні властивості. CI. tetani—облігатний анаероб.

Оптимальна для його розвитку температура 36—38 °C, р'Н — 7,4—

7,6. Збудник культивується на спеціальних живильних середовищах. На середовищі Кіта—Тароці зумовлює значну каламуть і незначне газоутворення. Через кілька днів середовище просвітлюється і утворюється пухкий осад. Культура має характерний запах паленого рогу.

На глюкозо-кров'яному агарі мікроорганізм утворює колонії світло-сірого кольору з помітно випуклим центром. Краї колоній з відростками. Інколи формуються дрібні колонії-росинки. Навколо колоній спостерігається ніжна зона β-гемолізу.

При посіві на МПЖ уколом, на 5—12-ту добу інкубації, спостерігається ялинкоподібний ріст та повільне розрідження желатини. При культивуванні на мозковому середовищі спостерігається незначне його почорніння.

Біохімічні властивості. Збудник стовбняка в біохімічному відношенні малоактивний. Він не змінює ні моносахариди, ні багатоанатомні спирти. Лише окремі його штами здатні ферментувати глюкозу. CI. tetani має незначно виражені протеолітичні властивості. Ферменти пероксидаза та оксидаза відсутні, що пояснює надзвичайну чутливість збудника стовбняка до атмосферного кисню.

Резистентність. У вегетативній формі збудник термолабільний гине протягом 20—30 хв при 60—70 °C, швидко інактивується під дією дезинфікуючих речовин у загальноприйнятих концентраціях. Спори ж, навпаки, надзвичайно резистентні. Більше 10 років вони залишаються життєздатними на різних об'єктах зовнішнього середовища. У запаяних ампулах, в умовах кімнатної температури, спори не гинули до 30 років.

Прямі сонячні промені вбивають спори збудника лише за 3-5 діб, кип'ятіння — протягом 30—50 хв, 10 %-ний розчин хлорного вапна - за 10 хв, 5 %-ний розчин фенолу — за 8—10 год, 5 %-ний розчин креоліну — за 5 год, 1 %-ний розчин азотнокислого срібла — за 1 хв.

Антигенна структура. Збудник стовбняка містить соматичний (O) та джгутиковий (H) антигени. Перший груповий, останній — типоспецифічний.

Спори містять лише соматичний антиген. За характеристикою джгутикового антигену розрізняють 10 серологічних варіантів збудника. У природі циркулюють переважно перші два сероваріанти. Різні серологічні варіанти продукують імунологічно однорідний екзотоксин, який нейтралізується протистовбнячною сироваткою.

Патогенність. На відміну від більшості патогенних анаеробів збудник стовбняка не має факторів інвазивності. В той же час він продукує надзвичайно сильний фактор токсичності — екзотоксин. Останній містить два компоненти: тетаноспазмін та тетанолізін. Тетаноспазмін вдалося одержати у кристалічному вигляді. Він виявився термолабільною протеазою, збудованою з 13 амінокислот. Молекулярна маса його 67000—68000Д. Токсичність термолабільного екзотоксину становить $6,6 \times 10^6$ ЛД₅₀ для білих мишей на 1 мг азоту токсину.

Екзотоксин продукується як в ураженому організмі, в місці локалізації збудника, так і на живильному середовищі. В останньому випадку його виявляють після 24-годинної інкубації, а в найвищій концентрації — на 5—7-му добу. З мікробної клітини екзотоксин виділяється секрецією, а також після її лізису. Тетаноспазмін є основним токсичним фактором. Він уражує нервові клітини, тобто характеризується нейротропністю.

У значній кількості тетанолізін виявляють у культуральній рідині вже через 20—30 год. Характеризується він гемолітичною активністю, руйнується у присутності атмосферного кисню, має загальні властивості з тета-токсинами, а також з пневмолізином пневмококів і 0-стрептолізином гемолітичних стрептококів. Співвідношення тетаноспазміну та тетанолізину у різних штамів може значно коливатися, що впливає і на характеристику зумовлюваних ними патологічних процесів в організмі уражених тварин.

Екзотоксин CI. tetani термолабільний — при 60 °C руйнується протягом 30 хв, при 65 °C — за 5 хв. Він інактивується під впливом сонячних променів, розчинів марганцевокислого калію, кислот, лугів, йоду, азотнокислого срібла. Під дією формаліну екзотоксин переходить в анатоксин, який характеризується вираженою імуногенністю.

До токсину *Cl. tetani* чутливі ссавці усіх видів. Найбільш чутливими є коні, потім вівці, кози, велика рогата худоба, свині, собаки, коти, а також люди. Більш чутливими є молоді тварини. Серед лабораторних тварин надзвичайно чутливі білі миші, морські свинки, кролі.

Крім екзотоксину, факторами патогенності збудника стовбняка є також РНК-аза та фібринолізин. РНК-аза токсична для лейкоцитів, гальмує фагоцитарну їх активність. Патогенна дія фібринолізину пояснюється, зокрема, тим, що він сприяє всмоктуванню екзотоксину.

Джерелом інфекції є переважно клінічно здорові тварини, у кишечнику яких є збудник стовбняка, де він розмножується і виділяється у зовнішнє середовище, контамінуючи різні об'єкти. Майже постійно збудник виділяється з добре угноєного ґрунту, де він тривалий час може не лише зберігатися, а й розмножуватися.

Зараження відбувається через рани (спонтанні, операційні). Особливо небезпечні щодо цього розміщені рани, із змертвілими тканинами, а також глибокі колоті. У овець захворювання інколи виникає після стриження, кастрації. Зараження тварин може відбутися також при ускладнених родах, під час введення лікарських препаратів без дотримання належних правил асептики й антисептики. При наявності відповідних умов (анаеробіоз, змертвілі тканини), збудник розмножується у місці проникнення і продукує екзотоксин. Провідну роль у розвитку патологічного процесу відіграє тетаноспазмін. По осьових циліндрах або периневральним шляхом та частково гематогенним він досягає гангліїв спинного мозку й уражує нервові клітини. Це зумовлює підвищену рефлекторну збудливість, що й призводить до спастичного скорочення м'язів. Безпосередньою причиною цього явища є нагромадження клітинами ацетилхоліну у зв'язку з дефіцитом ферменту холінестерази, зумовленого токсином збудника.

В результаті тонічного скорочення окремих груп м'язів виникають тонічні судороги. Процес поглиблюється дією інших факторів патогенності. Затрудняється дихання, робота серця, настає гіпоксія, розвивається респіраторний і метаболічний ацидоз і тварина гине внаслідок паралічу органів дихання та зупинки серця.

Клінічні ознаки стовбняка настільки своєрідні, що дають змогу легко

розпізнати захворювання ще до проведення лабораторних досліджень. Після певного інкубаційного періоду, який може тривати від 3—4 діб до 3—4 міс, спостерігається настороженість, виражена напруженість при руху тварини, жуйці, ковтанні. Незабаром з'являються судороги окремих груп м'язів. Хворі коні, наприклад, стоять з широко розставленими кінцівками. Ніздрі у них роздуті, дихання напружене, рот міцно закритий, мускули тверді, слизові оболонки ціанотичні. Температура в межах фізіологічної норми. На початку захворювання апетит збережений, проте тварина не може ковтати корм. Спостерігається надзвичайна чутливість до будь-яких подразників зовнішнього середовища (звук, доторкання, зміна освітлення та ін.). У таких випадках різко збільшуються судороги. Якщо хворих не лікувати, вони гинуть протягом 6—8 днів. У інших видів тварин ознаки подібні, хоч і спостерігаються інколи певні особливості. Так, у овець та кіз досить часто реєструють опістотонус — хворі лежать з відкинутою назад головою.

При розтині трупів на серозних та слизових оболонках виявляють смугасті крововиливи, набряк легень, інколи ознаки пневмонії.

Діагностика. Лабораторна діагностика ґрунтується на виявленні екзотоксину та виділенні збудника з наступною характеристикою його токсигенності.

У лабораторію надсилають шматочки тканини, взятої з глибини рани, гній, тампони, бинти та інші матеріали, які торкалися до рани. Від трупів — шматочки печінки, селезінки, кров. Якщо стовбняк виник після родів або аборту, направляють виділення з піхви та матки, абортований плід.

Спочатку здійснюють мікроскопічне дослідження. З патологічного матеріалу готують мазки, фарбують їх за методом Грама і мікроскопують. Виявлення типових грампозитивних паличок дає змогу лише запідозрити наявність збудника стовбняка. В природі циркулюють ряд інших надзвичайно подібних за морфологією до *C. tetani* мікроорганізмів.

Культуру збудника одержують, здійснюючи посів матеріалу на середовище Кіта-Тароці з наступним пересівом на глюкозо-крово-яний агар. Перед посівом досліджуваний матеріал прогрівають протягом 20 хв при 80 °С або 2—3 хв при 100

°C з тим, щоб позбутися сторонньої неспороутворюючої мікрофлори. Призначену для виявлення екзотоксину культуру вирощують протягом 6—10 діб.

Наявність екзотоксину в культурі чи безпосередньо у патологічному матеріалі визначають за допомогою біологічної проби. Патологічний матеріал спочатку подрібнюють і ретельно розтирають у ступці, додавши перед цим стерильний пісок. Одержану масу суспендують у подвійній кількості фізіологічного розчину, витримують 60 хв при кімнатній температурі, фільтрують через ватно- марлевий фільтр і вводять внутрішньом'язово двом білим мишам у дозі 0,5—1 мл або морським свинкам масою 300—350 г в дозі 3—5 мл у тазову кінцівку.

Для виявлення токсину в культурі її спочатку звільняють від бацил та їх спор фільтруванням через бактеріальні фільтри або центрифугуванням. Одержану рідину ін'єктують за аналогічною методикою таким же тваринам.

За зараженими тваринами спостерігають протягом кількох діб. При наявності у досліджуваному матеріалі токсину, приблизно через 48—96 год з'являються клінічні ознаки захворювання у вигляді тонічного скорочення мускулатури тіла. Тварини гинуть у характерній позі — з витягненими кінцівками і викривленим хребтом у бік кінцівки, куди вводили матеріал.

Ідентифікацію токсину здійснюють за допомогою реакції нейтралізації на лабораторних тваринах. Суть її полягає у тому, що досліджуваний матеріал вводять разом з антистовбнячною сироваткою. Якщо вона запобігає захворюванню і загибелі тварини, роблять висновок про те, що матеріал містив відповідний токсин. Стовбнячний токсин можна виявити також і за допомогою інших серологічних реакцій, зокрема реакції пасивної гемаглютинації.

Перспективним є метод імунофлуоресценції, який дає змогу ідентифікувати збудника безпосередньо в патологічному матеріалі (експрес-діагностика) та в одержаній культурі.

Імунітет. Численні спостереження свідчать, що людина, мавпи, свині, морські свинки не набувають природного активного імунітету проти стовбняка. У той же час жуйні тварини на це здатні. В організмі останніх постійно виявляють антитоксини.

Вважається, що вони є результатом субінфекції, зумовленої

розмноженням токсинуутворюючого збудника стовбняка в рубці.

У деяких випадках імунітет може бути трансплацентарним або колостральним. Імунітет проти стовбняка антитоксичний. Введення антистовбнячного анатоксину зумовлює напружений імунітет до захворювання у людей та тварин. **Можливість створення протистовбнячного штучного імунітету за допомогою анатоксину була доведена ще у 1890 р. Берінгом та Кітазато.** У 1924 р. французькі дослідники Рамон та Декомбе запропонували методику одержання анатоксину, яка набула надзвичайно широке застосування. На відміну від попередніх авторів вони обробляли стовбнячний токсин не трихлористим йодом, а 0,2—0,5 %-ним формаліном протягом 3—4 тижнів. Пізніше методика одержання стовбнячного анатоксину вдосконалювалася головним чином у напрямі підвищення його імуногенних властивостей. Так, у 1954 р. Г. І. Єлизарівський запропонував метод одержання концентрованого стовбнячного анатоксину, що дало змогу зменшити прищеплювальну дозу його у 5 разів.

Для приготування стовбнячного анатоксину використовують штами збудника з високою токсичністю та імуногенністю. Такі штами вирощують на спеціальних живильних середовищах, які забезпечують оптимальні умови для нагромадження екзотоксину. Культуру вирощують протягом 5—7 діб при температурі 34—35 °С, контролюють на відсутність сторонніх мікроорганізмів (мікроскопічним дослідженням) і фільтрують через бактеріальні фільтри. Фільтрат-токсин перевіряють на стерильність і визначають концентрацію токсину на білих мишах масою 14—17 г. Мінімальний титр токсину повинен становити не нижче 1 : 80000 в 1 мл і вище. Токсин знешкоджують формаліном, внівши його 0,3—0,4 % і витримавши протягом 25—30 днів при температурі 39—40 °С. Потім анатоксин концентрують за допомогою хімічно чистих алюмінієвих галунів і консервують карболовою кислотою. Препарат контролюють на стерильність, нешкідливість та імуногенність. Стерильність перевіряють посівом на живильні середовища і подальшим культивуванням в аеробних і анаеробних умовах. Нешкідливість визначають на білих мишах, морських свинках і конях. Білим мишам масою 18—20

г препарат вводять підшкірно в дозі 0,5 мл, морським свинкам — 2 мл, коням — 5 мл. Анатоксин вважається нешкідливим, якщо протягом 10 днів тварини не захворюють. У коня на місці введення препарату припухлість не повинна перевищувати 15 см у діаметрі. У морських свинок допускається утворення на місці введення препарату потовщення шкіри та утворення невеликих виразок, що швидко заживають.

Для визначення активності (імуногенності) анатоксину препарат вводять морським свинкам масою 300—350 г у дозі 0,5 мл підшкірно. Через 25—30 днів тваринам вводять по 200 мінімальних смертельних доз сухого чи консервованого гліцерином токсину. Контрольним тваринам вводять лише одну смертельну дозу того ж стовбнячного токсину. Анатоксин вважається активним, якщо імунізовані ним морські свинки залишаються живими, а контрольні загинуть на 4—5-ту добу.

Концентрований стовбнячний токсин використовують для профілактичної імунізації у неблагополучних стадах тварин. Препарат вводять підшкірно у дозі 0,5 мл молодняку та дрібним тваринам і по 1 мл великим. Несприйнятливість до стовбняка настає через 21—30 днів після імунізації і зберігається у коней 3—5 років, у інших тварин — не менше року.

В Україні зареєстровано комбінований препарат «Nobi-Eyenza» проти грипу та правця коней (Нідерланди). Вакцина інактивована, містить антигени трьох штамів збудника грипу та очищений анатоксин збудника правця. Коней, які раніше не вакцинувались, щеплять з 4-х місячного віку з інтервалом 4 тижні та ревакцинують у 6 місяців. Імунітет формується на 21 добу та триває 1 рік.

З метою пасивної імунізації застосовують протистовбнячну гіперімунну сироватку. Одержують її гіперімунацією коней, інколи великої рогатої худоби або овець.

Протистовбнячну сироватку застосовують при пораненнях, опіках, перед кастрацією чи іншими маніпуляціями у неблагополучних стадах тварин. Дорослим великим тваринам сироватку вводять у кількості 8000 АО (антитоксичних одиниць),

дрібним тваринам і молодняку — 4000 АО. При тяжких пораненнях дозу збільшують вдвічі.

З лікувальною метою сироватка ефективна, якщо її вводять на початку захворювання. Доза її — 80 000 великим та 40 000 АО дрібним тваринам і молодняку.

З профілактичною метою препарат застосовують підшкірно, з лікувальною — півдози вводять підшкірно та півдози — внутрішньовенно. Рекомендується також вводити її інтрамускулярно навколо рани, по ходу нервових стволів. При лікуванні хворих сироватку вводять щоденно кілька днів підряд (звичайно 2—3), потім— залежно від перебігу захворювання.

Збудник брадзоту, інфекційної анаеробної ентеротоксемії та некробактеріозу тварин

4

Збудник брадзоту

Брадзот (від brad — раптовий та sot — хвороба) — гостре інфекційне захворювання овець. Характеризується геморагічним запаленням сичуга, дванадцятипалої кишки, ураженням внутрішніх органів, 100 %-ною летальністю. Хвороба поширена в країнах, що займаються вівчарством.

Збудник — *Cl. septicum*, інколи *Cl. novyi* вар. В. (*Cl. gigas*). Як збудник брадзоту *Cl. septicum*, визначений Н. Нільсеном у Норвегії в 1888 р. Пізніше було виявлено причетність інших видів патогенних анаеробів до етіопатогенезу захворювання. Зокрема, встановлено ускладнюючу роль *Cl. perfringens* та *Cl. sordellii*.

Патогенність. Як було вказано вище, збудники мають ряд факторів патогенності, здатних обумовити патологію у тварин. Хворіють на брадзот вівці будь-якого віку. Проте найбільш сприйнятливі молоді тварини. Виникає брадзот частіше пізно восени та ранньою весною, коли тварини на пасовищі змушені добувати траву, вигризаючи її з корінням та підмерзлим ґрунтом. Сприяють виникненню захворювання також різка зміна корму, дефіцит у раціоні білка, мінеральних речовин, вітамінів, а також згодовування неякісного, промерзлого

корму, переохолодження, або ж, навпаки, перегрівання.

Джерелом інфекції є хворі тварини та тварини-бацилоносії. Серед факторів передачі збудника важливе місце належить пасовищам, які контамінуються, зокрема, через трупи загиблих від брадзоту овець.

Зараження відбувається аліментарним шляхом — з водою чи кормом. При наявності відповідних факторів збудник швидко розмножується у шлунково-кишковому тракті і проникає у товщу стінки сичуга, дванадцятипалої кишки, викликаючи їх запалення. Виділюваний ним токсин всмоктується у кров і зумовлює загальну інтоксикацію організму.

Перебіг захворювання може бути гострим та блискавичним. В останньому випадку тварини звичайно гинуть уночі або вранці під час вигону на пасовище. У них раптово з'являються судороги, спостерігається гіперемія слизових оболонок, тимпанія, слиновиділення. Тварини падають на землю і гинуть за 30—40 хв.

Гострий перебіг захворювання характеризується підвищенням температури тіла до 40,5—41 °С, пригніченням, втратою апетиту, прискоренням пульсу та дихання, зрідка кривавим проносом, тимпанією, набряками у ділянці голови, скреготанням зубів. Можуть спостерігатися також ознаки ураження центральної нервової системи.

Тварина збуджена, ходить по колу, періодично у неї виникають судороги а вслід за ними — колапс. Вона лежить, закинувши догори або набік голову, й гине протягом 2—14 год, рідше — 3—5 діб.

Труп тварини, що загинула від брадзоту, надзвичайно здутий, швидко розкладається. З природних отворів може витікати кров'яниста рідина. Слизові оболонки ціанотичні. Підшкірна клітковина (у ділянці голови, шиї, підгрудка) просочена серозно-геморагічним інфільтратом з пухирцями газу. На слизових оболонках глотки, трахеї та бронхів — крапчасті або смугасті крововиливи. У грудній та черевній порожнинах — рідина солом'яно-жовтого кольору. Слизова оболонка сичуга, дванадцятипалої кишки запалена, з крововиливами та виразками.

Діагностика. Лабораторна діагностика брадзоту ґрунтується на бактеріологічному та біологічному дослідженнях. У лабораторію надсилають сичуг

та дванадцятипалу кишку з вмістом, паренхіматозні органи, шматочки м'язів, трубчасту кістку. Матеріал повинен бути абсолютно свіжим, відібраним зразу ж після загибелі тварини.

Бактеріологічне дослідження. Мазки фарбують за Грамом та одним з методів для виявлення спор і мікроскопують. Потім роблять посів на середовище Кіта—Тароці, глюкозо-кров'яний агар, МПА, МПБ. Посіви інкубують в анаеробних умовах. В позитивних випадках спостерігаються описані раніше ознаки росту збудника.

Біологічне дослідження. Біопробу ставлять на морських свинках. Двом тваринам живою масою 350—400 г підшкірно вводять 0,5—1 мл суспензії досліджуваного матеріалу. Спостереження за морськими свинками здійснюють протягом восьми діб. При наявності збудника тварини гинуть через 16—48 год. Тварин можна заражати також виділеною бульйонною культурою збудника.

Cl. septicum зумовлює у морських свинок такі патологоанатомічні зміни. Шкіра на місці введення матеріалу легко відокремлюється від м'язів. М'язи та підшкірна клітковина світло-коричневого кольору. У підшкірній клітковині велика кількість пухирців газу, судини ін'єктовані. В грудній порожнині, під перикардом багато рідини.

В мазках-відбитках, зроблених з поверхні печінки, виявляють ниткоподібні клітини збудника. Постановка біологічної проби завершується реізоляцією збудника на живильних середовищах.

Імунітет при брадзоті антитоксичний. Для специфічної профілактики запропоновано ряд біологічних препаратів. Широкого застосування набула, зокрема, полівалентна концентрована гідроксидалюмінієва формолвакцина проти брадзоту, інфекційної ентеротоксемії, злоякісного набряку овець. Доцільність застосування полівалентного препарату при цій патології було доведено ще на початку 60 років (Каган Ф. І., Колесова А. І., 1956). Вакцину вводять внутрішньо-м'язово двічі. Імунітет настає через 12—14 діб і триває 6 міс. В Україні В.П.Риженком розроблено вакцину «Овісан» на базі А,В,С та Д серотипів *Cl. perfringens*, *Cl. stpticum* та *Cl. oedematiens*. Препарат ефективний – створює імунітет до брадзоту, анаеробної

дизентерії, анаеробної ентеротоксемії, злякисного набряку та некротичного гепатиту овець.

Крім вакцини, запропоновано також поліанатоксин (Кирилов Л. В., Каган Ф. І.). Препарат застосовують у неблагополучних щодо бразоту господарствах. Вводять його також двічі з інтервалом 25 діб.

Тварин імунізують перед вигоном на пасовище.

5

Збудник інфекційної анаеробної ентеротоксемії тварин

Інфекційна анаеробна ентеротоксемія тварин гостра неконтагіозна токсикоінфекція різних видів тварин. Захворювання відоме під такими назвами: інфекційна ентеротоксемія овець, анаеробна дизентерія ягнят, ентеротоксемія великої рогатої худоби, некротичний ентерит поросят та ін.

Інфекційна анаеробна ентеротоксемія зустрічається повсюди. Збудники захворювання — різні серологічні варіанти *Cl. perfringens* надзвичайно поширені. Вони знаходяться і розмножуються у шлунково-кишковому тракті тварин, звідки потрапляють у зовнішнє середовище, контамінуючи ґрунт, воду, корми та інші об'єкти.

Захворювання виникає внаслідок проникнення збудника частіше аліментарним шляхом в організм тварини і подальшого інтенсивного його розмноження та токсиноутворення. Нерідко захворювання буває наслідком активізації ендогенної інфекції. У виникненні інфекційної анаеробної ентеротоксемії важливе місце належить факторам, що зумовлюють сприятливі умови для інтенсивного розмноження збудника. Зокрема, в разі порушень процесу травлення, при певних умовах, може підвищитись лужність вмісту кишечника, збільшитись кількість продуктів неповного білкового гідролізу, що створює селективні переваги для *Cl. perfringens* перед іншими мікроорганізмами. Все, що сприяє порушенню травлення — різка зміна корму, згодовування неякісних кормів, адинамія та інші причини, можуть призвести до виникнення інфекційної анаеробної

ентеротоксемії.

В патогенезі захворювання основну роль відіграють екзотоксини збудника. Нагромаджуючись у кишечнику, вони зумовлюють запалення його слизової оболонки, уражують ендотелій судин, проникають у кров'яне русло і розносяться по всьому організму, спричиняючи загальну його інтоксикацію.

Захворювання неконтагіозне, однак може призвести до значних економічних втрат у зв'язку з високою летальністю, недосконалістю лікувально-профілактичних засобів.

Інфекційна ентеротоксемія овець (хвороба «м'яка нирка») — гостра токсикоінфекція овець з ознаками ураження нервової системи, шлунково-кишкового тракту та швидкою загибеллю тварин. Захворювання викликає сероваріант D. *C. perfringens* (B. ovitoxicum) та інколи сероваріант C.

Хворіють вівці у будь-якому віці, молоді швидкоростучі тварини, суягні вівцематки і ті, що щойно окотилися. Сприйнятливіші до захворювання малорухливі, добре вгодовані тварини.

Перебіг захворювання може бути надгострим, гострим, напівгострим та хронічним. У разі надгострого перебігу тварина раптово падає і гине протягом кількох хвилин з явищами судорог. Гострий перебіг характеризується підвищенням температури тіла до 41 °C, слизово-кривавим проносом, відмовою від корму, виділенням з рота піни, гематурією, ознаками ураження нервової системи, напівгострий — відсутністю апетиту, спрагою, проносом, анемічністю слизових оболонок, схудненням, нерідко абортами. При хронічному — анемія, виснаження.

Трупи тварин надзвичайно роздуті й швидко розкладаються. Кровоносні судини клітковини ін'єктовані. В грудній та черевній порожнинах — серозно-геморагічний ексудат, крововиливи на епікарді та ендокарді, слизовій оболонці рубця і дванадцятипалої кишки. Нирки гіперемійовані. Паренхіма їх дрябла («розм'якшена нирка»). Останнє є патогномічною ознакою при інфекційній ентеротоксемії овець.

Анаеробна дизентерія ягнят — гостра токсикоінфекція новона-роджених ягнят. Характеризується діареєю, токсемією, швидкою

загибеллю тварини. Викликає захворювання серологічний тип В *CI. perfringens* (Lamb dysentery bacillus скорочено *D. bacillus*).

Хворіють ягнята віком від кількох годин до 8—10 діб. Заражаються вони аліментарним шляхом, переважно через контаміновані дійки вим'я матері. В кишечнику збудник швидко розмножується. Токсин його зумовлює некротичні явища у слизовій оболонці кишечника, а після надходження у кров'яне русло уражує всі органи й тканини.

Перебіг захворювання може бути блискавичним, гострим, зрідка хронічним. У першому випадку тварина гине раптово без будь-яких проявів захворювання. В разі гострого перебігу спостерігається пронос. Калові маси стають кривавими, містять пухирці газу. Хвороба триває 1—3 доби.

При розтині трупів спостерігається інтенсивна гіперемія слизової оболонки кишечника, локальні ділянки некрозу.

Ентеротоксемія великої рогатої худоби — гостра токсикоінфекція телят. Характеризується геморагічним ентеритом, крововиливами на слизовій оболонці носової і ротової порожнин. Захворювання викликає серологічний варіант *D. CI. perfringens*, зрідка сероваріанти А, В, С та Е.

Захворювання часто виникає на фоні грубих порушень режиму годівлі та утримання тварин, зокрема, при надмірному згодовуванні концентрованих кормів. Перебіг його буває блискавичним та гострим. В останньому випадку спостерігається кривавий пронос, синюшність слизових оболонок, інколи — тризм м'язів, параліч кінцівок. Летальність досягає 100 %.

Ентеротоксемія свиней (анаеробна дизентерія поросят, некротичний ентерит) — токсикоінфекція поросят перших днів життя. Характеризується діареєю, токсемією, високою летальністю. Викликає її сероваріант *CI. perfringens*, зрідка сероваріант В та ін.

Хворіють в основному поросята 5—6-денного віку, рідше старшого. Перебіг хвороби може бути блискавичним або ж гострим. У першому випадку тварина гине з ознаками судорог, в останньому спостерігається пронос, виснаження. Калові маси водянисті, з домішками крові, інколи пухирцями газу (пінисті). При розтині загиблих тварин спостерігаються гіперемія та некротичні явища в слизовій оболонці

тонкого, а інколи й товстого відділу кишечника.

Діагностика інфекційної анаеробної ентеротоксемії тварин. Лабораторна діагностика захворювання ґрунтується на виявленні токсину у вмісті тонкого відділу кишечника, виділенні збудника з патологічного матеріалу та визначенні його токсигенної характеристики.

В лабораторію надсилають уражений відрізок тонкого відділу кишечника з вмістом, частину печінки, селезінки, нирку, лімфатичні вузли брижі, трубчасту кістку або труп. Матеріал необхідно доставити в лабораторію не пізніше 4 год після загибелі тварини.

Визначення токсину у вмісті кишечника. Вміст кишечника розбавляють фізіологічним розчином 1 : 1 або 1 : 2, залежно від його консистенції, екстрагують протягом 1 год при кімнатній температурі, фільтрують через ватно-марлевий фільтр, центрифугують 20 хв при 3—5 тис. об./хв. Надосадову рідину в дозі 0,5 мл вводять внутрішньовенне або інтраперитонеально двом білим мишам (масою 16—18 г) чи внутрішньовенне кролю (масою 1,8—2 кг) в дозі 1—1,5 мл. При наявності токсину тварини гинуть протягом 12 год.

Тип токсину визначають у реакції нейтралізації. Для цього у п'ять пробірок розливають по 1 мл надосадової рідини і додають по 1

мл діагностичної анитоксичної сироватки *Cl. perfringens*, розбавленої стерильним фізрозчином так, щоб концентрація її була 10 АО в 1 мл. У першу пробірку вносять сироватку типу А, у другу — С, у третю — D, у четверту — Е. П'ята пробірка залишається контрольною. Замість сироватки туди вносять 1 мл фізіологічного розчину. Пробірки витримують протягом 30 хв при температурі 37 °С. Суміш з кожної пробірки вводять внутрішньовенне або у черевну порожнину по 0,5 мл двом білим мишам. За тваринами спостерігають протягом 48 год. Результат ураховують у випадку загибелі контрольних тварин.

Виділення збудника. З паренхіматозних органів та вмісту кишечника готують мазки, фарбують їх за методом Грама і мікроскопують. В мазках з органів збудника можна не виявити. Тому мікроскопічне дослідження має досить умовне значення.

Посів матеріалів здійснюють на середовище Кіта — Тароці, глюкозо-

кров'яний агар, МПА та МПБ. Матеріал з кишечника висівають лише на середовище Кіта — Тароці. Інкують в анаеробних умовах при температурі 37—38 °С протягом 20—24 год.

Чисту культуру збудника одержують методом частих пересівів на середовищі Кіта — Тароці, або ж засіяні пробірки прогрівають на водяній бані протягом 10 хв при 65 °С, а потім висівають на глюкозо- кров'яний агар. *Cl. perfringens* утворює гладенькі з випуклим центром колонії, які в аеробних умовах набувають зеленуватого відтінку. Колонії вивчають, роблять з них мазки і мікроскопують, здійснюють пересів на молоко. *Cl. perfringens* пептон ізує молоко за 16—24 год з утворенням губчастого згустка. При необхідності вивчають також інші біохімічні властивості збудника та визначають його токсигенну характеристику.

Якщо підозрюють наявність у матеріалі збудника типів D та E, культуру активізують, додаючи до неї 0,5 %-ний панкреатин, або ж 0,25 %-ний трипсин при рН 8—8,2. З цією метою її спочатку залу- жують 10 %-ним розчином їдкого натру, потім вносять панкреатин або трипсин і витримують при температурі 37—38 °С протягом 2 год, періодично струшуючи. Така процедура значно підвищує токсигенність культур типів D та E і помітно зменшує токсичність типу C. Токсичність типу B при аналогічних умовах практично не змінюється. Остаточний тип токсину визначають в рН за вищеописаною методикою.

Імунітет, біопрепарати. Імунітет при їїфзкційній анаеробній ентеротоксемії антитоксичний. Він буває природним — *Cl. perfringens* розмножуючись у травному тракті тварини, продукує токсин, який зумовлює утворення організмом **антитоксинів** та інших факторів несприйнятливості, які, надходячи з молоком матері новонародженим, створюють у певній мірі їх специфічну резистентність проти захворювання. Однак колестральний імунітет нестійкий. Різні фактори, пов'язані насамперед з порушенням режиму повноцінної годівлі та належного утримання, призводять до виникнення захворювання тому, що збудник майже завжди знаходиться в організмі дорослих тварин, контамінує зовнішнє середовище, є постійним потенційним фактором виникнення захворювання.

Для створення штучного імунітету запропоновано ряд біологічних препаратів.

З метою профілактики інфекційної ентеротоксемії овець застосовують концентровану полівалентну гідроокисалюмінієзу вакцину проти браздоту, інфекційної ентеротоксемії, злоякісного набряку та дизентерії овець.

Препарат являє собою суміш нативних токсичних бульйонних культур, інактивованих теплом і формаліном, сорбованих на гелі гідрату окису алюмінію та сконцентрованих. Вакцину готують на сенові токсигенних штамів *Cl. perfringens*, типів B, D, *Cl. novyi* та *Cl. septicum*.

Активність препарату контролюють на кролях, яким вводять її дворазово з інтервалом 18—20 днів, а потім визначають рівень антитоксичних антитіл у реакції нейтралізації на білих мишах. Вівцям препарат вводять два рази з інтервалом 20—30-днів (при вимушеній вакцинації інтервал скорочують до 12—14 днів). Імунітет настає через два тижні і триває 6 міс. В Україні для профілактики хвороби у овець використовують розроблену В.П.Риженком полівалентну вакцину

«Овісан».

Розроблено також полівалентний анатоксин проти клостридіозів овець. Готують його на основі *Cl. perfringens* типів C і D та *Cl. septicum* і *Cl. novyi*. Активність препарату визначають за рівнем антитоксичних антитіл в організмі щеплених кролів.

Пасивну імунізацію проти інфекційної ентеротоксемії овець здійснюють за допомогою антитоксичної сироватки проти анаеробної дизентерії ягнят і інфекційної ентеротоксемії овець. Одержують її гіпер-імунізацією великої рогатої худоби *Cl. perfringens* типів B, C і D та їх токсинами.

Специфічну профілактику анаеробної дизентерії ягнят здійснюють за допомогою полівалентної вакцини або антитоксину проти клостридіозів овець. Вакцинують вівцематок з метою створення у новонароджених колострального імунітету. В неблагополучних господарствах новонародженим ягнятам підшкірно вводять 5—10 мл антитоксичної сироватки. З лікувальною метою останню вводять по

10—20

мл

двічі

на

добу.

Біопрепарати, які забезпечували б профілактику ентеротоксемії телят та поросят відсутні.

Для профілактики ентеротоксемії свиней застосовують полівалентний анатоксин проти клостридій овець. Вводять його поросним свиноматкам двічі, з інтервалом 18—20 днів, за 20—30 днів до опоросу. Для цього використовують також антитоксичну сироватку проти анаеробної дизентерії ягнят і інфекційної ентеротоксемії овець. Вводять її в дозі 3—5 мл парантерально порослятам зразу ж після їх народження.

Цей же препарат застосовують з метою профілактики ентеротоксемії великої рогатої худоби. Сироватку вводять новонародженим телятам підшкірно по 20—40 мл. Інколи, щоб створити колостральний імунітет у телят, полівалентний анатоксин або вакцину вводять тільки коровам.

6

Збудник некробактеріозу (*Fusobacterium necrophorum*).

Некробактеріоз — хронічне інфекційне захворювання домашніх , і диких ссавців та птиці. Характеризується гнійно-некротичним ураженням шкіри, слизової оболонки, внутрішніх органів. У літературі воно описане також під іншими назвами: некробацильоз, копитна хвороба оленів, копитця овець, гангренозний дерматит коней, гангренозний мокрець, панарицій у великої рогатої худоби. Захворювання поширене в усіх країнах світу, може призводити до загибелі 10 % і більше поголів'я ураженого стада.

К

Збудник — *Fusobacterium necrophorum* відкритий Р. Кохом у

1881 р., детально описаний Лефлером у 1882 р. Збудник належить до родини Bacterioidaceae роду Fusobacter.

Морфологія. *Fusobacterium necrophorum* — надзвичайно поліморфний мікроорганізм. Окремі його клітини коко-, інші паличко- й ниткоподібні (рис. 42). Паличкоподібні мають розмір 2—5 мкм у довжину та 0,5—1,5 — діаметр, ниткоподібні — 100—300 мкм, навіть, 400 мкм. Інколи на ниткоподібних клітинах спостерігаються кулясті або колбоподібні розширення. Збудник спор та капсул не утворює, нерухливий. У старих культурах та в препаратах-відбитках з патологічного матеріалу збудник некробактеріозу частіше має вигляд паличок довжиною до 4 мкм та діаметром близько 0,5 мкм.

Аніліновими фарбами збудник фарбується нерівномірно (зернисто). Грамнегативний, добре фарбується фуксином Ціля, синькою Лефлера, за методами Муромцева та Романовського — Гімза.

Культуральні властивості. *F. necrophorum* — облігатний анаероб. Оптимальна для його росту температура 36—38 °С, рН середовища — 7,4—7,6. Культивують збудник некробактеріозу на спеціальних живильних середовищах: бульйонах Мартена, Хотінгера, сироватковому та глюкозо-кров'яному агарі (рис. 43). Широко використовують також середовище Кіта — Тароці, додаючи до нього 10—20 % свіжої сироватки крові великої рогатої худоби та 0,2—0,5 % глюкози, що значно збільшує інтенсивність росту.

Рис. 42. Збудник некробактеріозу в полі зору світлового мікроскопу.

В середовищі Кіта-Тароці через 24 год спостерігається слабке помутніння, на шматочках печінки — осад у вигляді пластівців. Через 5—8 днів середовище стає прозорим, а на дні пробірки утворюється крихтоподібний осад, що розбивається у рівномірну каламуть при незначному струшуванні.

Рис. 43. Ріст збудника некробактеріозу на кров'яному агарі.

На поверхні щільного середовища через 2—3 доби культивування, формуються дрібні круглі або продовгуваті колонії-росинки. Поверхня їх звичайно гладенька, інколи матова.

При рості збудника на глюкозо-кров'яному агарі навколо його колоній може спостерігатися зона гемолізу.

Біохімічні властивості. *F. necrophorum* ферментує з утворенням кислоти і газу арабінозу, глюкозу, галактозу, леульозу, мальтозу, сахарозу, саліцин, а деякі штами ще й гліцерин, дульцит, маніт та іну-лін. Протеолітичні властивості у збудника виражені слабо. Желатину та коагульовану сироватку крові він не розріджує. Деякі штами можуть пептонізувати згусток у молоці, утворювати індол та сірково-день. Нітрати не редукує.

Антигенна структура у збудника некробактеріозу вивчена недостатньо. Зустрічаються штами, які мають виражені відмінності від типових. Встановлено, що збудник має антигени, ідентичні з антигенами інших фузобактерій.

Резистентність. Порівнюючи з іншими патогенними анаеробами збудник некробактеріозу нестійкий. Однак, він може тривалий час зберігатися у зовнішньому середовищі: у калових масах—близько 2 міс, у сечі — до 15 днів, ґрунті — до 15 днів влітку та до 2 міс взимку, у молоці — до 35 днів.

При висушуванні збудник некробактеріозу гине протягом 72 год, під дією сонячних променів — за 12 год. Нагрівання до 56 °С вбиває його за 15, а нагрівання до 70 °С—за 10 хв, кип'ятіння—миттєво.

Під дією 5 %-ного гідроксиду натрію він гине за 10 хв, 2,5 %-ного креоліну — за 20, 2 %-ного розчину фенолу — за 2 хв, 2,5 %-ний розчин креоліну знищує його за 13 хв.

Патогенність. У природних умовах *F. necrophorum* патогенна для коней, великої рогатої худоби, буйволів, оленів, овець, кіз, свиней, собак, котів, курей, гусей, диких тварин. Із лабораторних тваринчутливі білі миші та кролі. Хворіють некробактеріозом і люди.

Джерелом інфекції є хворі тварини та бактеріоносії. У клінічно здорових тварин, особливо в рубці жуйних, зустрічається постійно. Зараження відбувається через пошкоджену шкіру, слизові оболонки. Збудник розмножується у місці проникнення. Ендотоксин та ферменти його пригнічують захисні реакції організму, що сприяє поширенню збудника у різні органи й тканини. Розвитку захворювання сприяють порушення у годівлі тварин, неправильне їх утримання, особливо наявність факторів, що травмують слизові оболонки та шкіру.

Прояв захворювання залежить від місця проникнення збудника в організм. У оленів, великої рогатої худоби та коней частіше уражуються кінцівки, у ягнят та козенят — слизові оболонки рота, носа, у свиней та кролів на початку захворювання бувають риніт і стоматит. Уражені місця запалені. На поверхню виділяється ексудат, спочатку серозний, пізніше гнійний. Тварина пригнічена. Температура тіла підвищена. Прогресування патологічного процесу призводить до утворення виразок, свищів, некротичного розпаду тканини. Уражені кінцівки напухлі, гарячі, болючі. Тварина кульгає. У корів нерідко уражуються статеві органи, вим'я. У телят процес локалізується до- сить часто на слизовій оболонці рота, носа, стравоходу, шлунка. Ура- жені ділянки покриваються характерною плівкою («дифтерія» телят). Перебіг захворювання у них звичайно тяжкий. Гинуть телята через 1—2 тижні.

Характерними патологоанатомічними ознаками некробактеріозу є вищеописані ураження на шкірі й слизових оболонках. Інколи у внутрішніх органах, частіше в печінці, нирках, селезінці виявляють абсцеси, вогнища некрозу тканини.

Діагностика. Лабораторна діагностика некробактеріозу ґрунтується на результатах бактеріоскопічного, бактеріологічного та біологічного досліджень.

В лабораторію необхідно доставити труп дрібної тварини, а від крупних тварин — уражені ділянки тканини та паренхіматозні органи з некротичними вогнищами. Вміст з останніх можна надсилати в запаяних пастерівських піпетках. Відбираючи патологічний матеріал, слід знати, що збудник частіше знаходиться у достатній кількості на межі між ураженими та неураженими ділянками.

Від хворих тварин беруть матеріал на межі здорової і ураженої ділянок. З цих місць готують мазки-відбитки.

Мазки, зроблені з патологічного матеріалу, фарбують синькою Лефлера або за Муромцевим, а також Грамом. В позитивних випадках у них виявляють поліморфні грамнегативні нерівномірно пофарбовані палички.

Для виділення збудника здійснюють посіви на середовище Кіта -

Тароці. Інкубують протягом п'яти діб при 37—38 °С, вивчають культуральні властивості, мікроскопують пофарбовані препарати, зроблені з культури після появи ознак росту збудника. Однак одержати ріст збудника шляхом прямого посіву на живильне середовище надзвичайно важко. Це вдається зробити інколи при дослідженні матеріалу, взятого з вогнищ, що розміщені у внутрішніх органах. Значно легше одержати культуру збудника некробактеріозу біологічним методом .

Кролів заражають підшкірно. Суспензію з патологічного матеріалу (1 : 10) у дозі 0,5—1 мл вводять у ділянці середньої третини зовнішньої поверхні вушної раковини. В аналогічній дозі інколи вводять 24-годинну культуру ізоляту. За зараженими тваринами спостерігають протягом 10 діб. Якщо у матеріалі є збудник, він на місці ін'єкції викликає некроз тканини, який виявляють на 3—4-ту добу після зараження. На 6—10-ту добу тварина гине. На розтині виявляють некротичні вогнища в м'язах голови, серця, печінки. При посіві на живильне середовище легко одержати ріст збудника у чистій культурі.

Білих мишей заражають також підшкірно. Матеріал у дозі 0,3— 0,5 мл вводять біля кореня хвоста. На 7—8-му добу у місці ін'єкції спостерігається припухлість і нагноєння. Миші гинуть на 10—14-ту добу після зараження. При розтині трупів виявляють вогнища некрозу та скупчення гною у різних внутрішніх органах.

Імунітет. Імунітет при некробактеріозі недостатньо вивчений. В Україні (В.П.Риженко) розроблено комбіновані вакцини «Некросан»

, «Некросальм» «Некроколісальм» та «Фузоактиносан». Перша призначена для профілактики некробактеріозу, злоякісного набряку, некротичного гепатиту та анаеробної ентеротоксемії тварин, - остання

- для профілактики некробактеріозу і актинобацильозу. Вакцина

«Некроколісальм» призначена для профілактики некробактеріозу,

колібактеріозу та сальмонельозу вакцина «Некросальм» використовується метою профілактики некробактеріозу і сальмонельозу тварин.

Лікування здійснюють за допомогою хіміопрепаратів, сульфаніламідів, антибіотиків тетрациклінового ряду.

ПАТОГЕННІ МІКОПЛАЗМИ

План

1. Характеристика мікоплазм.
2. Морфологія та культуральні властивості.
3. Збудник контагіозної плевропневмонії великої рогатої худоби.
4. Збудник інфекційної агалакції овець і кіз.
5. Збудник респіраторного мікоплазмозу птиці.

1

Мікоплазми (плевропневмонієподібні організми — ПППО) — *Pleuropneumonia-like organism* — велика група надзвичайно полі-морфних мікроорганізмів - прокаріотів, що не мають ригідної клітинної стінки. Розмір мікоплазм коливається від 0,7—1 до 8—10 мкм.

Перші відомості про мікоплазми були одержані французькими дослідниками Нокаром і Ру (1898) при вивченні плевропневмонії великої рогатої худоби. Однак автори вважали, що мають справу не з якимисьь особливими мікроорганізмами, а з грибами, тому й дали назву збуднику згаданого захворювання *Micoplasma peripneumoniae*. Пізніше подібні мікроорганізми були ізольовані від людей, рослин, з ґрунту, води та інших об'єктів зовнішнього середовища.

Більшість мікоплазм — паразити, які розвиваються в організмі людини, тварин або рослин. Мікоплазми-сапрофіти зустрічаються у ґрунті, на поверхні рослин. Серед мікоплазм-сапрофітів є цікава група, на поверхні цитоплазматичної мембрани яких відкладаються оксиди заліза та марганцю. Деякі види їх можуть призводити до руйнування металевих і навіть залізобетонних конструкцій.

У людини патогенні мікоплазми можуть викликати запалення легень, верхніх дихальних шляхів, статевих органів та ін. У рослин мікоплазми викликають понад 30 інфекційних захворювань. Захворювання, зумовлені мікоплазмами, прийнято називати мікоплазмозами, або мікоплазмовими інфекціями.

Нині мікоплазми та спричинені ними захворювання інтенсивно вивчають. В мікробіології виділено самостійний розділ

«Мікоплазмологія». Ще у 1969 р. Всесвітньою організацією охорони здоров'я була затверджена програма вивчення мікоплазми і захворювань, що вони викликають. Понад 30 провідних лабораторій світу домовилися співпрацювати у цій галузі. Мікоплазми належать до класу Mollicutes, який входить до відділу Tenericutes.

Клас Mollicutes (лат. Molli - М'ЯКИЙ, cites - покрив) об'єднує прокаріотичні організми, які не мають істинно клітинної стінки, а оточені лише тришаровою мембраною, здатні рости на штучних живильних середовищах.

У класі Mollicutes лише один порядок Mycoplasmatales. Останній включає три родини: мікоплазми (Mycoplasmataceae), ахोлеплазми (Acholeplasmataceae) та спіроплазми (Spiroplasmataceae).

До родини мікоплазм входять рід мікоплазма — Mycoplasma, що налічує понад 70 видів, та рід Ureaplasma — включає п'ять видів мікоплазм. До родини ахोлеплазм належить лише один рід Acholeplasma з 12 видами. Родина спіроплазм також має лише один рід Spiroplasma, який об'єднує понад 30 видів мікоплазм. Крім того, відомі ще два роди з точно невизначеним систематичним положенням: рід анаероплазм (Anaeroplasma) з чотирма видами та рід термоплазм (Thermoplasma). Описано також рід Asteroplasma (Robinson, Freundt, 1987) з єдиним видом Asteroplasma Anaerobicum. Останній за багатьма властивостями має велику схожість з анаероплазмами.

У визначнику бактерій Берджи (1997) мікоплазми складають Групу 30 «Мікоплазми (молікути): бактерії без клітинної стінки»

2

Морфологія. Мікоплазми надзвичайно поліморфні мікроорганізми. Зустрічаються клітини кулясті, паличко-, спірале-, кільце-, зірко-, ниткоподібні, інколи розгалужені або спіралеподібні нитки та інші форми. Ступінь поліморфізму пов'язаний з видом мікоплазм, характеристикою середовища, у якому вони розвиваються, віком культури та іншими факторами. Так, збудник плевропневмонії великої рогатої худоби завжди поліморфніший порівняно із збудником

респіраторного мікоплазмозу птиці. Мікоплазми, вирощені на штучних живильних середовищах, як правило, більш поліморфні за тих, яких виявляють у матеріалах від хворих тварин.

Поліморфізм мікоплазм пов'язаний з кількома обставинами, насамперед з тим, що відсутність твердої клітинної стінки зумовлює надзвичайну їх пластичність. Конфігурація клітин мікоплазм змінюється під дією різноманітних факторів зовнішнього середовища (плеоморфізм). Структурні елементи мікоплазм надзвичайно легко руйнуються під час приготування препаратів для мікроскопії.

Одна з обставин, що зумовлює поліморфізм мікоплазм, пов'язана з способом їх розмноження. Вони можуть розмножуватися бінарним поділом, брунькуванням, розпадом великих клітин на дрібні, фрагментацією ниткоподібних форм. Мікоплазми деяких видів у процесі свого розвитку мають певний цикл морфологічних стадій. Так, у збудника респіраторного мікоплазмозу птиці при культивуванні на живильному середовищі спостерігаються п'ять стадій. Гранула (початкова структурна одиниця, мінімальна відтворна одиниця, елементарне тільце) спочатку перетворюється на краплеподібну клітину неправильної форми, потім відбувається перерозподіл вмісту цитоплазми — з'являються ущільнені локальні фокуси. З останніх поступово утворюються нові гранули. Процес повторюється доти, поки у живильному середовищі є відповідні умови.

Розмір окремих клітин мікоплазм коливається у значних межах—від надзвичайно дрібних— 70—100 нм до середніх — 200—500 нм і досить великих.

Ниткоподібні клітини можуть досягти 8—10 мкм. За структурою мікоплазми однотипні. У них відсутня ригідна клітинна стінка. Є лише мембрана товщиною близько 75 Å.

Геном представлений однією молекулою ДНК. Нуклеотидний склад її характеризується порівняно з бактеріями невеликим вмістом гуаніну і цитозину. В цитоплазмі клітин розміщені рибосомоподібні гранули — структури розміром близько 140 Å, які містять РНК. У мікоплазм виявляють також внутрішньоцитоплазматичні мембранні структури, що мають відношення до

енергетичного обміну.

Хімічний склад мікоплазм складний. Вони містять, крім згаданих вище нуклеїнових кислот, білки, ліпіди, вуглеводи, мінеральні речовини.

Мікоплазми не утворюють спор, не мають джгутиків. Більшість їх нерухливі. Проте зустрічаються види, що здатні до так званого ковзаючого по поверхні переміщення (руху). Клітини видів мікоплазм, що мають спіралеподібну форму, здатні, вигинатись, обертатись та рухатись вперед.

У деяких видів виявляють капсули ліпідної, полісахаридної або ж ліпополісахаридної природи.

Фарбуються мікоплазми погано. Грамнегативні, за винятком представників роду спіроплазм. Для фарбування їх розроблені спеціальні методики на основі фарби Романовського-Гімза. Широко використовують вітальне фарбування цих мікроорганізмів за методом Дінеса.

Культуральні властивості. Більшість видів мікоплазм – факультативні анаероби. Проте є аероби та obligatні анаероби.

Різноманітні вони також і за температурним оптимумом: крім мезофілів, зустрічаються як психрофіли, так і термофіли. Більшість патогенних для людини та тварин видів мікоплазм належать до мезофілів. Оптимальний показник рН середовища для різних видів мікоплазм коливається у межах 7,2—8,0. Проте деякі види потребують іншого рН середовища. Так, представники роду термоплазм найкраще розвиваються при рН 1—2. Культивують мікоплазми на спеціальних живильних середовищах. Зокрема, широко використовують середовища, виготовлені на основі хотингерівського ферментативного гідролізату тканини серця великої рогатої худоби та мартенівського — стінки шлунка свині. При культивуванні більшості патогенних мікоплазм у живильне середовище вносять 10—20 % сироватки крові коня, вівці чи іншої тварини, екстракт з дріжджів, інколи витяжки з тих органів і тканин, у яких локалізується мікоплазма — збудник захворювання. Розроблені й складніші живильні середовища, які містять добавки розчинних солей нуклеїнових кислот або їх попередників, амінокислоти, вітаміни.

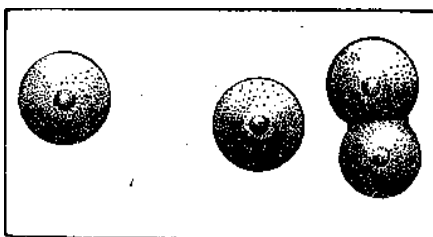
З метою пригнічення можливого росту сторонніх мікроорганізмів до середовища часто додають пеніцилін, ацетат талію. Зрідка мікоплазми культивують на курячих ембріонах, що розвиваються, у клітинних культурах.

Патогенні мікоплазми погано адаптуються до умов вирощування. Нерідко доводиться здійснювати 3—5 «сліпих» пасажів перш ніж з'явиться помітний ріст їх на живильному середовищі.

Характерною особливістю мікоплазм є утворення ними своєрідних колоній на щільному живильному середовищі. За формою вони круглі. Центральна частина колоній ущільнена, глибоко вростає у середовище. Периферійна частина тоненька, розміщена на поверхні середовища. Колонії мікоплазм більшості видів мають вигляд засмаженого на сковороді курячого яйця. Вони дрібні, ледь помітні неозброєним оком, діаметром 0,1—1,0 мм. Зустрічаються і значно менші. Так, T-мікоплазми утворюють колонії, діаметр яких не перевищує 50 мкм. Поверхня їх може бути дрібнозернистою, майже гладенькою, або навпаки, крупнозернистою, шорсткою, що залежить від виду мікоплазми та інших факторів. Більшість мікоплазм утворює безбарвні прозорі колонії, проте є й такі, що формують колонії з коричневим відтінком.

У рідкому середовищі ріст мікоплазм, залежно від їх виду, адаптації до умов культивування може проявлятися від ледь помітної опалесценції до інтенсивного помутніння середовища.

Колонії мікоплазм



Деякі мікоплазми утворюють на поверхні останнього тоненьку плівку, інші — осад (пилеподібний, у вигляді пластівців або слизу).

У напіврідкому середовищі мікоплазми формують крихтоподібні ізольовані

колонії або більш-менш гомогенний ріст. Залежно від відношення мікоплазм до атмосферного кисню спостерігається ріст ближче до поверхні, придонний чи по всьому стовпчику напіврідкого середовища.

Біохімічні властивості. Порівняно з більшістю бактерій мікоплазми мають слабку катаболітичну активність, що зумовлює повільний їх ріст на живильному середовищі. За здатністю ферментувати вуглеводи мікоплазми поділяють на ферментативно активні та ферментативно інертні. Перші можуть ферментувати глюкозу, фруктозу, крохмаль, глікоген та інші вуглеводи. Останні вуглеводів не ферментують, вони окислюють лактат і глутамат.

Зустрічаються мікоплазми з ознаками ліполітичної та протеолітичної активності. Виявляють також штами деяких видів мікоплазм, здатних розщеплювати нуклеїнові кислоти. Уреаплазми розщеплюють сечовину.

Антигенна структура. Мікоплазми характеризуються складною антигенною структурою. Вони можуть мати видову та варіантну антигенну специфічність, які виявляють за допомогою РА, РЗК, РПГА та інших серологічних реакцій. Між різними видами мікоплазм інколи виявляються антигенні зв'язки. Антигенна активність більшості мікоплазм порівняно слабка, що потрібно враховувати при виготовленні біологічних препаратів та розробці схем імунізації тварин.

Патогенність. Серед мікоплазм зустрічаються сапрофіти, коменсали та паразити. Патогенні мікоплазми здатні тривалий час перебувати в організмі, зумовлюючи хронічний перебіг захворювання або латентну інфекцію. Однією з причин цього вважається те, що вони є досить слабкими антигенами. Фактори вірулентності у мікоплазм вивчені недостатньо. Лише у деяких видів виявлені фактори інвазивності чи токсичності. Так, у збудника респіраторного мікоплазмозу птиці виявлено екзотоксин нейрогенної дії. Ряд видів мікоплазм екскретують гемолізину. У збудника інфекційної плевропневмонії великої рогатої худоби виявлено галактан — речовину, надзвичайно подібну до ендотоксину грамнегативних бактерій. Основні види мікоплазм — збудників захворювань сільськогосподарських тварин — наведено нижче:

Збудник

Хвороба

M. mycoides subsp . *mycoides* Контагіозна плевропневмонія великої рогатої худоби

M. bovirhinalium Запалення статевих органів у великої рогатої худоби, мастити

M. bovirhinalis Бронхопневмонії у телят *M. agalactiae*
bovis Мастити у корів

M. mycoides var *capri* Плевропневмонія кіз *M. agalactiae*
Агалактія овець і кіз *M. hyorhinalis*
Артрити, серозити свиней *M. hyorhinalis*

(*suipneumoniae*) Ензоотична пневмонія свиней *M. gallisepticum*
Респіраторний мікоплазмоз птиці

M. meleagridis Мікоплазмоз індиків *M. anatis* Мікоплазмоз качок

Резистентність. Більшість мікоплазм термолабільні. При 60 °С вони гинуть протягом 10—15 хв. Надзвичайно чутливі мікоплазми до висушування. Під дією більшості дезинфікуючих речовин у загальноприйнятих концентраціях, а також під дією сучасних мийних засобів (мила, мильні порошки) мікоплазми гинуть. Чутливі вони до антибіотиків тетрациклінового ряду, резистентні проти сульфаніламідних препаратів і особливо антибіотиків пеніцилінового ряду.

3

Збудник **контагіозної** **плевропневмонії** **великої** **рогатої худоби**
(*Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides*) (

Контагіозна плевропневмонія (перипневмонія, повальне запалення легень — ПЗЛ) — інфекційне захворювання великої рогатої худоби. Характеризується крупозним запаленням легень, плевритом, розвитком анемічних некрозів (секвестрів) у легенях. Захворювання було значно поширене у минулому столітті та

на початку нинішнього. На території колишнього СРСР ліквідоване в 1928 р. Реєструють його в країнах Африканського континенту, в Азії, спорадичні спалахи спостерігаються також у країнах Європи.

Збудник — *Mycoplasma mycoides subsp. mycoides* (*Micromyces* | *peripneumoniae bovis*, *Asterococcus mycoides*), відкритий французькими дослідниками Нокаром і Ру у 1898 р., детально вивчений Борелем (1910).

Морфологія. Збудник надзвичайно поліморфний. У мазках з культури та патологічного матеріалу має вигляд коків, диплококів, дисків, кілець, зірок, тоненьких розгалужених ниток. Розміри окремих клітин 0,2—0,8 мкм. Довжина ниткоподібних клітин може перевищувати 200 мкм. Грамнегативний. Фарбується, за Романовським— Гімза, карболізованим розчином анілінових фарб.

Культуральні властивості. Росте в аеробних умовах. Оптимальна для розвитку температура 37—39°C, pH —7,0—8,0.

Культивується на спеціальних живильних середовищах — мартенівському бульйоні та агарі з додаванням 10 % дріжджового екстракту та 10—15 % сироватки крові коня, середовищах ВІЕВ, Едварда, Турнера та ін.

В бульйонній культурі ознаки росту виявляють на 2—3-тю добу інкубації у вигляді ледь помітної опалесценції, а при струшуванні пробірки — у вигляді муарових хвиль.

На агарі утворює типові для мікоплазм колонії 0,5—1 мм в діаметрі. Спочатку вони прозорі, пізніше набувають коричневого відтінку, втрачаючи прозорість. На кров'яному агарі навколо колоній виявляють зону гемолізу.

Біохімічні властивості. Ферментує глюкозу, мальтозу, левульозу, маніт, декстрин та крохмаль. Утворює сірководень.

Антигенна структура. При вивченні усіх відомих штамів збудника антигенних відмінностей не виявлено. *M. mycoides subsp. mycoides* має спільні антигени з *M. bovis genitalium*, стрептококами серологічної групи К та деякими пневмококами.

Резистентність. У патологічному матеріалі, що розкладається, може виживати до дев'яти діб, в замороженому — від кількох місяців до року. Під

впливом прямих сонячних променів гине протягом 5 хв. У підігрітій до 58 °С бульйонній культурі гине протягом години.

Збудник чутливий до дезинфікуючих речовин. Формалін, гідроксид натрію, хлорне вапно у загальноприйнятих концентраціях знешкоджують його протягом 3—4 год. Чутливий до тетрацикліну, стрептоміцину, лівоміцетину, резистентний проти пеніциліну.

Патогенність. *M. mycoides s. mycoides* патогенна для великої рогатої худоби, овець, кіз, зебу, бізонів, яків, буйволів, верблюдів, антилоп, північних оленів.

В умовах експерименту вдається заразити кролів. Нечутливі люди, коні, свині, верблюди, птахи. Фактори патогенності вивчені недостатньо. З поверхневих структур збудника:

виділена токсична субстанція — галактан, який за дією на організм тварини подібний до ендотоксину грамнегативних бактерій.

Джерелом інфекції є хворі та перехворілі тварини. Останні можуть бути бактеріоносіями до 12 міс. Хворі виділяють збудника з бронхіальним слизом, сечею, молоком, інколи з навколоплідною рідиною. Зараження відбувається головним чином повітряно- крапельним шляхом. До швидкого його поширення призводять скупчене утримання тварин, антисанітарія, ослаблена резистентність організму.

Потрапивши в організм тварини, збудник спочатку розвивається на слизових оболонках бронхів і бронхіол, потім проникає в паренхіму легень, лімфатичні вузли. Внаслідок виділення токсичних продуктів порушується нервово-трофічна функція тканини. Проникаючи у кров'яне русло, токсини зумовлюють загальну реакцію з боку організму тварини. По ходу кровоносних і лімфатичних судин легеневої тканини, а також у місцях доторкання сполучної тканини з паренхімою легень нагромаджується велика кількість фагоцитів та клітинного детриту. Поступово закупорюються альвеоли. Процес може завершитися інкапсуляцією уражених ділянок або поширитися далі» В останньому випадку розвивається крупозна пневмонія. Уражуються інтерстиціальні та бронхіальні лімфатичні вузли, плевра. Спостерігається інкапсуляція вогнищ некрбзу й утворення секвестрів.

Патологоанатомічні зміни в легеневій тканині класифікують як гепатизацію

різного ступеня. На розрізі легень уражені ділянки мають характерний «мармуровий» вигляд. Якщо збудник проникає у кров'яне русло і розноситься по всьому організму, дегенеративні зміни виявляють також у серці, нирках, печінці. Перебіг захворювання буває надгострим, гострим, напів гострим та хронічним.

Надгострий перебіг характеризується раптовою появою клінічних ознак захворювання і швидким їх розвитком. Підвищується температура тіла, втрачається апетит, з'являється задишка, кашель і тварина протягом тижня гине.

Гострий перебіг захворювання характеризується повільнішим розвитком клінічних ознак. Смерть тварин настає через 2—4 тижні після прояву клінічних ознак.

Напівгострий та хронічний перебіги характеризуються ще повільнішим розвитком процесу. В останньому випадку спостерігаються ремісії, тварина хворіє кілька місяців і гине головним чином від виснаження.

Інколи буває атиповий перебіг захворювання: короткочасне погіршення апетиту, кашель, гарячка. Тварини швидко одужують.

Діагностика. Лабораторна діагностика ґрунтується на проведенні мікоплазмалогічного та серологічного досліджень.

В лабораторію надсилають плевральний ексудат, шматочки уражених легень/селезінки, нирок, лімфатичні вузли. Від хворих тварин відбирають у період добре виражених ознак захворювання кров, молоко, сечу.

Спочатку готують мазки, фарбують їх і мікроскопують. Мікроскопія дає змогу виявити поліморфні структури, ідентифікація яких можлива лише після проведення додаткових досліджень.

Висівають матеріал на спеціальні живильні середовища й інкубують в умовах термостата. Щоб знищити сторонню мікрофлору, матеріал перед посівом піддають спеціальній обробці. Для цього готують 20 %-ну суспензію на бульйоні, центрифугують її при 1 тис. об./хв протягом 5—7 хв, а потім фільтрують через мембранні фільтри або обробляють пеніциліном і ацетатом талію. Збудника не завжди виявляють у першому пасажі, тому необхідно здійснювати 2—3 послідовних

пересіви.

Біологічну пробу. ставлять у виняткових випадках. Заражають 2—3 телят 6—8-місячного віку, доставлених з благополучного господарства. їм вводять у ділянці підгрудка інтратрахеально або інтраплеврально ексудат від хворих тварин, або виділену культуру. Спостереження ведуть протягом місяця.

Серологічну діагностику контагіозної плевропневмонії здійснюють за допомогою РЗК. Останнім часом, крім цієї реакції, застосовують також РПГА, РДП, РІФ та ІФА.

Враховуючи результати постановки серологічних реакцій, необхідно мати на увазі, що збудник контагіозної плевропневмонії має антигенну спорідненість із дуже поширеною *M. bovis*.

Для діагностики захворювання запропоновано також шкірну алергічну пробу.

Імунітет. Тварини, які перехворіли, повторно не хворіють. Поствакцинальний імунітет також досить напружений і тривалий. Ще з давніх часів люди вміли запобігати захворюванню. Так, жителі Африки змочували кинджал рідиною з легень вбитої хворої тварини і робили ним розріз шкіри здорової тварини. Бельгійський дослідник Віллемс (1852) пропонував вводити перипневмонійну лімфу в надріз шкіри кінчика хвоста. Луї Пастер пропонував використовувати матеріал не від спонтанно захворілої тварини, а від зараженої експериментально. Однак імунізація нативним матеріалом супроводжувалася ускладненнями. Пізніше були запропоновані культуральні щеплення.

Нині профілактичні щеплення здійснюють живими вакцинами, одержаними з селекціонованих слабовірулентних штамів збудника. Широко застосовують вакцину з східноафриканського штаму ТІ. Препарат вводять у дозі 0,5 мл в кінчик носа або підшкірно в ділянці шиї в дозі 1 мл. Вакцина створює імунітет протягом року.

Розроблені також асоційовані препарати на основі збудника контагіозної плевропневмонії та чуми великої рогатої худоби.

Збудник інфекційної агалакції овець і кіз (*Mycoplasma – agalactiae*).

Інфекційна агалактація овець «і кіз—контагіозне захворювання з ознаками

ураження вим'я, суглобів, органів зору. У вагітних тварин спостерігаються аборти.

Збудник — Mycoplasma -agalactiae. Відкритий Брідре і Донатьє- ном (1923).

Морфологія. Збудник поліморфний. В мазках з культури спостерігаються кулясті, овальні, диско-, кільце- та ниткоподібні клітини розміром 0,25—0,4 мкм. Ниткоподібні форми можуть досягати у довжину 17,5 мкм. Мікоплазма.— грамнегативна. Фарбується за методом Романовського — Гімза та методом Морозова.

Культуральні властивості. Факультативний анаероб. Добре росте в аеробних умовах при температурі 37—38 ° С і рН 7,8—8,0. На мартенівському агарі на 10—12-ту добу інкубації виявляють ледь помітні неозброєним оком типові для мікоплазм за формою колонії. Поверхня їх дрібнозерниста й прозора, центр колоній темніший, глибоко вростає у середовище.

В рідкому середовищі на 3—5-ту добу культивування, виявляють незначну опалесценцію.

Крім мартенівського, використовують також хотингерівське середовище та середовище УНДІЕВ. Останнє готують на основі гідролізату м'ясного фаршу. У ньому містяться автолізат хлібних дріжджів, глюкоза.

Біохімічні властивості. М. agalactiae не ферментує глюкозу, не редукує метиленову синьку, не гідролізує аргінін, не утворює індолу та сірководню, виявляє гемолітичні властивості.

Резистентність. Нестійкий проти фізико-хімічних факторів. При 60 °С гине за 5 хв, —70 °С — за 30 с. Розчини свіжогашеного вапна (20 %-ні), гідроксиду натрію (1—2 %-ні), креоліну, лізолу, формаліну (2 %-ні) вбивають збудника за 2—4 год. В тваринницьких приміщеннях може виживати кілька місяців. Тривалість виживання у зовнішньому середовищі обернено пропорційна температурному показнику об'єкта. При низьких температурах (0—25 °С) вона досягає 6 міс.

Патогенність. У природних умовах хворіють вівці та кози незалежно від віку, статі і породи. Найбільш чутливі тварини, що лактують, та молодняк до 1 року. Порівняно резистентні самці. Лабораторні тварини не захворівають. Надзвичайно чутливі до М. agalactiae курячі ембріони.

Фактори вірулентності не з'ясовані. Джерелом інфекції є хворі тварини та тварини-мік-робоносії, що виділяють збудника у зовнішнє середовище з молоком, калом, сечею, плодовими водами, витіканнями з очей, піхви. Заражаються тварини через шлунково-кишковий тракт або внаслідок проникнення збудника через рани, канал дійки вим'я. Зараження можливі також через кон'юнктиву ока. Збудник проникає в кров'яне русло, розноситься по організму, зумовлюючи генералізований інфекційний процес. Інкубаційний період може продовжуватися від 2 до 24 днів, інколи до 2 міс. Потім підвищується температура тіла, з'являються ознаки маститу, запалення суглобів, ураження очей. У дорослих тварин частіше уражується вим'я, суглоби та очі, у молодняка спостерігають артрити, кератити, інколи запалення легень. Вагітні тварини абортують.

Залежно від локалізації найбільш виражених ознак захворювання розрізняють маститну, артритну, очну, спинномозкову та змішану його форми. Найчастіше спостерігається маститна та змішана форми захворювання. При маститній формі уражується одна чи дві частки вим'я. Спочатку підвищується температура тіла й зменшується моло-ковиділення. Незабаром вим'я збільшується стає напруженим, гарячим, болючим. Молоко набуває голубуватого відтінку, стає водянистим. Пізніше з ураженої частки вим'я виділяється каламутна рідина зі згустками. Вим'я втрачає тургор і атрофується. У стадії поширюється захворювання повільно. Клінічні ознаки його проявляються у 39—40 % тварин.

Діагностика. Лабораторна діагностика ґрунтується на результатах мікоплазмологічного дослідження.

У лабораторію надсилають вміст ураженої частки вим'я, виділення з очей, суглобів, кров. Від трупів—головний мозок, шматочки паренхіматозних органів, лімфатичні вузли, спинномозкову рідину. Матеріал повинен бути абсолютно свіжим. Лише при такій умові вдається виділити збудника.

Спочатку мікроскопують пофарбовані мазки. В позитивних випадках виявляють поліморфні клітини.

Посів здійснюють на спеціальні живильні середовища. Виділити збудника в першому пасажі вдається рідко. Частіше доводиться здійснювати 2—3 послідовних пасажі, а інколи й більше.

Біопробу ставлять на лактуючих козах і козенятах. Патологічний матеріал, звільнений від сторонніх мікроорганізмів за допомогою пеніциліну та ацетату талію або фільтруванням через бактеріальні фільтри, у дозі 5—10 мл вводять підшкірне або в молочну цистерну. Розвиток характерних ознак спостерігається через 2—14 днів після зараження.

Запропоновано також ряд серологічних реакцій (РЗК, РА, РДП) для ретроспективної діагностики захворювання, однак вони не знайшли широкого застосування у практиці.

Імунітет досить напружений, нестерильний. Для створення штучного імунітету використовують живі й інактивовані вакцини, які забезпечують несприйнятливість до захворювання протягом одного року. Широкого застосування набула формолгідроксидалюмінієва вакцина, запропонована М. Фарзалієвим (1949).

Гіперімунні сироватки широкого застосування не набули у зв'язку з незначним їх лікувально-профілактичним ефектом.

5

Збудник респіраторного мікоплазмозу птиці (*Mycoplasma gallisepticum*)

Респіраторний мікоплазмоз птиці (респіраторний, мікоплазмоз курей, інфекційний синусит індиків) — інфекційне з хронічним перебігом захворювання птиці. Характеризується ознаками ураження органів дихання, синовітами, зниженням продуктивності. Захворювання поширене в країнах з промисловим птахівництвом і завдає відчутних економічних збитків.

Збудник *Mycoplasma gallisepticum*—відкритий Нільсоном (1936).

Належить до родини Mycoplasmataceae.

Морфологія. Порівнюючи з іншими видами *M. gallisepticum* найменш поліморфна. В мазках з культури спостерігаються головним чином кулясті клітини. Зустрічаються також паличко-, кільцеподібні та ін. Розмір окремих клітин коливається у межах 0,17—1,4 мкм.

Грамнегативна. Фарбується легко за методом Романовського — Гімза у фіолетовий колір.

Культуральні властивості. Факультативний анаероб. Добре росте в аеробних умовах. Культивується на спеціальних живильних середовищах, зокрема на середовищах Едварда та УНДІЕВ. Останнє готують на основі гідролізату м'ясного фаршу. Воно містить пептон (0,5— 1 %), автолізат дріжджів (1 %), глюкозу (0,5 %), сироватку крові коня (20 %).

На щільному середовищі збудник утворює типові, для мікоплазм колонії— прозорі, з тоненькою периферійною та вростаючою у глибину агару центральною зоною. Діаметр колоній близько 0,1—0,2 мм. Ріст *M. gallisepticum* у бульйоні супроводжується ледь помітною опалесценцією. Культивується збудник також і в курячих ембріонах, що розвиваються.

Біохімічні властивості. Більшість штамів ферментує з утворенням кислоти глюкозу, цукрозу, декстрин, мальтозу. Деякі штами ферментативне інертні. Інколи утворюють індол і сірководень.

Антигенна структура складна. Описано понад 20 серологічних варіантів *M. gallisepticum*, серед яких є як патогенні, так і апатогенні.

За допомогою серологічних реакцій (РА, РЗК, РІФ) встановлено антигенний зв'язок *M. gallisepticum* з рядом мікоплазм інших видів (*M. hominis* 1, 2; *M. pulmonis*, *M. fermentans*, *M. mycoides*, *M. laidlawii*). *Резистентність.* При температурі 2—4 °С *M. gallisepticum* виживає 30—40 діб, інколи понад 3 міс. При мінусових температурах (—25; —30 °С) збудник зберігає життєздатність до п'яти років. Термолабільний — гине за 40 хв при 50 °С. Чутливий до стрептоміцину, тетрацикліну, канаміцину, тіпану, фуразолідону. Гине під впливом хлорного вапна (2 %-ного активного хлору), гідроксиду натрію (2 %-ного), формаліну (2 %-ного).

Патогенність. *M. gallisepticum* патогенна для курей, індиків, цесарок, фазанів, куріпок, перепелів, голубів. Збудник продукує екзотоксин нейротропіної дії. Джерелом інфекції є хвора птиця та мікоплазмоносії.

Мікоплазмоносійство буває довічним. Поширюється інфекція головним чином аерогенним шляхом і трансоваріально. Проникнувши аерогенним шляхом, збудник спочатку розмножується на слизових оболонках верхніх дихальних шляхів, потім проникає в епітелій і глибше, зумовлюючи лімфофолікулярну реакцію у трахеї, легенях, повітроносних мішках. За рахунок проліферації клітин значно потовщується слизова оболонка. В легенях переважають явища продуктивного запалення, в повітроносних мішках розвивається серозне або фібринозне запалення. Основними клінічними ознаками захворювання є розлад функцій органів дихання: задишка, кашель, трахеальні хрипи. Нерідко спостерігають кон'юнктивіти, синусити, артрити. Гарячка відсутня.

Хвороба частіше має хронічний перебіг і часто супроводжується іншими інфекціями.

Діагностика. Для мікоплЗмологічного дослідження в лабораторію надсилають зіскрібки з слизових оболонок гортані, трахеї, головний мозок, шматочки легень, стінки повітроносних мішків. Матеріал відбирають від свіжих трупів. З діагностичною метою бажано забивати птицю з чітко вираженими ознаками захворювання.

Патологічний матеріал суспендують в ізотонічному розчині (1 : 10), за допомогою фільтрів або пеніциліну та ацетату талію звільняють його від сторонньої мікрофлори. Посів здійснюють на спеціальні живильні середовища. Інкують в аеробних умовах при 37—38 °C протягом п'яти днів. Здійснюють не менше п'яти пасажів, мікроскопуючи вміст.

З виділеною культурою збудника ставлять реакцію гемаглютинації (РГА). Патогенні його штами склеюють еритроцити крові курей. Для визначення патогенності заражають також, курячі або індичі ембріони. З цією метою 0,2 мл свіжоізольованої культури вводять в алантоїсну порожнину ембріонів віком дев'ять діб. Звичайно заражають 10 ембріонів, ще п'ять залишають контрольними. М.

gallisepticum зумовлює загибель ембріонів через 48 год після зараження і пізніше. Характерні ознаки уражених ембріонів: відставання у розвитку, артрити, набряки й крововиливи на шкірі голови, тіла, лапок, а також аеросакуліти, пневмонії. Спостереження за ембріонами ведуть до моменту виведення контрольних курчат. Штам *M. gallisepticum* вважається патогенним при умові загибелі не менше 50 % заражених ембріонів. Для прижиттєвої діагностики застосовують реакцію крапельної аглютинації з кров'ю (ККРА) або ж сироваткою крові (СКРА). Реакцію ставлять на предметному склі при температурі 18—20 °С. Краплю крові (сироватки) і краплю антигену (суспензія збудника, інактивованого формаліном, мертиолятом) змішують погойдуванням предметного скла. Результат реакції ураховують протягом 2 хв. В позитивних випадках рідина стає прозорою, антиген склеюється і набуває вигляду дрібних гранул або пластівців.

Для серологічної діагностики захворювання запропоновано також РЗК, РІФ, ІФА, реакцію інгібіції росту.

Імунітет. Перехворіла птиця набуває відносного, частіше нестерильного, імунітету. Для створення штучного імунітету запропоновано ряд живих та інактивованих вакцин. В Україні зареєстрована жива культуральна проти мікоплазмосу птиці вакцина фірми Merial (Франція). Препарат виготовлений на основі штаму TS- 11 *Mycoplasma gallisepticum*. Вакцинують птицю віком 9 тижневого віці і старше. Препарат (1 крапля) наноситься на кон'юнктиву ока. Забороняється вакцинувати курей за 21 добу до забою. За 143 діб до вакцинації антибіотики не застосовують.

Цією ж фірмою запропонована і інактивована вакцина (Галімун НГ) на основі штаму *Mycoplasma gallisepticum*. Препарат виготовлений на основі штаму S 6 *Mycoplasma gallisepticum*, інактивована тіомерсалом, містить масляний ад'ювант. Вакцинують птицю з 8-тижневого віку, ревакцинують за 3 – 4 тижні перед початком вакцинації.

Зареєстровано також інактивовану вакцину германського виробництва на основі штаму S 6 *Mycoplasma gallisepticum*. Застосовують її у 6 – 8-тижневого віці та ревакцинують у 14 – 16- тижневого. Вводиться підшкірно у дозі 0,5 мл.

Збудник ензоотичної пневмонії свиней та псевдомонозу. ЗБУДНИКИ МІКОЗІВ

План

1. Збудник ензоотичної пневмонії свиней
2. Збудник псевдомонозу
3. Збудники кандидамікозу
4. Збудник актиномікозу.
5. Збудник епізоотичного лімфангіту
6. Збудники мікозів та мікотоксикозів

1

Збудник ензоотичної пневмонії свиней (*M. hyorheumoniae*)

Ензоотична пневмонія свиней — інфекційне захворювання поросят. Характеризується ознаками ураження органів дихання. Захворювання значно поширене. Може завдавати свиначеству значних економічних збитків через загибель тварин, відставання у розвитку та рості перехворілих.

Збудник — *M. hyorheumoniae* відкритий двома незалежними групами вчених: у США (Мур, Свіцер, 1965) та в Англії (Гудвін, Уайт, Ляст, 1965).

Крім *M. hyorheumoniae*. захворювання свиней з ознаками ураження органів дихання можуть викликати *M. hyorhinis*, *M. granularum* та ін.

Морфологія. *M. hyorheumoniae* поліморфна. В мазках з культури виявляють кулясті, зірчасті, ниткоподібні та інші форми.

Культуральні властивості. Культивують збудника в аеробних умовах на спеціальних живильних середовищах. Нерідко використовують напіврідке (0,3 %-не), напівщільне (1,3 %-не) середовище та бульйон, виготовлені на основі хотінгерівського відвару серця великої рогатої худоби. Збудник виділити з патологічного матеріалу нелегко. Потрібно здійснити 3—4 «сліпих» пасажі перш ніж з являться ознаки росту його в живильному середовищі. Перший пасаж необхідно провести в мі.кроаерофільних умовах.

На агарі *M. hyorheumoniae* утворює надзвичайно дрібні —20—400 мкм в діаметрі —колонії, у яких, на відміну від інших видів мікоплазм, потовщення центральної частини не буває. Збудник ферментує глюкозу з утворенням кислоти.

Резистентність. У патологічному матеріалі виживає при 2—4 °С близько 6 міс. В умовах тваринницьких приміщень влітку гине протягом кількох днів. Надзвичайно термочутливий — при 50 °С гине миттєво. Збудник нечутливий до пеніциліну, малочутливий до

стрептоміцину, поліміксину, неоміцину. Чутливий до антибіотиків тетрациклінового ряду. *M. hyorheumoniae* гине під дією дезинфектантів у загальноприйнятих концентраціях.

Патогенність. Патогенна лише для свиней. В умовах експерименту вдається заразити поросят-сисунів, вводячи культуру збудника інтраназально або інтратрахеально. Пасажування штамів *M. hyorheumoniae* на штучних живильних середовищах призводить, до швидкої втрати їх вірулентності. Джерелом збудника є хворі та перехворілі тварини, ¹ що виділяють його з часточками слизу під час кашлю або ж чхання, а також з молоком та слизом з піхви. Перехворілі тварини можуть залишатися бактеріоносіями протягом усього життя. Передається збудник поросяткам в основному повітряно- крапельним шляхом. Після проникнення в організм він локалізується в органах дихання, розмножується і зумовлює патологічний процес у легенях. Частіше спостерігається ураження окремих ділянок легень. Уражені ділянки різко відрізняються від неуразених. Вони щільної консистенції, червоного кольору. При гістологічному дослідженні виявляють перибронхіальні та периваскулярні лімфоїдно-моноцитарні інфільтрації. У разі приєднання секундарної інфекції можуть спостерігатися ознаки гнійно-катаральної пневмонії, плеврити, перикардиту.

Перебіг захворювання може бути напівгострим та хронічним. У першому випадку клінічні ознаки виражені близько двох тижнів, в останньому —місяць і довше. Летальність становить від 2 до 10 %. В разі виникнення секундарних інфекцій вона може різко зрости.

Діагностика. В лабораторію доставляють легені від трупів тварин. З уражених ділянок готують 10 %-ну суспензію на фосфатно- буферному розчині (рН 7,2), що

містить 500 ОД/мл пеніциліну та 100 ОД/мл стрептоміцину. Після 12—18-годинного витримання в умовах холодильника (+4 °С) здійснюють контрольні висіви на МПБ, МПА та середовище Кіта —Тароці з метою виключення сторонньої мікрофлори та на спеціальне середовище для виділення мікоплазм. Інкубацію здійснюють в мікроаерофільних умовах. В разі відсутності ознак росту в першому пасажі здійснюють ще 2—3 пасажі. Остаточну ідентифікацію виділених штамів проводять за допомогою серологічних реакцій; реакція інгібіції росту мікоплазм, РЗК та ін.

Ретроспективну діагностику ензоотичної пневмонії свиней здійснюють за допомогою РЗК, РА, ІФА. Однак широкого застосування у практиці ветеринарної медицини вона не набула.

Імунітет. Перехворілі тварини набувають імунітету проти захворювання. У їх крові виявляють комплементзв'язуючі, преципітуючі та аглютинуючі антитіла. В Україні зареєстровано вакцину розроблену у США на основі *M. hyorhynchopneumoniae*. Перпарат інактивований. Поросят вакцинують з 5 – 7-денного віку. Вводять вакцину двічі з інтервалом 2 – тижні. Свиноматок вакцинують за 6 та ревакцинують за 2 тижні до опоросу. Кнурів вакцинують двічі на рік. Імунітет настає через 10 – 15 діб після повторного введення препарату і триває не менше 6 міс.

2

Збудник псевдомонозу (синьогнійної інфекції)

Синьогнійна інфекція зустрічається переважно у новонародженого молодняка багатьох видів тварин, у якого вона характеризується явищами септицемії і ураженням шлунково- кишкового тракту. При контамінації сперми збудником цієї інфекції можуть виникати аборти, ендометрити, вагініти. Синьогнійна інфекція досить небезпечна для людей, у яких вона є причиною дерматитів, ранового опікового сепсису, панoftальміту, ентериту й пневмонії.

Збудник — *Pseudomonas aeruginosa* — вперше виявлений в 1862

р. А. Люкке, а в чистій культурі виділений в 1882 р. К. Жессаром.

Морфологія. *Ps. aeruginosae* — поліморфна, рухлива (монотрих), з заокругленими кінцями паличка величиною $1\text{—}3 \times 0,5\text{—}0,7$ мкм, яка не утворює спор і капсул, фарбується негативно за Грамом, в мазках розміщується поодинокі, попарно й короткими ланцюжками.

Культуральні властивості. Мікроб добре розвивається на звичайних середовищах. Факультативний аероб. На МПА утворює плоскі, округлі, ослизлі колонії середньої величини, які частіше зливаються в суцільне нашарування синьо-зеленого кольору за рахунок продукування-збудником двох основних пігментів: синього - піоціаніну та жовтувато-зеленого — флуоресцеїну. В МПБ спостерігається помутніння, на поверхні середовища з'являється тонка плівка, на дні пробірки — ослизлий осад, який при струшуванні важко розбивається. Пігменти *Ps. aeruginosae* водорозчинні, у зв'язку з чим бульйон набуває відповідного забарвлення. Культури виділяють ароматичну речовину триметиламін, яка має запах, що нагадує запах жасмину.

Біохімічні властивості. *Ps. aeruginosae* розріджує желатин і сироватку, що зсілася, пептонізує молоко, не утворює індолу, сірководню продукує мало, ферментує до кислоти без газу глюкозу, галактозу, арабінозу, ксилозу. У зовнішнє середовище виділяє ряд інших ферментів, таких як амілаза, глікогідролаза, естераза, протеїназа, антибіотикоподібні сполуки типу бактеріоцинів і деякі інші речовини, які відносять до феназинів.

Стійкість. *Ps. aeruginosae* значно поширена у природі. Вважають, що ґрунт, вода, поверхня рослин є природним середовищем, де мікроб веде звичайний спосіб життя. Його виявляють також на поверхні шкіри та слизових оболонок багатьох видів тварин і людей. В стічних водах збудник виживає до року, в ґрунті і на різних предметах — до 1,5 року. До високої температури дуже чутливий і при кип'ятінні гине миттєво. Робочі розчини хлорного вапна, гідроксиду натрію, хлоргексину знищують синьогнійну паличку через 30 хв, проте вона виявилася резистентною проти формаліну, бромополу, фомосепту і деяких інших дезинфектантів.

Антигенна структура збудника неоднорідна. Виявлено 17 О- сероварів з підгрупами, які позначають порядковою цифрою і відповідно малою літерою латинського алфавіту. Крім О-сероварів, у *Ps. aeruginosae* виявлені Н-серовари, які поділяють ще на групи й підгрупи.

Патогенез. *Ps. aeruginosae* відрізняється значною агресивністю в організмі. Мікроб має галактозо- і манозофільні пілі, які сприяють його адгезії (прилипанню) до поверхні епітеліальних клітин. У місцях колонізації за рахунок глікокаликсу формуються мікроколонії збудника з поверхневою біоплівкою, яка захищає збудника від клітинних і гуморальних механізмів імунітету організму. Одночасно глікокаликс допомагає мікробу за участю екстрацелюлярних ферментів-токсинів руйнувати тканини і поширюватися в організмі. Синьогнійна паличка синтезує два токсини: термолабільний екзотоксин А і термостабільний екзофермент S, які характеризуються некротизуючими властивостями, здатні пригнічувати імунну відповідь, що має зв'язок з Т-лімфоцитами. Мікроб продукує не менше двох гемолізинів, які руйнують ліпідні лецитин, що призводить до некрозу тканини. Ендотоксин, який звільняється після розпаду клітин збудника, є причиною гарячки, гіпотензії, олігурії, лейкопенії.

Діагностика. Для бактеріологічного дослідження у лабораторію відправляють рановий ексудат, кров, трубчасту кістку, внутрішні органи, сперму, корми, воду, деякі інші матеріали. Культуру збудника виділяють за допомогою звичайних середовищ, а її ідентифікацію здійснюють за характерними ознаками росту, морфологічними та біохімічними даними, а також шляхом постановки РА з діагностичними О-аглютинуючими сироватками.

Вірулентність виділених культур підтверджують біопробами на білих мишах, або курчатах, яких заражають в порожнину Очеревини відповідно в дозах 100—300 млн мікробних клітин добової агарової культури на фізіологічному розчині.

Імунітет. У системі захисту організму від синьогнійної інфекції основна роль належить антитілам, фагоцитам і комплементу, які в певній мірі блокують адгезію збудника, перешкоджають його колонізації та десимінації.

Для специфічної профілактики псевдомонозу норок використовують полівалентну формолвакцину. В медицині для лікування синьогнійної інфекції застосовують гомологічні та гетерологічні гіперімунні сироватки та гамма-глобуліни.

Література:

Определитель бактерий Берджи /Дж. Хоулт, Н.Криг, П.Снит, Дж.Стейли, С.Уилльямс.-9-е издание. В двух томах.-М.: Мир, 1997.

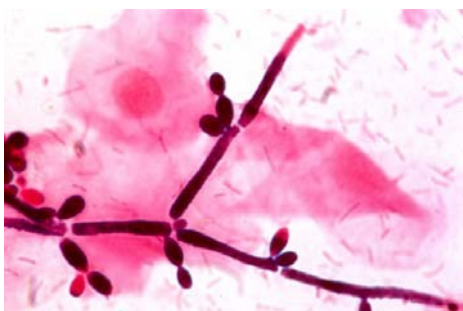
3

Збудники кандидамікозу

Кандидамікоз – захворювання тварин і людини, характеризується ознаками ураження слизових оболонок органів травлення, статевих, та зрідка і внутрішніх органів.

Збудники – гриби з роду *Candida*: *C. albicans* (основний збудник кандидозу у людини і птахів), *C. tropicalis* та *C. krusei* (звичайно вражають велику рогату худобу), *C. stoffii* – частіше вражає свиней

Морфологія. Кандіди – **одноклітинні дріжджеподібні гриби**. На відміну від справжніх дріжджів, вони не утворюють аски. Бластоспори розміром 2-5 мкм мають округлу або довгасту форму. Здатні утворювати **псевдоміцелії** із 5-6 витягнутих клітин. На живильних середовищах може формувати справжній міцелій.



Культуральні властивості. Аероби. Оптимальними є температура в межах 21 – 27 °С, рН – 6 – 6,5, Ростуть на агарі Сабура, сусло-агарі та інших середовищах. Утворюють колонії розміром близько 1 см. Колонії білі, іколи з кремовим відтінком.

У рідкому живильному середовищі формують пристіночний ріст у вигляді кільця та помірний осад.

Стійкість. У воді і ґрунті може зберігатись від 3- місяців до року. Чутливі до препаратів йоду, брильянтової зелені, формаліну.

Патогенність. Кандиди є представниками нормальної мікрофлори. Проте, в разі порушення співвідношення різних видів мікроорганізмів у мікробіоценозі, вони здатні обумовити запальний процес. Це ж спостерігається і при втраті належної резистентності збоку макроорганізму. Часто причиною виникнення кандидозу є неконтрольоване застосування антибактерійних засобів, зокрема антибіотиків. У вищезазначених випадках кандиди здатні проникати у слизові оболонки, досягати підслизового шару. При цьому виникає запалення, спостерігається некроз тканини. Інколи гриби проникають у кров і лімфу та розносяться по організму. У внутрішніх органах можуть утворюватись гранульоми. В результаті інтенсивного розмноження гриба, утворюється велика кількість токсичних речовин, що є причиною інтоксикації організму та появи пов'язаних з нею ознак ураження серця, печінки, нирок, нервової системи. У тварин діагностують гастроентерити, вагініти, метрити. Бувають також пневмонії, аборти.

Діагностика. Визначальне значення у діагностиці кандидозів належить лабораторним методам. В лабораторію надсилають зіскоби з уражених слизових оболонок, молоко з уражених долей вим'я, шматочки внутрішніх органів з гранульомами. Готують мазки, фарбують їх за Грамом, Ціль-Нільсеном, Романовським-Гімзою. У позитивних випадках спостерігають короткі нитки псевдоміцелію, зрідка – переплетений справжній міцелій, дріжджеподібні клітини.

Імунітет недостатньо вивчений. Перетворювання на кандидоз не забезпечує несприйнятливості до збудника хвороби.

4

Збудник актиномікозу.

Актиномікоз - хронічне неконтагіозне захворювання тварин, що характеризується утворенням специфічних гранульом – актиноміком.

Збудник – *Actinomyces bovis* (*Nocardia bovis* , *Streptotrix bovis*) належить до класу *Actinomycetes*, порядку *Actinomycetales*, роду *Actinomyces*.

Широко розповсюджений у природі. Часто паразитує на злакових рослинах.

Частіше вражає велику рогату худобу, дещо рідше свиней, інколи коней, овець, м'ясоїдних, кролів. Зараження відбувається через контамінований збудником переважно грубий корм, здатний травмувати слизову оболонку. Можливе зараження і під час оперативного втручання або ж після нього (наприклад після кастрації тварин).

Збудник з трудом культивується на живильних середовищах. Зазвичай використовують збагачені кров'яною сироваткою, декстрозою, глюкозою та гліцерином середовища, виготовлені на основі м'ясної води. Оптимальні показники рН середовища – 7,3 – 7,6. Посіви інкубують при 37°C в анаеробних чи аеробних умовах. Збудник росте повільно. Колонії дрібні , 0,5 – 3 мм, мають вигляд грудочок білого інколи з жовтуватим відтінком . При культивуванні в аеробних умовах утворює колонії до 4 мм в діаметрі з втиснутими в агар краями і нерівною поверхнею. При мікроскопії зроблених з колоній препаратів виявляють грампозитивні палички чи переплетені ниткоподібні форми.

Патогенез. Збудник проростає у місці проникнення та обумовлює запальний процес , який супроводжується утворенням гранульом з ознаками ексудативно-гнійного та проліферативного процесів. Унаслідок дегенеративних процесів в центрі гранульоми формується, звичайно, гнійний фокус, по периферії якого розташована гранулятивна зона. Грануляційна тканина поступово перетворюється на фіброзну.

Процес завжди хронічний, триває кілька місяців а то й кілька років. Гранульоми розташовуються переважно в ділянці голови, на рівні кутів нижньої щелепи та привушної слинної залози , або ж у вентральній ділянці передньої третини ший. Інколи вражаються язик, кістки нижньої щелепи, під щелепові лімфатичні вузли, дуже рідко – глотка, стравохід, шлунок, кишки, органи дихання, вим'я, сечостатеві органи. У свиней частіше вражається вим'я, коней актиномікоз може виникати як ускладнення після кастрації

Діагностика. Ґрунтується на основі аналізу клінічних ознак та перебігу хвороби, а також лабораторних досліджень. В лабораторії досліджують гній, що виділяється із актиноміком, а також відібрані змінені (гранулематозні) тканини.

У позитивних випадках знаходять друзи – дрібні сіруваті зерна. Їх промивають дистильованою водою і переносять на предметне скло у краплю 10 – 20%-ного луґу, витримують протягом 15хв та наносять краплю 50%-ного гліцерину і накривають покривним склом і досліджують за допомогою мікроскопу. При малому збільшенні мікроскопа друзи має такий вигляд: щільний гомогенний центр від якого відходять радіально колоподібні структури. При середньому збільшенні можна розгледіти тонкий несептований міцелій. В принципі цього достатньо, щоб поставити заключний діагноз на актиномікоз.

Імунітет вивчений недостатньо. Не дивлячись на наявність специфічних преципітинів, аглютининів та комплементзв'язуючих антитіл, тварини можуть захворювати на актиномікоз повторно.

5

Збудник епізоотичного лімфангіту. Епізоотичний лімфангіт - хронічне захворювання однокопитних, що характеризується гнійним запаленням лімфатичних судин шкіри і підшкірної клітковини та регіонарних лімфовузлів.

В літературі хвороба була описана також під назвами африканський сап, бластомікоз та гістоплазмоз.

Збудник – *Histoplasma farciminosus* (*Cryptococcus farciminosus*).

Гриб має септований міцелій. В уражених грибом тканинах міцелій розпадається на спори (криптококи) . В препаратах з патологічного матеріалу має вигляд овальних яйцеподібних з двоконтурною оболонкою клітин розміром 2,5 – 4 мкм, що брунькуються. У їх цитоплазмі виявляють включення у вигляді зерен та паличок. .

Вирощений у культурі гриб характеризується утворенням відносно товстих міцеліальних септованих структур та численними хламідоспорами , діаметр яких складає 6 – 10,5 мкм. Культивують його на спеціальних живильних середовищах при

в атмосфері 10 - 15% CO₂. Зазвичай використовують агар Сабуру чи кров'яний агар. Збудник росте повільно (15 – 20 діб), утворюючи колонії у вигляді сіро-жовтих нашарувань, яке згодом стає щільним, складчастим та набуває жовтувато-коричнювого забарвлення.

Патогенність. *Histoplasma farciminosus* патогенний для коней, мулів, віслуків, менш патогенний для верблюдів. Зафіксовані випадки захворювання і великої рогатої худоби. Для лабораторних тварин непатогенний.

Зараження відбувається через контаміновані предмети догляду, ґрунт. Сприяють захворювання незадовільні умови утримання тварин, травми. Збудник проникає у шкіру обумовлюючи запальний процес, що характеризується утворенням вузликів і гнійних фокусів розміром з просяне зерно – горошину, які в подальшому розсмоктуються чи інкапсулюються. В разі незадовільної резистентності тваринного організму збудник проникає у підшкірну клітковину та обумовлює запалення з утворенням більш крупних специфічних уражень – формуються гнійні фокуси розміром від лісового горіха до гусячого яйця. Останні розриваються і на їх місці утворюються виразки, які зливаючись формують обширні місця ураження у шкіри, слизових оболонках органів дихання, ротової порожнини, статевих органів. Уражаються регіони лімфатичні вузли. Вони збільшуються, стають болючими. Збудник може проникнути у кров та обумовити генералізацію процесу. Що призводить до утворення гнійних фокусів у внутрішніх органах, сепсису і смерті. Летальність сягає 20 – 50%.

Імунітет активно формується. Тварини, що перехворіли, повторно не захворюють. Засоби специфічної профілактики не розроблені.

6

Збудники мікозів та мікотоксикозів

Захворювання грибної етіології широко розповсюджені та завдають тваринницькій галузі суттєвих економічних збитків. Збудники деяких з них патогенні також і для людини. Захворювання грибної етіології поділяють на дві групи: мікози та мікотоксикози.

Мікози – це захворювання, обумовлені патогенними грибами, що паразитують в організмі. В процесі життєдіяльності вони екскретують ряд факторів, що пошкоджують тканини. Мікотоксикози обумовлюються токсинами (мікотоксинами), які можуть накопичуватись у кормі під час розмноження деяких видів грибів. Переважна більшість мікозів заразні. Мікотоксикози ж напакі, від хворої до здорової тварини не передаються ні під час прямих контактів ні опосередковано.

Збудники дерматомікозів. Дерматомікози – захворювання грибної етіології, основними ознаками яких є ураження шкіри. В залежності від виду грибів-збудників розрізняють трихофітію, мікроскопію та пашу (фавус). Перші два захворювання надзвичайно подібні, тому називають їх стригучим лишаєм.

Збудники трихофітії – гриби роду *Trichophyton* (*Trichophyton faviforme*, (syn.*Trichophyton verrucosum*), *Trichophyton gypseum* (syn.*Trichophyton mentagrophytes*), *Trichophyton equinum*, *Trichophyton Sarcisovi*

Морфологія Морфологічні ознаки грибів в патологічному матеріалі та на поживних середовищах різні. В ураженій шкірі гриби знаходяться поряд з цибулиною волосини або ж проростають у волосину. В останньому випадку міцелій їх лежить прямими рядами вздовж волосини. Спори гриба круглі або овальні (3 – 8 мкм). При мікроскопії гриба, вирощеного на живильному середовищі, спостерігають септований міцелій, конідії (2 – 5 х 1,5 – 2,0 мкм.), виявляють також хламідоспори та розміщені ланцюжками артроспори.

Культуральні властивості. Гриби роду *Trichophyton* аероби, ростуть при температурі 23 – 30⁰С на спеціальних живильних середовищах (агар Сабуро, суцільно-агар та ін.), утворюючи колонії. Колоїї гриба *Trichophyton faviforme* шкірянисті, горбкуваті, складчасті, інколи оточені борошнистою зоною, формуються на 10 – 30 добу після посіву. Колонії гриба *Trichophyton gypseum* на агарі Сабуро білі, борошнисті, інколи з помітним гудзикоподібним підвищенням у центрі,

з'являються на 4 – 5 добу культивування, на сусло-агарі – колонії білі, бархатисті, плоскі.

Стійкість. В уражених волосинах можуть залишатись життєздатними до 7 років, у гною – до 8 місяців. У воді, що кипить, гриби гинуть протягом 2 хвилин, при 60⁰С – за 2 год. Розчини гідроксиду натрію (1 – 3%) вбивають їх протягом 20 – 30 хв., розчини формаліну (1 – 3%) – за 15 хв.

Патогенність. Трихофітія діагностується у великої та дрібної рогатої худоби, у коней, хутрових звірів, собак, котів та птахів. Інколи хворіють і люди. Сприйнятливі також лабораторні тварини – морські свинки, миші, пацюки. *Trichophyton faviforme* частіше вражає рогату худобу, зрідка – коней, собак, *Trichophyton gypsum* – хутрових звірів, собак, котів, морських свинок, інколи коней і велику рогату худобу, *Trichophyton equinum* - коней, *Trichophyton Sarcisovi* - верблюдів.

Зараження відбувається при контакті з хворими тваринами, або ж з контамінованими предметами, кормом, обладнання тощо.

Спочатку збудник розвивається у роговому шарі епідермісу, обумовлюючи серозне запалення. При цьому інколи формуються везикули. Згодом гриб утворює спори, які проникають до основи волосяних фолікулів. В епідермісі розвивається геперкератоз. Мальпігієвий шар потовщується. У шарі осте подібних клітин – набряк і вакуолізація. Поступово руйнується внутрішня волосяна піхва, коркова речовина волосини і фолікул. Виникають мікроабсцеси, перифолікулярна гіперемія та клітинна інфільтрація. На місцях ураження волосся руйнується і відпадає – на шкірі утворюються облисілі ділянки. Часто утворюються струпоподібні кірки, просочені клейким ексудатом, що щільно прилягають до шкіри. Інколи збудник поширюється по організму лімфо- та гематогенним шляхом, утворюючи вогнища мікотичних процесів у легенях, печінці, селезінці та інших органах, що може призвести до виснаження та зрідка до загибелі тварини.

Перебіг хвороби хронічний. У великої рогатої худоби після досить тривалого (6 – 30 діб) інкубаційного періоду на шкірі голови, ший, спини, хвоста та ін. з'являються ледь помітні вузлики, на місці яких згодом утворюються різко обмежені

округлі плями, що поступово збільшуються та покриваються струпом. Волосся відпадає. Шкіра у цих місцях потовщується.

Збудники пеніцильозу.

Пеніцильоз – мікоз, що характеризується ураженням шкіри і її похідних, слизових оболонок, внутрішніх органів. Захворюють люди і тварини.

Збудник : *Penicillium glaucum* (зрідка *P. crustaceum*, *P. Notatum*, *P. Citreoroseum* та ін).

Морфологія пеніцил описана у розділі . *Penicillium glaucum* аероб. Культивується на агарі Сабуро, сусло -агарі при температурі 25 – 28°C , утворює борошнисті колонії з різними відтінками – від білувато-жовтого до темно-коричневого.

Патогенність. Пеніцили належать до групи умовно-патогенних мікроорганізмів . Вони здатні при певних умовах проникати у тканини організму, обумовлюючи запальний процес. Заражаються усі види сільськогосподарських і домашніх тварин. Хворіють частіше свині, велика рогата худоба, птиця. Гриби синтезують ряд токсинів, зокрема патулін, ругулозин. Накопичення останніх у кормі призводить до виникнення мікотоксикозу.

Діагностика З тим, щоб встановити діагноз на пеніцильоз необхідно встановити наявність збудника в тканинах. Найбільш переконливі дані отримують при дослідженні гістозрізів, проте можна досліджувати і інший матеріал, зокрема зіскоби з уражених слизових чи шкіри. Важливо виділити збудника та охарактеризувати токсигенні його властивості. Прийнято також ставити біологічну пробу на кролях, морських свинках, пацюках і мишах. Заражають їх підшкірно. У позитивних випадках спостерігають на місці введення формування абсцесу з грануляційною тканиною на його периферії .

При введенні матеріалу внутрішньовенно чи внутрішньочеревно, має місце генералізація інфекції та загибель тварини.

Специфічна профілактика не розроблена.

