

**ЗАКЛАД ВИЩОЇ ОСВІТИ
«ПОДІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ»
ФАКУЛЬТЕТ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ І ТЕХНОЛОГІЙ
У ТВАРИННИЦТВІ**

**КАФЕДРА ГІГІЄНИ ТВАРИН ТА ВЕТЕРИНАРНОГО
ЗАБЕЗПЕЧЕННЯ КІНОЛОГІЧНОЇ СЛУЖБИ НАЦІОНАЛЬНОЇ
ПОЛІЦІЇ УКРАЇНИ**

ВЕТЕРИНАРНА МІКРОБІОЛОГІЯ

НАВЧАЛЬНИЙ ПОСІБНИК



м. Кам'янець-Подільський, 2022

Укладач:

Тетяна СУПРОВИЧ,

завідувачка кафедри гігієни тварин та ветеринарного забезпечення
кінологічної служби Національної поліції України, докторка
сільськогосподарських наук, професорка

*Рекомендовано до друку науково-методичною радою
Закладу вищої освіти «Подільський державний університет»
(протокол № ____ від _____ 2022 р.)*

Рецензенти:

Олександр ГАЛАТЮК,

завідувач кафедри мікробіології, фармакології та епізоотології
Поліського національного університету, доктор ветеринарних наук,
професор

Ігор ПАНІКАР

завідувач кафедри епізоотології, паразитології та мікробіології ім.
професора В.Я. Атамася Одеського державного аграрного університету,
доктор ветеринарних наук, професор

Микола КУХТИН

провідний науковий співробітник лабораторії Тернопільської дослідної
станції Інституту ветеринарної медицини НААН, доктор ветеринарних
наук, професор

Тетяна КАРЧЕВСЬКА

асистентка кафедри інфекційних та інвазійних хвороб Закладу вищої
освіти «Подільський державний університет», кандидатка ветеринарних
наук, доцент

Навчальний посібник «Ветеринарна мікробіологія» для здобувачів
другого (магістерського) рівня вищої освіти спеціальності 211 «Ветеринарна
медицина» / Тетяна СУПРОВИЧ. Кам'янець-Подільський: ЗВО «ПДУ», 2022.
313 с.

У посібнику викладено сучасний теоретичний і практичний матеріали
щодо біологічних властивостей сапрофітних і патогенних мікроорганізмів,
поширення бактерій в об'єктах зовнішнього середовища та роль їх у
виникненні інфекційних захворювань тварин і птиці. Лабораторні роботи
об'єднані в тематичні блоки і включають класичні та сучасні методи
діагностики та ідентифікації збудників інфекційних хвороб.

© ЗВО «ПДУ», 2022

ЗМІСТ

ВСТУП.....	5
НАЙЧАСТІШЕ ВЖИВАНІ СКОРОЧЕННЯ	7
ТЕМА 1. ПРЕДМЕТ «ВЕТЕРИНАРНА МІКРОБІОЛОГІЯ».	
 МОРФОЛОГІЯ ТА БУДОВА БАКТЕРІЙ.....	8
1.1. ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА	8
1.1.1. Мета, предмет і науковий зміст мікробіології. Диференціювання мікробіології на окремі самостійні дисципліни.....	8
1.1.2. Історія розвитку мікробіології як науки	9
1.1.3. Морфологія бактерій	13
1.1.4. Ультраструктура бактеріальної клітини	16
1.1.5. Особливості морфології спірохет, лептоспир, актиноміцетів, мікоплазм, рикетсій, хламідій.....	21
1.2. ПРАКТИЧНА ЧАСТИНА.....	26
1.2.1. Державна лабораторія Держпродспоживслужби та її задачі. Правила роботи в лабораторії з патогенними культурами. Мікроскопи та правила роботи з ними. Морфологія бактерій. Визначення рухливості бактерій	27
1.3. ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ.....	36
1.4. ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ.....	38
ТЕМА 2. СИСТЕМАТИКА ТА НОМЕНКЛАТУРА БАКТЕРІЙ.....	39
2.1. ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА	39
2.1.1. Систематика та номенклатура бактерій.....	39
2.1.2. Характеристика таксонів за дев'ятим виданням Керівництва Бергі з систематики	42
2.2. ПРАКТИЧНА ЧАСТИНА.....	53
2.2.1. Виготовлення і фіксація мазків із культур бактерій та патологічного матеріалу, простий метод їх фарбування. основні фарби і робочі розчини.....	53
2.2.2. Складні методи фарбування мікробів: фарбування за Грамом, методи фарбування спор, капсул та кислотостійких бактерій	56
2.3. ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ.....	59
2.4. ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ.....	61
ТЕМА 3. ВПЛИВ ФАКТОРІВ ЗОВНІШНЬОГО СЕРЕДОВИЩА НА МІКРОБИ	63
3.1. ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА	63
3.1.1. Вплив фізичних, хімічних та біологічних чинників на життєдіяльність мікроорганізмів	63
3.2. ПРАКТИЧНА ЧАСТИНА.....	72
3.2.1. Методи стерилізації та лабораторне обладнання.....	72
3.3. ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ.....	77
3.4. ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ.....	81
ТЕМА 4. ФІЗІОЛОГІЯ МІКРООРГАНІЗМІВ	82
4.1. ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА	82
4.1.1. Конструктивний та енергетичний катаболізм бактеріальної клітини.....	82
4.1.2. Ріст і розмноження бактерій. Культивування бактерій	92
4.2. ПРАКТИЧНА ЧАСТИНА.....	96

4.2.1. Живильні середовища. культивування мікроорганізмів і методи отримання чистих культур.....	96
4.2.2. Культуральні і біохімічні властивості мікроорганізмів.....	100
4.2.3. Визначення активності антибіотиків і антибіотикорезистентності мікроорганізмів.....	106
4.3. ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ	110
4.4. ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ	114
ТЕМА 5. ГЕНЕТИКА І СЕЛЕКЦІЯ МІКРООРГАНІЗМІВ	115
5.1. ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА.....	115
5.1.1. Генетика бактерій.....	115
5.2. ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ	122
5.3. ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ	124
ТЕМА 6. РОЛЬ МІКРООРГАНІЗМІВ У ПЕРЕТВОРЕННІ РЕЧОВИН У ПРИРОДІ	125
6.1. ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА.....	125
6.1.1. Перетворення мікроорганізмами сполук азоту. Розкладання сечовини, сечової та гіпнурової кислот.....	125
6.2. ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ	133
ТЕМА 7. ЕКОЛОГІЯ МІКРООРГАНІЗМІВ.....	134
7.1. ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА.....	134
7.1.1. Поширення мікробів в об'єктах зовнішнього середовища Мікрофлора ґрунту.....	134
7.2. ПРАКТИЧНА ЧАСТИНА	142
7.2.1. Визначення мікрофлори води, повітря, ґрунту.....	142
7.3. ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ	148
7.3.1. Мікрофлора молока та молочних продуктів.....	148
7.3.2. Мікрофлора тваринного організму.....	152
7.4. ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ	155
ТЕМА 8. ВЧЕННЯ ПРО ІНФЕКЦІЮ. ПАТОГЕННІСТЬ І ВІРУЛЕНТНІСТЬ МІКРООРГАНІЗМІВ	156
8.1. ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА.....	156
8.1.1. Загальні відомості про інфекцію та інфекційний процес	156
8.1.2. Роль мікро- і макроорганізмів у виникненні й розвитку інфекційного процесу	157
8.1.3. Способи передачі збудників, форми і ознаки перебігу інфекційних хвороб	161
8.2. ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ	165
ТЕМА 9. ЗБУДНИКИ КОКОВИХ ІНФЕКЦІЙ	166
9.1. ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА.....	167
9.1.1. Патогенні стафілококи.....	167
9.2. ПРАКТИЧНА ЧАСТИНА	175
9.2.1. Лабораторна діагностика стафілококозів та стрептококозів.....	175
9.3. ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ	180
ТЕМА 10. ПАТОГЕННІ ПАЛИЧКОПОДІБНІ АСПОРОГЕННІ БАКТЕРІЇ.....	181
10.1. ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА.....	181
10.1.1. Патогенні ешерихії і сальмонели.....	181

10.1.2. Збудники бешихи свиней і лістеріозу	188
10.1.3. Збудники бруцельозу і пастерельозу	196
10.2. ПРАКТИЧНА ЧАСТИНА	206
10.2.1. Лабораторна діагностика збудників ешерихіозів і сальмонельозів	206
10.2.2. Біологічні властивості збудників бешихи свиней і лістеріозу	211
10.2.3. Лабораторна діагностика бруцельозу і пастерельозу	217
10.3. ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ	220
10.4. ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ	225
ТЕМА 11. ПАТОГЕННІ СПОРОГЕННІ БАКТЕРІЇ	226
11.1. ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА	226
11.1.1. Збудник сибірки	226
11.1.2. Збудники клостридіозів	232
11.2. ПРАКТИЧНА ЧАСТИНА	240
11.2.1. Лабораторна діагностика сибірки	240
11.2.2. ЛАБОРАТОРНА ДІАГНОСТИКА ПАТОГЕННИХ АНАЕРОБІВ	244
11.3. ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ	251
11.4. ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ	256
ТЕМА 12. ПАТОГЕННІ ФУЗОБАКТЕРІЇ	257
12.1. ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ	257
12.2. ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ	260
ТЕМА 13. ПАТОГЕННІ МІКОБАКТЕРІЇ ТА АКТИНОМІЦЕТИ	261
13.1. ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА	261
13.1.1. Збудники туберкульозу	261
13.2. ПРАКТИЧНА ЧАСТИНА	268
13.2.1. Лабораторна діагностика туберкульозу	268
13.3. ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ	273
13.4. ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ	275
ТЕМА 14. ПАТОГЕННІ ВІБРІОНИ І СПІРОХЕТИ	276
14.1. ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА	276
14.1.1. Біологічні властивості збудників кампілобактеріозу	276
14.1.2. Біологічні властивості збудників лептоспірозу	280
14.2. ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ	283
14.3. ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ	284
ТЕМА 15. ПАТОГЕННІ МІКОПЛАЗМИ, РИКЕТСІЇ І ХЛАМІДИ	285
15.1. ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ	285
15.1.1. Мікоплазми	285
15.1.2. Рикетсії і хламідії	288
15.2. ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ	294
ТЕМА 16. ПАТОГЕННІ ГРИБИ – ЗБУДНИКИ МІКОЗІВ	295
16.1. ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ	295
16.1.1. Мікози	295
16.2. ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ	302
ВИКОРИСТАНА ТА РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА	304
СЛОВНИК ТЕРМІНІВ	306

ВСТУП

Навчальна дисципліна «Ветеринарна мікробіологія» є обов'язковою при підготовці фахівців освітнього ступеня «Магістр» за спеціальністю 211- лікар ветеринарної медицини. У посібнику викладено сучасні дані щодо морфології і ультраструктури, систематики, фізіології та екології мікроорганізмів; охарактеризовано біологічні властивості збудників найбільш поширених захворювань тварин. Охарактеризовано фактори патогенності мікроорганізмів, патогенез бактеріальних інфекцій та суть протимікробного захисту. Описані традиційні і сучасні методи лабораторної діагностики та засоби специфічної профілактики.

Навчальний посібник містить 16 тем, в яких висвітлюються фундаментальні основи дисципліни, наведено список рекомендованої літератури, словник основних мікробіологічних термінів та визначень.

За основу побудови посібника взято поділ на загальну та спеціальну мікробіологію. За змістом він відображає усі складові частини курсу та лабораторний практикум з ветеринарної мікробіології і складений таким чином, щоб поєднати теоретичні і практичні знання студентів. Вибраний порядок викладу дозволить здобувачу отримати необхідну інформацію на рівні, необхідному для вивчення курсу.

У посібнику надана вся інформація, яка необхідна для підготовки здобувачів до вивчення даної дисципліни: теоретичний матеріал у відповідності до програми курсу; лабораторний практикум, з методикою визначення біологічних властивостей і ідентифікації мікроорганізмів; контрольні питання з кожної теми курсу; тестові завдання; розділи для самостійного вивчення дисципліни.

У посібнику також представлений ілюстративний матеріал у вигляді рисунків, таблиць, що сприятиме поглибленому вивченню та засвоєнню здобувачами теоретичного матеріалу.

Посібник побудований з врахуванням взаємозв'язку з іншими дисциплінами (цитологією, епізоотологією, імунологією) що робить його, на думку автора, досить інформативним.

Автор сподівається, що посібник допоможе здобувачам отримати знання з даного курсу, оволодіти практичними навичками лабораторної діагностики інфекційних захворювань тварин, умінням узагальнювати, аналізувати й оцінювати результати лабораторних досліджень, що має значення у майбутній професійній діяльності.

НАЙЧАСТІШЕ ВЖИВАНІ СКОРОЧЕННЯ

АТФ – аденозинтрифосфорна кислота
БГКП – бактерії групи кишкових паличок
ВСА – вісмут сульфід агар
ДНК – дезоксирибонуклеїнова кислота
ЖСА – жовтково - сольовий агар
ІФА – імуноферментний аналіз
КА – кров'яний агар
КВА – казеїново-вугільний агар
КТА – кров'яно-телуритовий агар
МПА – м'ясо-пептонний агар
МПБ – м'ясо-пептонний бульйон
МПЖ – м'ясо-пептонний желатин
МСА – молочно-сольовий агар
НАБ – неаглютинуючі бактерії
ПЛР – полімеразна ланцюгова реакція
РА – реакція аглютинації
РЗК – реакція зв'язування комплементу
РМА – реакція мікроаглютинації
СА – сироватковий агар
ШКТ – шлунково-кишковий тракт

ТЕМА 1. ПРЕДМЕТ «ВЕТЕРИНАРНА МІКРОБІОЛОГІЯ». МОРФОЛОГІЯ ТА БУДОВА БАКТЕРІЙ

1.1. ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА

1.1.1. Мета, предмет і науковий зміст мікробіології. Диференціювання мікробіології на окремі самостійні дисципліни

Мікробіологія (від грецьких слів: *micros* – малий; *bios* – життя; *logos* – вчення) – наука, яка вивчає найдрібніші, невидимі звичайним оком живі організми (мікроорганізми).

Мікроорганізми – елементарні організми, які займають найнижчу ступінь розвитку органічного життя. Мікроорганізми широко розповсюджені у природі; особливо багато їх у ґрунті, де завжди є необхідні для життєдіяльності мікроорганізмів поживні речовини та волога. Вода є середовищем, у якому мікроорганізми не тільки зберігаються, але й активно розмножуються. Мікроорганізми мешкають у організмі людини, на слизових оболонках, шкірі, особливо багато їх у травному тракті.

Основними об'єктами вивчення мікробіології є:

1) прокаріоти – доядерні (бактерії, ціанобактерії), найбільш просто організовані, сама багаточисельна група

2) еукаріоти – мають ядро (актиноміцети, цвільові гриби, дріжджі, мікроскопічні водорості),

Мікробіологія вивчає морфологію, будову, обмін речовин та інші фізіологічні функції мікроорганізмів, їх систематичне положення, розповсюдження, роль у природі та у житті людини.

Мікроорганізми поєднують ряд загальних ознак:

– мають надзвичайно малі розміри – від декількох мікрометрів (мкм) до їх часток;

– внаслідок малих розмірів їх вивчають та культивують однотиповими методами;

– більшість об'єктів мікробіології являються одноклітинними організмами, однак зустрічаються і багатоклітинні,

Біологічні особливості мікроорганізмів:

1. Надзвичайно велика швидкість розмноження: за сприятливих умов клітини багатьох бактерій діляться кожні 20-30 хв.;

2. Відносно висока стійкість до впливу факторів середовища;

3. Виключно легка пристосованість до умов навколишнього середовища;

4. Надзвичайно велике різноманіття фізіологічних властивостей, завдяки чому вони можуть використовувати для живлення та одержання енергії практично всі природні сполуки («фізіологічна невідмовленість»).

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

Ветеринарна мікробіологія складається з 2 частин:

1) загальна мікробіологія – вивчає морфологію, фізіологію, розповсюдження та збереження патогенних мікробів в зовнішньому середовищі, генетику мікроорганізмів, патогенність та вірулентність.

2) спеціальна мікробіологія – вивчає властивості збудників інфекційних хвороб тварин, лабораторну діагностику хвороб.

1.1.2. Історія розвитку мікробіології як науки

В історії мікробіології виділяють наступні періоди:

I. Евристичний - 5-3 ст. до н. е. – 16 н.е. – описово-спостережливий;

II. Морфобіологічний (вивчення форми, розмірів, будови прокаріотів);

III. Фізіологічний (пастеризація; дихання, бродіння)

IV. Імунологічний (відкриття гуморального імунітету, створення вакцин проти сибірської язви, винайдення методів ґрунтової і водної мікробіології, відкриття вірусу «тютюнової мозаїки», вакцина проти холери, вакцини проти сказу)

V. Молекулярно-генетичний (50-60-і рр. 20 ст.) (відкриття в області молекулярної біології, генетики, біохімії організмів; поява генної інженерії, біотехнології, інформатики; створення нових методів і наукової апаратури)

I. Процеси, які викликали мікроорганізми, люди знали та застосовували дуже давно. З давніх часів вміли готувати виноградне вино, квас, кумис, кисле молоко, сир та інші продукти. Ще 2000 років назад у стародавній Індії володіли мистецтвом запобігання деяких хвороб. Віспощеплення проводилось

майже так, як і в наші часи. Стародавні єгиптяни силосували корми. Але на протязі багатьох століть причини, які викликають процеси бродіння та виникнення заразних хвороб, залишались невідомими.

Відкриття існування мікробів відбулося лише у другій половині 17 століття, коли з розвитком торгівлі з'явилась необхідність в удосконаленні оптичних приборів для мореплавства і астрономії. Це привело до виготовлення мікроскопу (1617-1619р.). Перше детальне спостереження та описання мікроорганізмів належить голландцю Антону Левенгуку (1632-1723р.). Він описав цвіль на м'ясі, спостерігав живі організми у дощовій воді (форму, розміри, рух). Левенгука вразило існування живих істот в зубному нальоті. Свої спостереження він описує таким чином: «Я бачив



Рис.1.1. А. Ван Левенгук



Рис.1.2. Мікроскоп
Левенгука

в цьому матеріалі багато найдрібніших тварин, які дуже швидко рухаються. В моєму роті їх більше, ніж людей у Об'єднаному Королівстві. Ці живі істоти були кулеподібні, паличкоподібні та звивисті». Свої спостереження А. Левенгук виклав у книзі під назвою «Таємниці природи, відкриті Антоном Левенгуком» (1695). З ім'ям Антона Левенгука розпочався перший період розвитку мікробіології – *морфологічний*. Він тривав до середини 19 століття. На протязі цього періоду були описані різноманітні форми бактерій. Їх навіть пробували систематизувати. Але навіть К. Лінней не зміг розібратися у морфології мікроорганізмів і об'єднав їх усіх в один рід, який назвав «хаос». Він зробив висновок, що не слід дуже заглиблюватись у вивчення невидимого світу, «так як творець, утворюючи його, мав на увазі зберегти цю

область за собою». Мікробам приписувались самі фантастичні властивості. Їх вважали істотами, які здатні діяти на відстані, відроджуватись після смерті. Великий вплив на мікробіологічну науку в цей період надало вчення Ч. Дарвіна, який створив теорію розвитку органічного світу. Ф. Брауель у 1855 р. вперше експериментально довів зараженість палички сибірки. Таким чином, у морфологічний період дослідниками проводилось вивчення тільки зовнішнього вигляду та особливості будови окремих мікроорганізмів і майже зовсім не цікавилися їх фізіологічними властивостями.

З появою дослідних праць засновника науки мікробіології французького вченого Луї Пастера (1822-1895 р.) морфологічний період мікробіології поступово змінюється *фізіологічним*. Перші праці Пастера були присвячені вивченню питань, зв'язаних з бродильною промисловістю. Луї Пастер довів, що кожний тип бродіння (спиртове, молочнокисле, оцтове) має

свого збудника мікроба. Для запобігання скисання Пастер запропонував нагрівання вина до температури 65°C , при якій оцтовокислі бактерії гинуть. Метод нагрівання рідин без доведення їх до кипіння, щоб знищити нестійкі



Рис.1.3. Луї Пастер

бактерії та зберегти смакові якості продукту називали пастеризацією. Цей метод і зараз широко застосовується в народному господарстві. Луї Пастер відкрив мікроорганізми, які живуть без доступу кисню – анаероби. Він довів, що гниття являється біохімічним процесом, який викликають гнильні мікроби та вказав хірургам методи боротьби з мікробами на операціях. Пастер першим запропонував вирощувати мікробів на штучних живильних середовищах. Він також встановив, що заразні хвороби викликають мікроорганізми та що кожне захворювання має свого специфічного збудника. У процесі вивчення етіології інфекційних хвороб він здійснив ще одне важливе відкриття – розробив принципи й методи ослаблення хвороботворних мікроорганізмів. При введенні таких ослаблених культур в організм, вони викликають не захворювання, а лише легку реакцію, в результаті якої виробляється імунітет. Використавши цей метод при курячій холері, сибірці й сказі, Пастер отримав позитивні результати. Саме завдяки його відкриттям виникло й успішно розвивається вчення про антисептику й асептику, без яких немислима сучасна хірургія.

З ім'ям Пастера пов'язаний швидкий розвиток ветеринарної мікробіології. Він здобув вакцини проти сибірки, сказу, встановив збудника бешихи свиней. Пастер перший застосував метод стерилізації у автоклаві. Оскільки Л. Пастер вніс великий вклад в розвиток мікробіології, всю історію мікробіології поділяють на періоди – допастерівський і пастерівський. Пастерівський період характеризується вищим науковим рівнем, застосуванням експерименту, визначенням ролі мікроорганізмів.

Поряд з працями Пастера необхідно назвати праці німецького доктора Роберта Коха (1843-1910р). Він розробив методику виділення чистих культур мікробів, для чого запропонував користуватися щільними живильними середовищами (МПА). Це дозволило швидше виявити та вивчити властивості багатьох збудників інфекційних хвороб. Кох відкрив збудника туберкульозу людини і ВРХ, збудника холери. Він розробив методи дезінфекції, запропонував метод фарбування бактерій аніліновими фарбами (1877р.), розробив метод мікрофотографії. Кох відпрацював методики зараження лабораторних тварин. Таким чином, Роберт Кох заклав основи сучасної методики мікробіологічного дослідження.

IV. Фундаторами в галузі імунології були російський вчений Ілля Мечников (1845-1916 р.) та німецький вчений Пауль Ерліх (1854-1915 р.).

Мечниковим була створена фагоцитарна теорія імунітету, а Ерліхом – гуморальна теорія, за що у 1908 р. вони були удостоєні Нобелівської премії. I.

Мечников перший встановив антагонізм між гнильними та молочнокислими бактеріями і запропонував кисляк як засіб для пригнічення гнильних бактерій. За його методикою зараз широко застосовується ацидофілін як лікувальний препарат при кишкових захворюваннях молодняку сільськогосподарських тварин. Спостереження Пастера, Мечникова над антагонізмами мікробів явилось основою для сучасного вчення про антибіотики.

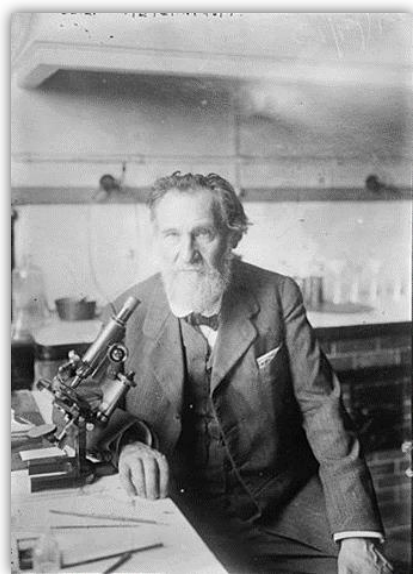


Рис.1.4. Ілля Мечников



Рис.1.5. Пауль Ерліх

Велику заслугу перед мікробіологією має Сергій Миколайович Виноградський, який присвятив все своє життя вивченню ґрунтових бактерій. Виноградський та голландський вчений Мартін Байєрінк відкрили азотофіксуючі бактерії.

Російському вченому Дмитру Івановському належить честь відкриття світу вірусів у 1892р. при вивченні мозаїчної хвороби тютюну.

Німецькі вчені Лефлер та Фрош у 1897р. встановили вірусну природу ящуру. Російський вчений Ценковський довів подібність синьо-зелених водоростей з бактеріями. Він виготовував вакцини проти сибірки с-г тварин, для чого вдосконалив методику Л. Пастера.

Одним із відомих "мисливців за мікробами" в Європі, Росії та Україні був Д.С. Самойлович (1744 - 1805). Здобувши освіту в Київській духовній академії, працював потім у Петербурзі та Москві, навчався в Страсбургському та Лейденському університетах. З 1874 р. призначений головним лікарем Криму, Херсонської та Катеринославської губерній, де активно проводив боротьбу з епідеміями чуми. Наукова й практична діяльність Самойловича пов'язана з вивченням збудника чуми та пошуками засобів боротьби з нею. Він першим висловив думку, що чуму викликає якийсь особливий живий агент. Класичні наукові праці російської академії Самойловича з етіології та епідеміології чуми перекладені майже на всі європейські мови. За ці блискучі дослідження він був обраний почесним академіком 12 західноєвропейських академій наук.

Видатний український медичний та ветеринарний мікробіолог М. Рево

вивчав збудників туберкульозу, сибірки, ящуру. Він написав перший підручник з ветеринарної мікробіології українською мовою.

З українських мікробіологів необхідно назвати М. Холодного, який протягом 40 років очолював кафедру мікробіології Київського університету ім. Т. Шевченка. Відомості про світ мікроорганізмів значно розширилися відкриттям Ісаченко (1871-1948р.), який встановив, що у морях і навіть у Північному Льодовитому океані живе величезна кількість мікробів, які за низьких температур здійснюють такі ж самі процеси руйнування і синтезу речовин, як і на суші.

V. Молекулярно-генетичний період. Основні досягнення цього періоду:

- розшифрування молекулярної структури і молекулярно-біологічної організації багатьох вірусів та бактерій, відкриття «інформаційного білку» - пріону;

- розшифрування хімічної будови і хімічного синтезу антигеном;

- відкриття нових антигенів (онкологічних, Зільбер Д.);

- розробка методу культивування тваринних і рослинних клітин, їх вирощування в промислових масштабах;

- відкриття імуномодуляторів – ендогенних стимуляторів імунної системи і їх використання для профілактики і лікування різноманітних хвороб;

- вивчення вроджених і набутих імунодефіцитів.

Завдання сучасної мікробіології: виявлення нових форм, пізнання тонкої будови клітини, виявлення нових фізіологічних функцій та біохімічних реакцій, вдосконалення систематики, подальше уточнення механізму спадковості та багато іншого.

1.1.3. Морфологія бактерій

Бактерії (лат. *bacteria* – паличка) – це одноклітинні прокаріотичні мікроорганізми розміром 0,1-28 мкм, які часто утворюють специфічні угруповання. За зовнішнім виглядом бактерії поділяються на такі основні групи: кулеподібні, паличкоподібні, звивисті, нитчасті, гіллясті, стеблеві та ті бактерії, що брунькуються.

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.

Диплококи (лат. *diplo* – подвійний) – група коків, які після поділу не розходяться, а існують парами. Типовими представниками диплококів є збудники епідемічного цереброспінального 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.

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*.

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*.

Паличкоподібні бактерії. Розмір паличкоподібних бактерій коливається в межах 0,8 -11мкм. 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 клостридіями (*Clostrum* – ракетка). Паличкоподібні форми бактерій в мазках можуть бути розташовані поодинокі, у вигляді ланцюжків чи мати унікальне розташування – подібне до букв Х, 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* тощо).

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* – 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. Ззовні спірохети вкриті тонкою зовнішньою мембраною, яка обгортає протоплазматичний циліндр – цитоплазму з ядерною ділянкою, оточеною цитоплазматичною мембраною. Спірально 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, *немо* - 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. 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, чохла, 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. 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.

1.1.4. Ультраструктура бактеріальної клітини

Розрізняють дві групи клітинних компонентів бактерій: обов'язкові структури клітини – клітинна стінка, цитоплазматична мембрана, мезосоми, рибосоми, нуклеоїд та додаткові клітинні компоненти – капсула, джгутики, ворсинки, гранули резервних або запасних поживних речовин (рис.1.6).

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.

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

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 $(1-3) \times 10^{11}$ дальтон, і містить він до 8×10^{11} 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 тощо.

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

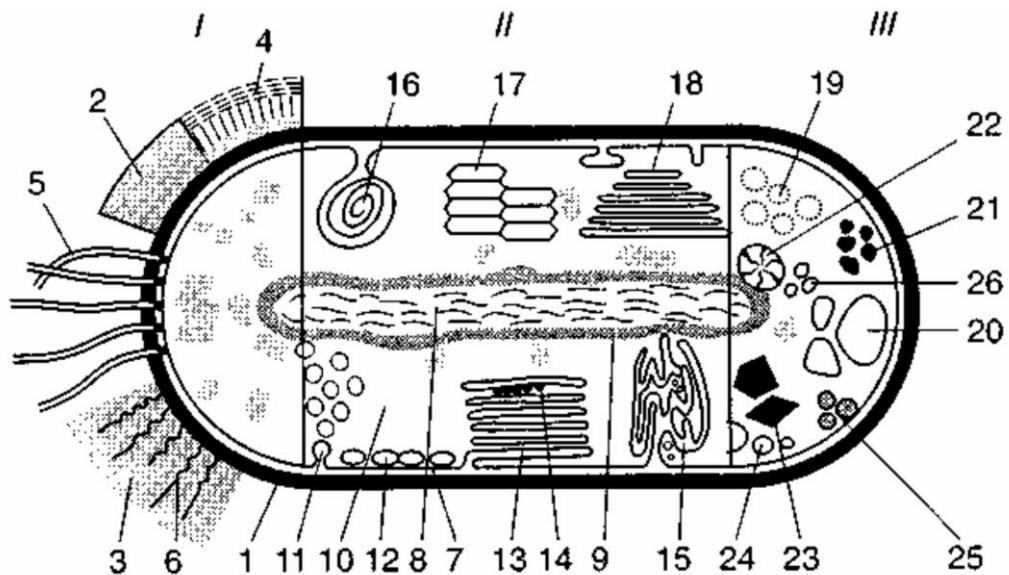


Рис.1.6. Схематичне (комбіноване) зображення прокаріотичної клітини (за Г. Шлегелем, 1972):

I. Поверхні структури: оболонка клітини; 2 – капсула; 3 – слизові виділення; 4 – слизовий чохол; 5 – джгутики; 6 – війки.

II. Цитоплазматичні клітинні структури: 7 – цитоплазматична мембрана; 8 – нуклеоїд; 9 – рибосоми; 10 – цитоплазма; 11 – хроматофори; 12 – хлоросоми; 13 – пластинчасті тилакоїди; 14 – фікобілісоми; 15 – трубчасті тилакоїди; 16 – мезосома; 17 – аеросома (газова вакуоля); 18 – ламелярні структури.

III. Запасні речовини: 19 – полісахариди гранули; 20 – гранули поліоксимасляної кислоти; 21 – гранули поліфосфату; 22 – гранули ціанофіцину; 23 – карбоксисоми; 24 – включення сірки; 25 – крапельки жиру; 26 – гранули вуглеводів.

Цитоплазматична мембрана – головний осмотичний бар'єр клітини, володіє вибірковою проникненістю, міцно прилягає до клітинної стінки. 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. Вона часто утворює вп'ячування всередину клітини або спіралеподібні тільця – мезосоми, функції яких – синтез клітинної стінки, розподіл ДНК між новими клітинами.

Клітинна стінка – ззовні клітина вкрита твердою, достатньо міцною оболонкою, товщиною 0,01-0,04 мкм, складається пептидоглікану, він присутній тільки у прокаріотів. Функція клітинної стінки: механічна, бар'єрна. 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.

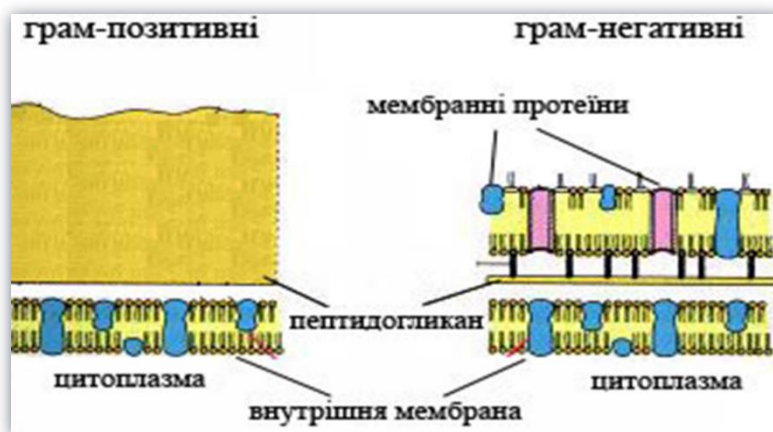


Рис.1.7. Будова клітинної стінки

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 %. Пептидоглікан пронизаний тейхейовими кислотами. 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.

Під впливом різноманітних речовин (пеніцилін, лізоцим) клітинна стінка може бути зруйнована. Бактеріальна клітина переходить у L-форму (трансформацію). 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.

Рибосоми нуклеопротейди (40% - білку, 60% - РНК). Функція – біосинтез білку. Нуклеоїд – аналог ядра, подвійна нитка ДНК, замкнена у кільце, вільно лежить у цитоплазмі. Одною точкою прикріплена до мезосоми.

Капсула. Зовні бактеріальна клітина може бути вкрита речовиною слизового характеру. Вона захищає бактерію 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 світловому мікроскопі; макрокапсули – більше 200 нм; слизові чохли – утвори, розміри яких у багато разів перевищують розміри бактеріальної клітини. За хімічним складом капсули у різних видів бактерій можуть відрізнятися. Найпоширенішими є капсули полісахаридної природи. У багатьох бацил капсула складається з поліпептидів. 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. Інколи капсула оточує разом декілька клітин, тоді такі утворення називають *зооглеями*.

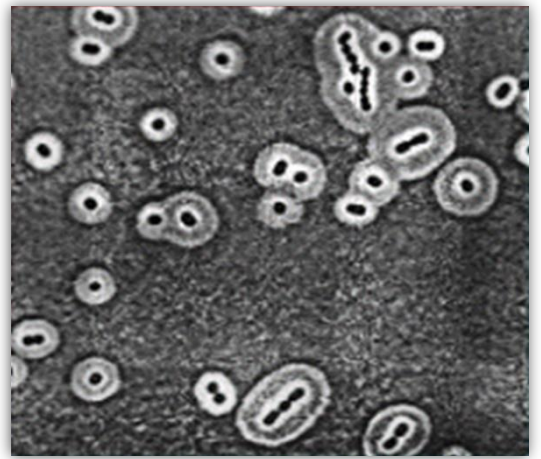


Рис.1.8. Капсули у бактерій

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. Довжина джгутиків сягає 20 мкм, тоді як товщина – всього 12-18 нм, що лежить за межами роздільної здатності світлового мікроскопа. Джгутики бактерій складаються із спіральньо 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 Н-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 (рис.1.9).



Рис.1.9. Розташування джгутиків у різних мікроорганізмів:
а – монотрихи, б – амфітрихи, в – лофотрихи, г – перитрихи

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. Рухливість патогенних мікроорганізмів визначають посівом на скошений агар за методом Шукевича.

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 бацили, 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

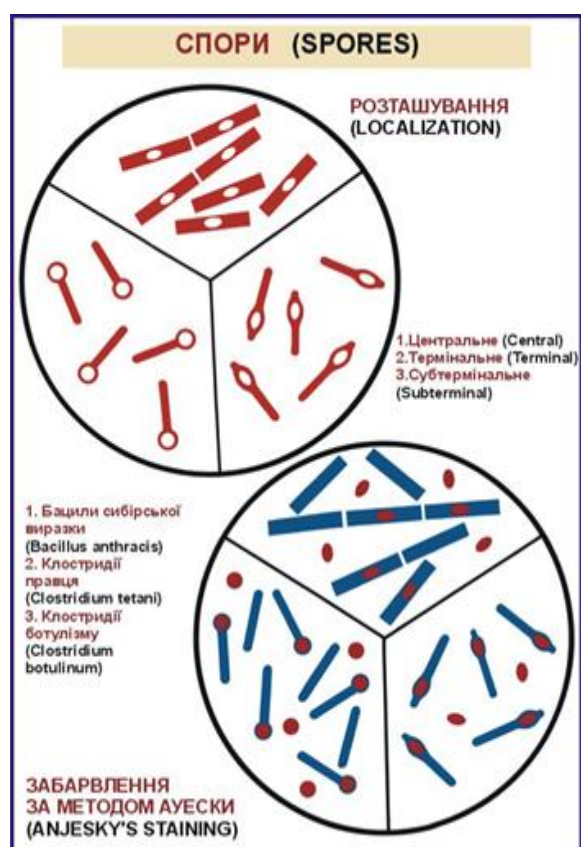


Рис.1.10. Спори у бактерій

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°C. 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.

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.

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 оболонок утворюється нова вегетативна клітина. Процес триває 4-6 годин.

Виявлення здатності до спороутворення у бактерій може мати діагностичне значення.

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. Всередині 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 мікроспор 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.

1.1.5. Особливості морфології спірохет, лептоспир, актиноміцетів, мікоплазм, рикетсій, хламідій

До родин *Spirochetaceae* і *Leptospiraceae* входять сапрофіти і патогенні види бактерій. До сапрофітів належать *Spirochaeta* і *Cristispira*, що є крупними клітинами розміром 200 - 500 мкм із загостреними або тупими кінцями; деякі з них мають крипти (хвилясті гребні). Патогенні спірохети живуть на мертвих субстратах, у забруднених водоймах, у кишечнику

холоднокровних тварин; у природних умовах живуть і непатогенні лептоспіри. За Романовським – Гімзою ці бактерії забарвлюються у синій колір.

До патогенних спірохет належать три роди: *Treponema*, *Borrelia*, *Leptospira*.

Для культивування патогенних спірохет застосовують особливі живильні середовища, що містять нативні білки (сироватка крові, кров), шматочки свіжих органів і тканин (нирки кріля, мочкова тканина курей), синтетичні поживні середовища, які складаються з набору певних амінокислот.

Лептоспіри – мікроорганізми з 12–18 дрібними первинними завитками, які щільно прилягають один до одного. Нагадують пружину з загнутими і стовщеними кінцями. На кінцях лептоспір є вторинні завитки, що надають їм S- або C-подібної форми. Є також безгачкові штами лептоспір. Довжина лептоспір 7–14 (іноді 20–30) мкм, товщина 0,06 - 0,15 (0,25 - 0,3) мкм. Вони рухливі, роблять обертові й поступальні рухи.

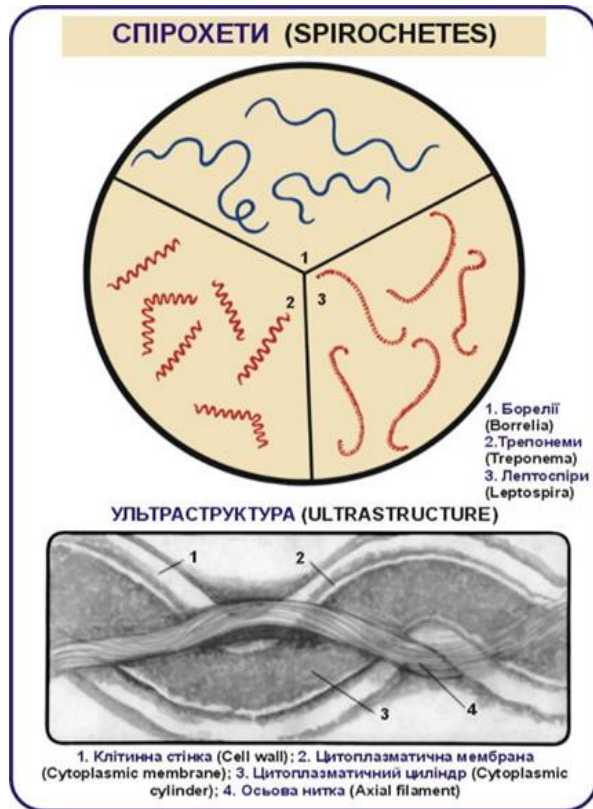


Рис.1.11. Спірохети

При електронно-мікроскопічному дослідженні структури лептоспір (рис. 1.11) доведено, що вони складаються з осьової нитки, цитоплазматичного циліндра, рівномірно закрученого навколо ригідної осьової нитки, поперечних кілець і багатошарової оболонки. Вважають, що осьова нитка складається із двох відрізків, які зближуються в центральній частині лептоспіри. На поверхні цитоплазматичного циліндра при спеціальній обробці виявляють мікрофібрили, цитоплазма дрібно-гранулярна, у старих культурах є вакуолі. Нуклеоїд розташований ексцентрично, має тонкі, безладно розташовані фібрили ДНК.

Актиноміцети (лат. *actis* - промінь, *myses* - гриб) - одноклітинні бактерії, які раніше вважали грибами через здатність клітин галузитись. Вони належать до родини *Actinomycetaceae*, яка налічує понад 400 різноманітних видів. Актиноміцети, як правило, сапрофіти, вільно живуть у ґрунті, забезпечуючи його плодючість та обумовлюючи характерний запах, а також і в інших об'єктах зовнішнього середовища. Багато з них є продуцентами антибіотиків (стрептоміцин, тетрацикліни).

Актиноміцети – переважно тоненькі прямі чи злегка зігнуті палички розміром 0,2-1×2-5 мкм. Кінці паличок нерідко булавоподібно потовщені. Типовою для актиноміцетів є і ниткоподібна форма довжиною 10 - 50 нм. Ниткоподібні форми часто розгалужені, кінці їх – булавоподібні.

Актиноміцети грампозитивні, проте нерідко фарбуються варіабельно (грампозитивно – основна маса клітин, грамнегативно – її булавоподібне потовщення). У більшості випадків актиноміцети аероби, рідше – факультативні чи облігатні анаероби. Хемоетеротрофи. Ряд видів актиноміцет патогенні для людей, тварин та рослин. Вони здатні викликати, зокрема, захворювання з хронічним перебігом – актиномікоз. Збудниками останнього є *Actinomyces israelii*, *A. bovis*, *A. naeslundii*.



Рис.1.12. Актиноміцети

Найчастіше ушкоджуються шкіра, підшкірна клітковина, лімфатичні вузли, органи дихання. У тканинах, уражених актиноміцетами, знаходять особливі структури – скупчення видозміненого міцелію, так звані друзи, в центральній частині яких виявляються густо переплетені нитки, від яких відходять булавоподібне потовщені клітини. При фарбуванні за Грамом в полі зору мікроскопа можна бачити позитивно зафарбовані клітини у центрі друз та негативно – колбоподібні структури на їх периферії. Розмножуються актиноміцети за допомогою спор або ж фрагментацією міцелію. Спори актиноміцетів формуються переважно на повітряному міцелії (спороносцях), а в окремих випадках – на субстратному. Розташування спороносних гілок у деяких актиноміцетів – ознака досить закономірна й постійна. За формою найчастіше зустрічаються спіральні (з множинними завитками, примітивні спіралі, розтягнуті або у вигляді клубочків) спороносці. Утворення спор актиноміцетами може відбуватися різними способами. До найбільш поширених належить утворення спор шляхом фрагментації або сегментації спороносних гілок.

Рикетсії і хламідії складають клас *Rickettsiae*. Рикетсії відрізняються поліморфізмом, їхні розміри варіюють від 0,4 до 10 - 40 мкм. Виділяють коко-, паличко-, ниткоподібну форми. Вони не мають джгутиків, не утворюють спор і капсул, забарвлюються за Грамом, Романовським – Гімзою, Здродовським. Ця група прокаріотів є облігатними внутрішньоклітинними паразитами різних груп тварин і людини. У людини рикетсії викликають висипний тиф, ку-гарячку, плямисту пропасницю скелястих гір та інші рикетсіози.

Хламідії – облігатні внутрішньоклітинні організми прокаріотної природи. Вивчення ультраструктури хламідій за допомогою електронного мікроскопа почалося з кінця 40-х років ХХ століття.

Цикл розвитку хламідій представлений двома основними формами, що міняють одна одну – ретикулярні тільця (вегетативні форми) і елементарні тільця (спороподібні форми).

До виду *Ch. trachomatis* належать патогенні для людини збудники трахоми, уrogenітальних хламідіозів, венеричної лімфогранулеми, кишачої пневмонії.

На підставі унікальності циклу розвитку хламідій вони були виділені в особливий порядок *Chlamydiales*, родина *Chlamydiaceae*, під *Clamydia*, що поєднує два види: *Ch. trachomatis*, *Ch. psittaci*.

Хламідії є збудниками трахоми, венеричного лімфогранулематозу. До виду *Ch. psittaci* віднесені збудники пситакозу (орнітозу), пневмонії, поліартритів, ентеритів, кон'юнктивітів, енцефалітів свійських, сільськогосподарських і диких тварин. Нерідко ці мікроорганізми викликають хламідіози в людей з можливим поширенням інфекції від людини до людини.

Основа циклу розвитку хламідій – закономірна зміна вегетативних неінфекційних репродуктивних клітин (ретикулярних тілець – РТ) спороподібними інфекційними клітинами (елементарними тільцями – ЕТ). Ці дві форми розрізняються за ультраструктурою, але подібні серед різних штамів хламідій.

Морфологічно вегетативні форми хламідій подібні до деяких грамнегативних бактерій, наприклад, збудників туляремії. Вони округлої форми, діаметром до 1-1,5 мкм, оточені клітинною стінкою і цитоплазматичною мембраною, що має тришарову структуру.

Спороподібні клітини хламідій не мають морфологічних аналогів серед бактерій і являють собою дрібні, діаметром 0,25 - 0,3 мкм, сферичні клітини із щільним ексцентричним нуклеоїдом.

Вегетативні ретикулярні клітини мають виражену метаболічну активність. Спороподібні хламідії відрізняються дуже слабким метаболізмом.

Проходження циклу розвитку – обов'язкова умова внутрішньоклітинного паразитування хламідій, без нього неможливе утворення нового покоління збудника.

Зрілою морфологічною структурою є елементарні тільця – вони грамнегативні й інфекційні.

Основні етапи циклу розвитку мікроорганізму: контакт ЕТ з поверхнею чутливої клітини; проникнення ЕТ у цитоплазму шляхом фагоцитозу; перетворення ЕТ у вегетативну форму з крихкою клітинною стінкою; поділ РТ з послідовним зменшенням їхнього розміру, реорганізацією внутрішнього вмісту й утворенням «перехідних форм»; їх перетворення в ЕТ нового покоління мікроорганізму; вихід мікроорганізму з клітини.

Цикл розвитку хламідій відбувається в цитоплазматичних включеннях, обумовлених як тільця Гальберштедтера-Провачека, що являють собою обмежену фагоцитарну вакуоль, яка містить різні морфологічні структури мікроорганізму.

Подібність хімічного складу клітинної стінки хламідій і грам-негативних бактерій дає можливість використовувати для виявлення тілець Гальберштедтера-Провачека світлову мікроскопію при забарвлюванні препаратів за Романовським-Гімзою, а також фазовий контраст при перегляді незабарвлених препаратів.

Хламідії містять два типи нуклеїнової кислоти (ДНК і РНК). Відрізняючись дефіцитом ферментних систем, хламідії використовують хазяїна як постачальника метаболічної енергії. Облігатний характер внутрішньоклітинного паразитизму характеризується як енергозалежний паразитизм. Хламідії не виробляють власну АТФ, пригнічують синтез ДНК клітини-хазяїна.

Резистентність хламідій у зовнішньому середовищі висока і для знезараження водних резервуарів громадського використання, інфікованих збудником паратрахоми, що живе в уrogenіталіях людини, необхідне гіперхлорування води. Багато штамів цих мікроорганізмів виявляють високу чутливість до сульфаніламідів і антибіотиків широкого спектра дії: тетрациклінів, макролідів, рифампіцину. Культивуються в курячих ембріонах і культурах клітин.

Мікоплазми – найбільш дрібні поліморфні мікроорганізми, що живуть в умовах штучних живильних середовищ і не мають клітинної стінки. Через відсутність клітинної стінки мікоплазми поліморфні, їх розміри – 50-300 нм, форма – кулі, кільця, ниткоподібні форми, зерна.

Більшість мікоплазм нерухома, однак у деяких (*Mycoplasma pneumoniae*) виявлені структури, яким приписують функцію руху. Мікоплазми не утворюють спор і капсул, слабо забарвлюються аніліновими барвниками, для забарвлювання використовують метод Романовського - Гімзи.

Мікоплазми виділені в клас *Mollicutes* («м'яко шкірі»). Єдиний критерій об'єднання цих мікроорганізмів у клас – відсутність клітинної стінки і її попередників.

З приводу філогенетичного походження мікоплазм існують кілька точок зору. М. А. Пешков (1969) вважав, що саме мікоплазми стали предками прокаріотів, у тому числі й бактерій, а здатність до синтезу клітинної стінки є наслідком серії мутацій. Інша гіпотеза Edvard і Freundt (1969) припускає відсутність спорідненості між мікоплазмами і бактеріями на підставі наявності в усіх стерин-залежних мікоплазм холестерину, включеного в мембрану, відсутності генетичного споріднення мікоплазм і їх можливих бактеріальних предків у дослідях з молекулярної гібридизації ДНК-ДНК і ДНК-РНК, а також різні, на думку авторів гіпотези, способи репродукції мікоплазм і L-форм бактерій.

У клас *Mollicutes* входить один порядок *Mycoplasmatales*, у складі якого відомі дві родини. Стеринзалежні мікоплазми об'єднані в родину *Mycoplasmataceae* з одним родом *Mycoplasma*, куди входять 33 види мікоплазм людини і тварин. Стериннезалежні мікоплазми об'єднані в родину *Acholeplasmataceae*, що складається з одного роду *Acholeplasma*, і на сьогодні до нього входять три види.

На густих живильних середовищах мікоплазми ростуть у вигляді характерних колоній з ущільненням, що виростає в середовище, центром і нижнім краєм, за формою нагадують яєчню – «fried egg». В умовах рідких і напіврідких середовищ ріст відбувається у вигляді ніжного дифузійного помутніння.

Залежно від характеру живильних середовищ мікоплазми мають такі морфологічні особливості: при вирощуванні в густих живильних середовищах представлені пластичними згустками протоплазми невизначеної форми, а в рідких середовищах – різноманітністю форм – кільцями, нитками, гранулами, паличкоподібними і спіральними утвореннями.

Одним з найбільш значимих факторів стабільності й еластичності мембрани мікоплазм є холестерин – головний ліпідний компонент у так званих паразитичних мікоплазм. Уміст значної кількості холестерину зближає мембрани мікоплазм із мембранами тваринних клітин, хоча за ферментативною активністю мембрани мікоплазм ближче до мембран бактеріальних протопластів.

Патогенні мікоплазми можуть продукувати екзотоксин. Наприклад, *M. neurolyticum* виділяє справжній екзотоксин, який є термолабільним білком і швидко прикріплюється до рецепторів астроцитів мозку. За здатністю продукувати гемолізін мікоплазми підрозділяються на види, що викликають β-гемоліз, наприклад *M. laidlawii*, *M. pneumoniae*, α-гемоліз, і такі, що не викликають гемоліз.

Вид *M. mycoides* var. *mycoides* відрізняється від інших мікоплазм наявністю галактанової капсули; екстрагований галактан за своєю дією подібний до ендотоксину грамнегативних бактерій.

Мікоплазми мають низку ферментів, що порушують нормальний метаболізм клітин. Так, аргініндегідралазні ферменти руйнують необхідний для життя клітин аргінін. Нуклеозидфосфорилаза – фермент мікоплазм, що викликає розщеплення в клітинах тимідину, який порушує їх нормальне розмноження.

1.2. ПРАКТИЧНА ЧАСТИНА

1.2.1. Державна лабораторія Держпродспоживслужби та її задачі. Правила роботи в лабораторії з патогенними культурами. Мікроскопи та правила роботи з ними. Морфологія бактерій. Визначення рухливості бактерій

Мета заняття. Ознайомити студентів з структурою Держпродспоживслужби, технікою безпеки в лабораторії, правилами роботи з світовими мікроскопами у імерсійній системі. Вивчити різні форми бактерій по таблицях, мазках-препаратах. Навчити визначення рухливості бактерій методами «роздавлена» та «висяча» крапля.

Матеріальне забезпечення. Мікроскопи, зафарбовані мазки з різними формами бактерій, таблиці, предметні та покривні скельця, скельця з виїмками, бульйонна культура сінної палички, бактеріологічні петлі, вазелін, імерсійна олія.

Зміст заняття.

Лабораторія Держпродспоживслужби – це самостійна структурна

одиниця в системі служби ветеринарної медицини району, області, країни. Основна задача лабораторії – діагностика хвороб свійських тварин та птиць, хутрових тварин, риб, бджіл а також проведення експертизи молока, м'яса і інших продуктів та кормів.

Матеріалом для мікробіологічних досліджень служать кров, сироватка крові, молоко, сеча, фекалії, трупи загиблих тварин, шматочки паренхіматозних органів або інших тканин, проби води, повітря, ґрунту, кормів, рослин.

Нормативні документи, у яких викладені обов'язкові норми по лабораторній діагностиці містяться у Ветеринарному Законодавстві України.

Специфіка мікробіологічних робіт вимагає того, щоби приміщення, яке відведено під лабораторію, було ізольоване від житлових будинків, харчових складів, проїжджих доріг. У лабораторії передбачають наступні окремі ізольовані приміщення (кімнати): для бактеріологічних досліджень; вірусологічних досліджень; серологічних досліджень; досліджень шкіряної сировини на сибірку; паразитологічних досліджень; хімічних та хіміко-токсикологічних досліджень; радіологічних досліджень; мікологічних досліджень; гематологічних досліджень; біохімічних досліджень; гістологічних досліджень; прийому патологічного та інших матеріалів у лабораторії; розтину трупів тварин та обробки матеріалу, який поступив на дослідження; утримання здорових лабораторних тварин; зараження тварин, їх утримання та спостереження за ними; миття та автоклавування посуду, інвентарю; приготування живильних середовищ, розчинів тощо.

Основне обладнання лабораторії: мікроскопи різних типів, термостати, сушильні шафи, автоклави, водяні бані, анаеростати, центрифуги, апарати Коха, дистилятори.

Правила роботи і поведінки у лабораторії. Особливістю бактеріологічної роботи являється те, що людина постійно знаходиться у контакті зі збудниками хвороб, заразним матеріалом та хворими тваринами. Тому співробітники повинні дотримуватись наступних правил:

1. У приміщення лабораторії не дозволено входити без спецодягу.
2. Не дозволяється вносити у лабораторію сторонні речі.
3. Забороняється виходити за межі лабораторії в халаті, або халат одягати на верхній одяг.
4. У бактеріологічному відділі лабораторії забороняється палити, приймати їжу, зберігати продукти харчування.
5. Весь матеріал, який потрапляє у лабораторію, повинен розглядатися як інфікований.
6. При розпакуванні заразного матеріалу необхідно дотримуватись обережності: банки, які містять матеріал для дослідження, обтирають зверху дезінфікуючим розчином і ставлять не прямо на стіл, а на підноси або кювети.
7. Переливання рідини, яка містить патогенні мікроорганізми, проводять над посудом з дезрозчином.
8. При дослідженні зараженого матеріалу і роботі з патогенними культурами необхідно суворо дотримуватись загальноприйнятих у

бактеріологічній практиці технічних прийомів, що виключають зіткнення рук із заразним матеріалом.

9. Уражений матеріал та непотрібні культури підлягають обов'язковому знищенню в той же день. Інструменти, які використовувались у роботі з ураженим матеріалом, одразу ж після використання дезінфікують як і поверхню столу.

10. При виконанні бактеріологічних робіт необхідно суворо слідкувати за чистотою рук: по закінченні роботи з зараженим матеріалом їх дезінфікують.

11. На кінець робочого дня заражений матеріал і культури мікробів, необхідні для роботи ставлять на зберігання в холодильник або у сейф, який зачиняється.

12. Працівники лабораторії ветеринарної медицини підлягають обов'язковій вакцинації проти тих хвороб, збудники яких можуть зустрічатися в досліджуваних об'єктах.

Порядок зберігання та відпускання патогенних культур.

Збудники інфекційних хвороб за ступенем небезпеки для людини поділяють на 5 груп:

Група 1. Збудник чуми.

Група 2. Збудники холери, лептоспірозу, бруцельозу, туляремії, сибірки, сапу, мелоїдозу, епідемічного висипного тифу, епідемічних енцефалітів, геморагічних лихоманок, гарячки Ку, лихоманки скелястих гір, орнітозів, гістоплазмозу, кокцидіозів, сказ, токсин ботуліновий.

Група 3. Збудники бактерійних (черевний тиф, дизентерія, дифтерія, туберкульоз), вірусних (поліомієліт, кір, грип, СНІД), рикетсіозних (хвороба Бриля, кліщів і тифи), найпростіших (малярія, лейшманіоз, сифіліс), грибкових (актиномікоз, дерматомікози, бластомікоз).

Група 4. Збудники токсикоінфекцій та гострих бактеріальних отруєнь (сальмонели, стафілококи, вібріони, клостридії), ентеритів (ешерихії, ентеро- та аденовіруси), септицемії і пневмонії (стафілококи, стрептококи, синьогнійна паличка).

Група 5. Облігатна непатогенна мікрофлора слизових покривів людей та тварин, а також мікроорганізми-показники санітарного стану зовнішнього середовища (ешерихії, ентерококи, клостридії).

Роботу з культурами 1-ої та 2-ої груп можна проводити тільки з дозволу регіональної режимної комісії.

Роботу зі збудниками 3-ої групи виконують відповідно з правилами техніки безпеки, виробничої санітарії та індивідуальної гігієни бактеріологічних лабораторій.

Робота з збудниками 4-ої та 5-ої груп вимагає додержання звичайного режиму роботи бактеріологічної лабораторії, який забезпечує надійний захист персоналу лабораторії від внутрішньо лабораторних заражень у процесі самих досліджень і запобігає розповсюдженню інфекції за межі лабораторії.

Порядок зберігання культур.

Культури мікроорганізмів зберігають у пробірках на щільних

середовищах або в ампулах у ліофільному стані. Культури зберігають у холодильниках або у сейфах.

Холодильники, сейфи з культурами 1-ої, 2-ої та 3-ої груп по закінченню робочого дня закривають на ключ та пломбують.

Облік культур та матеріалів.

Усі культури мікроорганізмів 1 - 5 груп, які знаходяться в лабораторії, підлягають обов'язковій реєстрації у спеціальних журналах, сторінки яких пронумеровані, прошнуровані і закріплені сургучною печаткою.

Культури збудників хвороб 1-2 груп і заражені ними тварини враховуються по кожному виду збудника окремо, мікроби 3-4 груп враховуються сумарно по кожному роду збудника.

Мікроорганізми 5 групи спеціальному обліку не підлягають. Реєстрація їх ведеться в робочих журналах.

Мікроскопія бактеріальних препаратів в імерсійній системі.

Сучасна промисловість випускає багато видів мікроскопів залежно від їх призначення. У практичній роботі рутинних баклабораторій найчастіше користуються мікроскопами МБР-1, МБР-3.

Мікроскоп складається з механічної, оптичної й освітлювальної частин. До механічної входять штатив, тубус, револьвер, предметний столик, макро- й мікрогвинт, до оптичної – об'єктиви й окуляри, до освітлювальної – дзеркало й конденсор.

У верхній частині штатива є тубус, у який вставляється окуляр, а знизу він має револьвер, в отвори якого вгвинчені 3-4 об'єктиви. Обертаючи револьвер, можна встановити будь-який об'єктив під отвір тубуса. Останній підіймається і опускається за допомогою макро- й мікрометричного гвинтів. Для грубого наведення зображення користуються макрогвинтом. Більш точно це робиться за допомогою мікрогвинта. Мікрометричний гвинт є однією з найбільш тендітних частин мікроскопа й вимагає обережного поводження з ним.

Предметний столик має круглу або прямокутну форму. В його центрі знаходиться отвір, над яким вміщують предметне скло з препаратом (мазком). У більш досконалих мікроскопах є дуже зручні предметні столики, які за



Рис.1.13. Світловий мікроскоп

допомогою спеціальних пристроїв переміщують предметне скло у двох взаємно перпендикулярних напрямках.

Найціннішою частиною мікроскопа є об'єктиви, які складаються з кількох лінз у загальній металевій оправі. Об'єктиви поділяються на сухі (x8, x40) та імерсійні (x90, x120). Сухими називають такі об'єктиви, між фронтальною лінзою яких і предметним склом знаходиться повітря. При цьому, в зв'язку з різницею показників заломлення скла й повітря (відповідно 1,52 і 1,0), частина світлових променів не потрапляє в око мікроскопіста. Імерсійними називають такі об'єктиви, між фронтальною лінзою яких і досліджуванним об'єктом знаходиться "імерсіол", коефіцієнт заломлення світла якого такий самий, як і в скла. При дослідженні морфології мікроорганізмів користуються переважно імерсійними об'єктивами, які часто називають імерсійною системою.

Найважливішою характеристикою будь-якого об'єктива є його роздільна здатність. Це та найменша відстань між двома точками, при якій вони ще видимі роздільно, тобто не зливаються в одну. Роздільна здатність об'єктива обмежена такими явищами, як хроматична й сферична аберації, дифракція та ін. Якщо обидва види аберації можна усунути, то явище дифракції існує в будь-якій оптичній системі і його усунути або, принаймні, зменшити практично неможливо. Дифракція в значній мірі обмежує роздільну здатність мікроскопів.

У сучасних сухих об'єктивах вона не перебільшує 0,95, а в імерсійних – від 1,25 до 1,6. Нумеричні апертури вигравірувані на оправі кожного об'єктива. Роздільна здатність об'єктивів прямо пропорційна їх нумеричній апертурі й обернено пропорційна довжині хвилі світла.

При мікроскопії у видимому світлі з довжиною хвилі 0,55 мкм та імерсійним об'єктивом з максимальною числовою апертурою 1,6 роздільна здатність дорівнює: 0,2 мкм.

Отже, при користуванні навіть найкращими імерсійними об'єктивами неможливо побачити об'єкти, які мають розміри менші за 0,2 мкм. Корисне збільшення об'єктива не може перевищувати нумеричну апертуру більше, ніж у 1000 разів. Таким чином, максимальне корисне збільшення сучасних мікроскопів при використанні імерсійних об'єктивів з апертурою 1,4 -1,6 досягає 1400 - 1600.

Окуляр складається з двох лінз і тільки збільшує зображення, яке виходить від об'єктива, не добавляючи до нього будь-яких деталей. Існують окуляри з такими збільшеннями: x7, x10, x15. Ці цифри позначені на них.

Освітлювальний апарат знаходиться під предметним столиком і складається із дзеркала та конденсора з діафрагмою. Дзеркало спрямовує пучок світла в конденсор, а через нього в об'єктив мікроскопа. Один бік дзеркала вигнутий, другий плоский. При мікроскопуванні з конденсором необхідно користуватись лише плоским дзеркалом. Конденсор Аббе складається з системи лінз для збирання пучка променів в одній точці (фокус), яка знаходиться в площині досліджуваного препарату. При роботі з денним освітленням конденсор потрібно підіймати до рівня предметного столика, з

штучним опускати доти, поки зображення джерела світла не з'явиться в площині, препарату. При дослідженні незабарвлених препаратів конденсор також опускають.

Об'єм світла відповідно до потреб дослідження регулюється діафрагмою, яка знаходиться під конденсором. Вона може звужуватись і розширюватись подібно до зіниці ока (звідси назва ірис-діафрагма). Забарвлені препарати розглядають при відкритій, а незабарвлені – при звуженій діафрагмі.

Сучасні мікроскопи мають ряд удосконалень, завдяки яким покращується зображення та розширюються межі видимості. Перше досягнуто випуском мікроскопів-біноклярів, друге – дослідженням у темному полі зору. Біноклярний мікроскоп має спеціальну насадку з двома тубусами (біноклярна насадка). Це створює ряд переваг при мікроскопуванні. Досліджуваний препарат розглядають відразу обома очима, що не викликає перевтоми органів зору. При цьому одночасно досягається більша чіткість глибини зображення і його пластичність. У сучасних оптичних мікроскопах розподільна здатність об'єктивів дорівнює 0,0002 мм. Зафарбовані препарати розглядаються з використанням імерсійного об'єктиву МІ-90. Для створення однорідного оптичного середовища наносять краплю імерсійної олії між фронтальною лінзою об'єктиву і препарату. Макроскопічним гвинтом об'єктив обережно занурюють в олію, спостерігаючи збоку. Дивлячись в окуляр проводять грубе фокусування, а мікрогвинтом – остаточне фокусування препарату.

Темнопольна мікроскопія відрізняється від звичайної імерсійної світлової способом освітлення препарату. У звичайному мікроскопі об'єкт досліджують при світлі, яке проходить, у темнопольному – при боковому освітленні. Для мікроскопії в темному полі використовують замість конденсора Аббе спеціальний параболоїд-конденсор (кардіоїд-конденсор), у якому бокова поверхня дзеркальна а центральна частина нижньої лінзи затемнена, в результаті чого утворюється темне поле зору. Яскраві бокові промені, відбиваючись від дзеркальної поверхні, фокусуються в площині об'єкта, але в очі мікроскопіста не потрапляють. В об'єктив проникають лише ті промені, які відбиваються частинками препарату завдяки заломленню або дифракції. Отже, на темному полі зору мікробні клітини й інші дрібні частинки виглядають дуже яскравими. Картина нагадує миготливі зірки на темному небі.

Темнопольний мікроскоп дає змогу розглядати об'єкти розміром 0,02 - 0,04 мкм, тобто значно менші, ніж під звичайним світловим мікроскопом. Тому темнопольний мікроскоп часто називають ультрамікроскопом. Мікроскопію в темному полі зору використовують для дослідження рухливості бактерій, виявлення збудників сифілісу, лептоспірозу, поворотного тифу. Але при цьому не можна добре вивчити внутрішню структуру мікроорганізмів. Для цієї мети запропоновані видозмінені методи оптичної мікроскопії: фазово-контрастна, аноптральна та люмінесцентна.

Фазово-контрастна мікроскопія – спосіб мікроскопічного дослідження прозорих, не поглинаючих світла об'єктів, який базується на підсиленні контрасту зображення. Він полягає в тому, що живі клітини (бактерії), слабо

поглинаючи світло, все ж таки здатні змінювати фазу проникаючих променів. У різних ділянках клітини товщина, щільність, а, отже, й показники заломлення світла будуть неоднакові. Ці різниці у фазах ні орган зору, ні фотоплівка не помічають. Але їх можна зробити видимими за допомогою спеціального фазово-контрастного пристрою. Він включає в себе конденсор з набором кільцевих діафрагм, які забезпечують освітлення препарату повним конусом світла, та фазово-контрастні об'єктиви. Вони відрізняються від звичайних об'єктивів тим, що в їх головному фокусі розташовується напівпрозора фазова пластинка у вигляді кільця. Саме вона викликає здвиг фази світла, що проходить через неї. Це дозволяє зробити незабарвлені препарати чітко видимими.

При роботі з фазово контрастним пристроєм клітини можуть виглядати темними (позитивний фазовий контраст) або світлими (негативний контраст) у порівнянні з оточуючим фоном. Цей вид мікроскопії не збільшує роздільної здатності, але дозволяє виявити нові деталі внутрішньої структури живих бактерій, стадії їх розвитку, зміни під впливом антибіотиків та інших хіміопрепаратів. Він має й деякі недоліки: слабка контрастність зображень, наявність сяючих ореолів навколо досліджуваних об'єктів. Значні переваги перед фазово контрастним пристроєм має аноптральний мікроскоп.

Аноптральна мікроскопія – різновид фазово-контрастної, при якій використовують об'єктиви зі спеціальними пластинками, нанесеними на одну з лінз у вигляді затемненого кільця кіптяви або міді. Це обумовлює поглинання близько 10% світла, яке проходить через об'єктив і робить фон поля зору сіро-коричневим. Широкий центральний отвір в шарові кіптяви чи міді випускає з об'єктиву основну частину дифрагованого світла, в той час як темний шар кільця відіграє роль ловушки для небажаного периферійного дифрагованого світла. За рахунок цього в значній мірі усувається ореол навколо досліджуваних клітин.

Аноптральна мікроскопія успішно використовується при вивченні таких мало контрастних живих об'єктів як бактерії, гриби, найпростіші і навіть деякі віруси. При цьому досягається більша контрастність, роздільна здатність, стереоскопічність і чіткість зображення. Досліджувані мікроорганізми при цьому набувають різних відтінків: від білого до золотаво-коричневого.

Інтерференційна мікроскопія основана приблизно на тих же принципах, що й фазово контрастна. Але на відміну від останньої вона дає можливість вивчати деталі прозорих об'єктів і проводити їх кількісний аналіз. Це досягається завдяки роздвоєнню світлового променя: один промінь проходить через частинку об'єкту, а другий поза нею. В окулярі обидва промені з'єднуються і інтерферують між собою. Різницю виникаючих фаз можна виміряти, визначаючи тим самим масу різних структур в клітині. Так визначають товщину об'єкта, концентрацію в ньому сухої речовини, вміст води, що дає змогу зробити побічні висновки про проникність мембран, активність ферментів, метаболізм клітин.

Інтерференційну мікроскопію використовують у цитологічних дослідженнях, при кількісному аналізі клітинних структур живих об'єктів,

наприклад, найпростіших, культур тканин тощо.

Люмінесцентна мікроскопія останнім часом широко використовується в мікробіологічних дослідженнях. Цей метод дозволяє спостерігати первинну або вторинну люмінесценцію (світіння) мікроорганізмів, клітин, тканин та окремих їх структур. Зображення в люмінесцентному мікроскопі виникає із-за світіння самого препарату, яке виникає при освітленні його короткохвильовою частиною спектра. Метод оснований на використанні явища флуоресценції. Так як більшість хвороботворних мікробів не мають первинної (власної) люмінесценції, їх спочатку обробляють слабкими розчинами спеціальних барвників (флуорохромів), які зв'язуються певними структурами живих бактерій, не завдаючи їм шкоди. Найчастіше застосовують такі флуорохроми: акридиновий оранжевий, аурамін, корифосфін, ізотіоціанат флуоресцеїну, трипафлавін тощо.

Промені світла від сильного джерела, наприклад, ртутної лампи надмірного тиску, пропускають через синьо-фіолетовий світлофільтр. Під дією такого опромінення забарвлені флуорохромом бактерії починають світитися червоним, зеленим, жовтим або іншим світлом. Так, при забарвленні дифтерійних паличок корифосфіном вони набувають жовто-зеленого світіння, а при обробці аурамін-родаміном збудник туберкульозу світиться золотаво-оранжевим кольором.

Метод люмінесцентної мікроскопії набагато чутливіший порівняно з іншими мікроскопічними дослідженнями. Він дозволяє виявити таку малу кількість збудника, яку іншими методами не знаходять. За характером люмінесценції можна диференціювати окремі хімічні речовини, що входять до складу мікробних клітин. Використання люмінесцентного мікроскопа має ряд переваг: кольорове зображення, висока контрастність, можливість досліджувати як живі, так і вбиті мікроорганізми.

Люмінесцентну мікроскопію широко застосовують для виявлення антигенів і антитіл (метод імунофлуоресценції). За її допомогою можна побачити мікроби, які містять певні антигени. Для їх виявлення необхідно мати специфічні люмінесцентні сироватки, які викликають флуоресценцію саме даного антигену. Цей метод успішно використовують для експрес-діагностики багатьох бактерійних і вірусних захворювань.

Окрім люмінесцентного пристрою ОІ-17 та спеціальних освітлювачів ОІ-18, ОІ-28, ОСЛ-1, бактеріологічні лабораторії оснащені люмінесцентними мікроскопами МЛ-2, МЛД-1 тощо. Модель МЛ-2 має великий комплект оптики, фільтрів, фотонасадку, дає змогу проводити одночасно комбіновані спостереження: люмінесцентне при освітленні препарату зверху і фазовоконтрастне в поточному світлі.

Електронна мікроскопія. Для вивчення будови мікроорганізмів на субклітинному і молекулярному рівнях, а також для дослідження структури і архітектоніки вірусів використовують електронний мікроскоп. Це високовольтний вакуумний прилад, у якому збільшене зображення отримують за допомогою потоку електронів. Він має високу роздільну здатність і може давати збільшення від 20 тис до 5 млн. разів. За принципом дії розрізняють просвічуючі

(трансмисивні), скануючі (растрові) й комбіновані електронні мікроскопи.

Принципова схема просвічуючого електронного мікроскопа мало чим відрізняється від звичайного оптичного. Можливості світлового мікроскопа обмежені не якістю лінз, а великою довжиною світлових хвиль (0,29 - 0,8 мкм). Мала довжина хвилі електронів (0,0002 мкм і навіть менше) дозволяє значно збільшити роздільну здатність електронного мікроскопа. Замість світла в ньому використовують потік електронів, джерелом яких є вольфрамова нитка, що нагрівається електричним струмом (електронна пушка). Роль лінз оптичного мікроскопа виконує кругове електромагнітне поле. Пучки електронів, проходять через досліджуваний об'єкт, відхиляються під різними кутами залежно від неоднакової товщини і щільності різних ділянок препарату і потрапляють в об'єктивну лінзу. В ній появляється перше корисне збільшення об'єкта.

Після об'єктивної лінзи електрони потрапляють у проміжну лінзу, яка служить для плавного збільшення зображення. Проекційна лінза створює кінцеве збільшене зображення об'єкта, яке направляється на флуоресціюючий екран. Завдяки взаємодії швидких електронів з люмінофором екрану виникає видиме зображення об'єктів. Після наведення чіткості проводять фотографування.

Електронна мікроскопія вимагає спеціальної підготовки об'єктів дослідження. Необхідна спеціальна фіксація тканин або бактерій, їх ретельне зневоднення, заливка в епоксидні смоли, виготовлення ультратонких зрізів. Для підвищення чіткості зображення використовують методи позитивного й негативного контрастування та відтінення.

Досліджуваний об'єкт спочатку застосовують особливими фіксаторами, потім наносять на надзвичайно тонку колодієву або целюлозну плівку, вміщену на спеціальну сіточку-підкладку. При напиленні на поверхню препарату під певним кутом у вакуумі наносять тонким шаром важкі метали, хром, золото, паладій. Розпорошені частинки металу осідають на піднесених чи заглиблених ділянках бактерій або вірусів. При дослідженні таких препаратів деталі їх структури проявляються рельєфно й контрастно (позитивне контрастування). Негативне контрастування зводиться до нанесення на препарат розчинів з атомами важких металів, наприклад, фосфорно-вольфрамової кислоти. Осідаючи навколо білкових частинок досліджуваного об'єкта й заповнюючи всі проміжки між ними, атоми важких металів «забарвлюють» фон, на якому виступають найменші деталі будови мікроорганізмів.

Широко також використовують ультратонкі зрізи клітин, бактерій і вірусів, що дає змогу вивчити їх структуру на субклітинному й молекулярному рівнях.

Сучасна українська й зарубіжна промисловість випускає багато моделей електронних мікроскопів, які мають величезні можливості для вивчення мікроскопічного світу.

Методи електронної мікроскопії привели до великих успіхів у розвитку таких наук як цитологія, бактеріологія, генетика і, особливо, вірусологія. Успішно розвивається імунна електронна мікроскопія, яка дає змогу

визначити родову належність вірусів, що використовується для експрес-діагностики багатьох вірусних інфекцій.

Морфологія бактерій – це зовнішній вигляд бактерії, це те, що ми бачимо в мікроскоп.

За морфологією бактерії поділяють :

1. Кулясті
2. Паличкоподібні
3. Звивисті форми
4. Незвичайні форми бактерій

Кулясті: мікрококи, диплококи, тетракоки, сарцини, стрептококи, стафілококи.

Паличкоподібні: аспорогенні, бацили, клостридії, фузобактерії, коринобактерії.

Звивисті форми: холерний вібріон, спірили, спірохети.

Незвичайні форми: архібактерії – це ті, що мають зовсім різні форми.

Розглядаються готові мазки з різними формами бактерій і замальовуються кольоровими олівцями в робочий зошит. Засвоюють методики визначення рухливості мікроорганізмів, результати заносять в зошит.



Рис.1.14. Морфологія мікроорганізмів

Визначення рухливості мікроорганізмів.

а) *Метод висяча крапля.* Краї покривного скла змащують вазеліном, в центр наносять одну краплю рідкої бактерійної культури. Предметне скельце, виїмкою донизу, притискають до покривного скла. Перевертають препарат покривним скельцем доверху. Крапля рідини повинна вільно звисати у центрі виїмки не торкаючись дна або стінок. Під малим збільшенням об'єктиву знаходять край краплі, ставлять його в центр, револьвер мікроскопу

переводять на об'єктив "40" і дивляться в темному полі конденсора.

б) *Метод роздавлена крапля*. На поверхню предметного скла наносять краплю дослідного матеріалу або суспензію бактерій, накривають покривним склом.

При притискуванні покривного скла рідина не повинна виходити за його краї. Мікроскопують об'єктивом "40" в темному полі конденсора.

в) *Метод Шукевича* – проводять посів дослідної культури уколом у напіврідкий МПА. При рості рухливих бактерій у середовищі спостерігається помутніння, дифузний ріст культури від лінії уколу; у протилежному випадку – ріст буде безпосередньо по уколу, а середовище прозоре.

Контрольні запитання

1. Задачі лабораторії ветеринарної медицини.
2. Основні правила техніки безпеки у лабораторії.
3. Дослідження бактерій в імерсійній системі мікроскопа.
4. Які форми бактерій розрізняють за їх зовнішніми ознаками?
5. Будова бактеріальної клітини.
6. Методи визначення рухливості бактерій. Чим обумовлений самостійний рух мікроорганізмів?

1.3. ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ

Опрацювати табл. 1.1.

Таблиця 1.1

Відмінність між еукаріотами і прокаріотами

Особливості	Прокаріоти	Еукаріоти
Структурна організація		
Замкнуті вторинні порожнини, що утворюються мембранами	відсутні	є
Ендоплазматичний ретикулум	відсутні	є
Розмір цитоплазматичних рибосом	70s	80s
Наявність рибосом в органелі	відсутні	у мітохондріях (70s)
Частина рибосом асоційована з цитоплазматичною мембраною	спостерігається	відсутній
Лізосоми	відсутні	є
Мітохондрії	відсутні	є
Органела, оточена білковою одношаровою мембраною	є	відсутні
Хлоропласти	відсутні	є або відсутні
Апарат Гольджі	відсутній	є
Ядро	нуклеоїд	є
Ядерна мембрана	відсутня	є
Ядерце	відсутнє	є
Вакуолі	зустрічаються рідко	зустрічаються часто

Особливості	Прокаріоти	Еукаріоти
Джгутики	складаються з однієї або декількох фібрил	кожен джгутик складається з 20 фібрил, зібраних у групи
Генетична організація		
Організація ядерної ДНК	ДНК не відокремлена від цитоплазми мембраною	ядерна оболонка оточена мембраною
Хромосома	одне кільце	більше однієї
Гістони в хромосомі	відсутні	є
Хромосома є репліконом	єдиний реплікон	безліч репліконів
Інтрон-екзонна структура хромосом і сплайсинг зчитаних РНК	відсутні	є
Гени	організовані в оперони	зазвичай не організовані в оперони
Для ініціації білкового синтезу присутність на 5'-кінці іРНК	не обов'язкова	необхідна
Мітоз	відсутній	є
Мейоз	відсутній	є
Концентрація ДНК	у нуклеоді	у ядрі, оточеному оболонкою
Способи генетичної рекомбінації	відсутні	є
Функціональні особливості		
Дихальна система	є частиною мембран або мезосом	здійснюється в мітохондріях
Рух цитоплазми	відсутній	часто виявляється
Анаеробіоз	факультативний і облигатний	факультативний
Фагоцитоз	відсутній	є
Піноцитоз	відсутній	є
Внутріклітинне травлення	відсутній	є
Стійкість до опромінювання	дуже висока	низька
Верхня межа температури	75 - 90°C	40 - 60°C
Секреція речовин в бульбашках Гольджі	відсутня	є
Клітинні ендосимбіонти	відсутні	є
Хімічні особливості		
Пептидоглікани у складі клітинної стінки	є	відсутні
Тейхоеві кислоти у складі клітинної стінки	є	відсутні
Стерини у складі мембран	відсутні	є

1.4. ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ

1. До кулястих бактерій належить:

- А. Лептоспіри Б. Сарцини В. Бацили Г. Клостридії

2. Фарбування за Грамом – основна _____ властивість бактерій.

- А. Культуральна Б. Тінкторіальна
В. Біологічна Г. Морфологічна

3. Клітинна стінка грампозитивних бактерій містить:

- А. Пептидоглікан, тейхейові кислоти
Б. Пептидоглікан, зовнішня мембрана, периплазматичний простір
В. Пептидоглікан, тейхейові кислоти, зовнішня мембрана
Г. Пептидоглікан, тейхейові кислоти, периплазматичний простір

4. Нуклеоїд бактерійної клітини виконує функцію:

- А. Ядра Б. Скелету
В. Утворення АТФ Г. Синтезу білка

5. Плазмідни бактерійної клітини приймають участь в:

- А. Синтезі білка Б. Утворенні АТФ
В. Статевому розмноженні Г. Лікарській стійкості

6. До постійних органоїдів бактерій відносяться:

- А. Нуклеоїд Б. Ворсинки В. Спора Г. Капсула

7. Стадії утворення спори:

- А. Проспори, підготовча, дозрівання, утворення оболонки
Б. Підготовча, проспори, утворення оболонки, дозрівання
В. Утворення оболонки, підготовча, проспори, дозрівання
Г. Проспори, дозрівання, утворення оболонки

8. За формою бактерії поділяють на:

- А. Коки, бацили, клостридії
Б. Коки, клостридії, мікоплазми
В. Кулясті, паличкоподібні, ниткоподібні
Г. Коки, палички, бацили

9. Клітинна стінка бактерій відноситься до:

- А. Непостійних органоїдів Б. Постійних органоїдів
В. Оболонки спори Г. Оболонки капсули

10. Морфологічний період пов'язаний з:

- А. Л. Пастером Б. А. Левенгуком В. Р. Кохом Г. Д. Івановським

ТЕМА 2. СИСТЕМАТИКА ТА НОМЕНКЛАТУРА БАКТЕРІЙ

2.1. ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА

2.1.1. Систематика та номенклатура бактерій

Поняття: систематика, класифікація, таксономія, номенклатура, діагностика.

Найчіткіше основні поняття і терміни, що використовуються в систематиці бактерій, були сформульовані академіком РАН Г.О. Заварзіним у монографії "Фенотипова систематика бактерій" (1974 р.).

Систематика – теорія різноманітності організмів, що вивчає відношення між їх групами (класами, таксонами).

Класифікація – поділ численності (безлічі) організмів на групи (класи, таксони).

Таксономія – найменування груп організмів (таксонів), встановлення їх меж і підпорядкування.

Номенклатура – збірник правил найменування таксонів, доповнений списком цих найменувань.

Діагностика (ідентифікація) – спосіб віднайдення заданого таксону та визначення належності об'єкта таксону.

Отже, **систематика** охоплює класифікацію, таксономію, номенклатуру та ідентифікацію. Розглянемо ці поняття детальніше.

Класифікація. Існують різні варіанти класифікації (філогенетична, фенотипові, генотипові, природна, штучна тощо), що зумовлено метою та завданням, покладеними в основу системи.

Досить тривалий час вважалося, що сучасні класифікації є філогенетичними і про спільність походження організмів можуть свідчити однакові метаболічні шляхи (це базується на тому, що кожен фермент виник лише один раз під час еволюції), а також однаковий хімічний склад структурних компонентів клітини, оскільки кожен такий компонент відображає певний біосинтетичний шлях. Але у дійсності всі ці класифікації були фенотиповими, оскільки базувались на подібності морфолого-фізіологічних властивостей організмів.

Згідно з Г. Шлегелем (1987 р.), існує два види класифікацій: *природні (філогенетичні)* та *штучні*. *Філогенетична* класифікація відображає еволюційні зв'язки між організмами. Побудова філогенетичної класифікації – кінцева мета систематики бактерій. На відміну від філогенетичної *штучна* класифікація служить лише для ідентифікації мікроорганізмів і може бути обмеженою, наприклад, базуватись на ознаках, зручних і вигідних для практики.

Таксон. Таксон є основною категорією у бактеріальній систематиці. Розрізняють такі ранги таксонів: царство, відділ, клас, порядок, родина, рід, вид. Є багато визначень поняття "таксон":

Основною одиницею класифікації є **штам** – чиста культура ізольованої

з природного субстрату бактерії.

Штами об'єднуються у *види* (species), види – в *роди* (genus). Подібні роди об'єднуються в *родини*). Родини об'єднуються в *порядки* (латинські назви порядків закінчуються на -ales), порядки – в *класи*. Класи можуть об'єднуватись у відділи.

Номенклатура. На відміну від різноманітності класифікацій номенклатура бактерій менше зазнає змін, оскільки вона підпорядковується міжнародним правилам. У другій половині XVIII ст. Карл Лінней запропонував номенклатурні принципи, які були прийняті біологами. Пізніше було прийнято два кодекси номенклатури: ботанічний і зоологічний. Мікробіологи тривалий час використовували в основному ботанічну номенклатуру. І нарешті, у 1930 р. на Першому міжнародному мікробіологічному конгресі було організовано комісію з номенклатури й таксономії бактерій. Бактеріологічний кодекс номенклатури бактерій був опублікований у 1948 р.. Переглянутий кодекс бактерій було прийнято Міжнародним конгресом з бактеріології у 1973 р. в Єрусалимі та опубліковано у 1975 р. (російською мовою – у 1978 р.). Проте у мікробіології на той час накопичилося багато застарілих назв мікроорганізмів, у результаті чого юридична комісія Міжнародного комітету з систематики бактерій запропонувала переглянути існуючі назви бактерій з метою впорядкування номенклатури. Підсумкові матеріали (Схвалений список найменування бактерій) були опубліковані у 1980 р. у журналі "International Journal of Systematic Bacteriology". Отже, 1980 р. став новим рубежем у розвитку систематики бактерій. Майже два з половиною століття відділяють його від 1 травня 1753 р. – вихідної дати створення номенклатури бактерій.

Для бактерій, так само як для рослин і тварин, використовується *бінарна номенклатура*: родова та видова назви, які записуються в латинській транскрипції. Найменування роду пишеться з великої літери, виду – з малої. Видова назва, як правило, відображає якусь характерну ознаку чи властивість даного виду. Наприклад, *Sarcina flava* – сарцина жовта, *Bacillus mycoides* – грибоподібна паличка.

Ідентифікація. У мікробіологічних дослідженнях, на жаль, використовується дуже мало стандартних методів і дуже часто для ідентифікації пропонуються ознаки, виявлені специфічними методами. Але ідентифікація повинна базуватись на простих, доступних для дослідника, методах. Для цього використовують *дихотомічні ключі*, в яких пропонуються альтернативні твердження, які логічно ведуть до діагностики невідомого організму.

Техніка ідентифікації добре та доступно викладена у розд. I-V дев'ятого видання Визначника бактерій Бергі (далі – Визначник Бергі). Перше видання цього Визначника було опубліковано у 1923 р. групою американських бактеріологів під керівництвом Д.Х. Бергі. Створене з практичною метою, це видання не претендує на еволюційну побудову.

Концепція виду в бактеріології

Найчастіше систематик оперує такою таксономічною категорією, як вид.

Дати чітке визначення виду у бактерій досить складно. Це зумовлено їх біологічними особливостями. Якщо в основі визначення виду у рослин і тварин лежать чітко виражені морфологічні та фізіологічні відмінності, зокрема неможливість схрещування між представниками двох популяцій, то у бактерій ці критерії відсутні. Бактерії морфологічно нерізноманітні, розмножуються безстатевим шляхом, характеризуються наявністю плазмідної спадковості, здатністю обмінюватися генетичним матеріалом між генетично далекими групами. Щоб підійти до визначення виду у бактеріології, розглянемо історію розвитку цього поняття в біології взагалі.

Стихійне уявлення про види живих істот склалося ще в давні часи. З розвитком біології як науки в додарвінівський період з'являються дві основні концепції – *номіналістична* та *типологічна*. Номіналісти вважають, що види реально не існують. Типологічну концепцію можна назвати морфологічною, оскільки в даному разі критерієм виду є морфологічна подібність.

У 40-х роках XX ст. завдяки роботам Бернста Майра сформувалася нова концепція виду – *біологічна*. Вона базується на тому, що види складаються з популяцій, вони реальні, їм притаманна внутрішня генетична інтегрованість внаслідок того, що всі особини (представники) виду мають спільну генетичну програму, яка історично склалася в ході еволюції. Згідно з біологічною концепцією *вид* – це група організмів, здатних до схрещування, які утворюють природні популяції і які репродуктивно ізольовані від інших груп (тобто не можуть схрещуватися з представниками інших груп).

Серед мікробіологів поширена думка, що види бактерій реально не існують. Це пов'язано з браком інформації про реальне існування бактерій у природі, достатньо великою фізіологічною різноманітністю ізолятів, які виділяються з природи. Крім того, стало відомо, що бактерії можуть обмінюватися генетичною інформацією за допомогою плазмід, фатів і шляхом трансформації. При цьому виявилось, що деякі кон'югативні плазміди можуть передаватися і підтримуватися в бактеріях різних систематичних груп. Це дало привід багатьом мікробіологам дійти до висновку, що геноми бактерій не є захищеними і стабільними настільки, наскільки це характерно для еукаріотів. Насправді, у міру того як генетики детально вивчали процеси передачі генетичного матеріалу у бактерій, з'ясувалося, що такі висновки не відповідають дійсності. Так, до факторів, що обмежують проникнення чужорідних генів у клітини прокаріот, можна віднести: систему рестрикції-модифікації; рівень активності ферментів, відповідальних за механізми рекомбінації; систему зовнішньої мембрани, через яку чужорідна ДНК може проникнути, використовуючи тільки певні механізми, які кодуються кон'югативними плазмідами; певну послідовність генів у хромосомах.

На основі цього можна зробити висновок, що для визначення виду у бактерій цілком придатними є критерії, що характеризують вид у еукаріот. Тобто *вид у бактерій – це група організмів, які мають схожий набір і порядок генів на хромосомі та здатні (хоча б потенційно) обмінюватися хромосомними генами і здійснювати їх гомологічну рекомбінацію з великою частотою*.

Проте таке трактування поняття виду у бактерій довго залишалось неузаконеним. Так, Дж. Стенлі та Н. Криг у вступі до дев'ятого видання Керівництва Бергі з систематики бактерій розглядають *вид у бактерій* як колекцію штамів, які характеризуються сукупністю багатьох спільних властивостей і суттєво відрізняються від інших штамів. Вони, правда, визнають, що для чіткішого визначення виду може бути використаний рівень гомології ДНК – показник генетичної спорідненості організму.

Використання молекулярно-біологічних методів у мікробіології внесло певні корективи до уявлень мікробіологів щодо суті виду бактерій. У 2002 р. відбулося засідання Спеціального міжнародного комітету з систематики прокаріот. Комітетом процитовано визначення виду – "*Вид – це категорія, яка обмежує генотипово пов'язану групу штамів, що мають високий ступінь подібності за незалежними ознаками, визначеними за певних стандартних умов*".

2.1.2. Характеристика таксонів за дев'ятим виданням Керівництва Бергі з систематики

Згідно визначника Бергі всі бактерії, об'єднані у царство прокаріота і поділяються на 4 відділи.

I. *Gracilicutes* (грамнегативні, які мають клітинну стінку);

II. *Firmicutes* (грампозитивні, які мають клітинну стінку);

III. *Tenericutes* (бактерії, які не мають клітинної стінки);

IV. *Mendosicutes* (архебактерії).

Назви відділів бактерій утворені від латинських слів: *cutes* – шкіра; *gracilus* – тонкий, стрункий; *firmus* – міцний; *tener* – м'який, ніжний; *mendosus* – помилковий.

Відділи поділяються на класи, класи – на частини, частини – на порядки, триби, родини, роди.

Відділ Gracilicutes

Сюди належать прокаріоти зі складною (грамнегативного типу) будовою клітинної стінки. Стінки складаються із зовнішньої мембрани, тонкого внутрішнього шару пептидоглікану і додаткових інших компонентів зовні чи між цими двома шарами. Грамнегативні. Клітини сферичної чи овальної форми, у вигляді прямих чи вигнутих паличок, спіралей, нитчасті; деякі з цих форм можуть бути оточені чохлам або капсулою. Розмножуються бінарним поділом, але для деяких груп характерне брунькування. Міксобактерії можуть утворювати плодові тіла та мікроспори. Ендоспор не утворюють. Багато представників – рухливі (рух за допомогою джгутиків чи ковзанням).

Відділ Gracilicutes поділяється на три класи:

Scotobacteria (складається з 14 частин – № 1-14) ;

Anoxyphotobacteria (складається з однієї частини – № 15);

Oxyphotobacteria (складається з однієї частини – № 16).

Клас *Scotobacteria*

Частина 1. Спірохети. Грамнегативні клітини спіралеподібної форми,

надзвичайно гнучкі, рухливі за рахунок периплазматичного джгутика, а не джгутика, який виступає з клітини в зовнішнє середовище.

Хемоорганогетеротрофи. Спор не утворюють, розмножуються поперечним поділом. Анаероби, мікроаерофіли, факультативні анаероби або аероби. Зустрічаються як вільно існуючі або в асоціаціях з тваринами, молюсками, членистоногими або людиною. Деякі патогенні.

Представниками вільно існуючих видів, мешканців стічних і забруднених вод, прісної та морської води, що містить сірководень, є бактерії роду *Spirochaeta*. Вони зброджують глюкозу з утворенням оцтової, молочної, щавлевої, мурашиної кислот, етанолу, вуглекислого газу та водню.

Серед паразитів (*Treponema*, *Borrelia*, *Leptospira*) є патогенні види: *Treponema pallidum* – збудник сифілісу, *Leptospira interrogans* – збудник лептоспірозу.

Частина 4. Грамнегативні аеробні палички та коки.

Хемоорганогетеротрофи, але деякі можуть рости автотрофно, використовуючи H_2 як донор електронів. Не утворюють простеків, стеблинок, чохлів чи газових вакуолей. Нездатні до руху ковзанням. Ростуть в атмосфері повітря. Метаболізм дихального типу з використанням кисню як акцептора електронів. Деякі здатні до анаеробного дихання з іншими, ніж кисень, акцепторами електронів. Зустрічаються в ґрунті, прісній і морській воді, коренях рослин або в репродуктивних органах, кишечнику тракті і ротовій порожнині людини і тварин. Деякі патогенні для тварин або людини.

Бактерії об'єднані у вісім родин.

Псевдомонади (родина *Pseudomonaceae*) – облигатні аероби, деякі види факультативно анаеробні, не фіксують молекулярний азот, рухливі (полярні джгутики) поодинокі прямі чи вигнуті палички. (*Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida*). *Pseudomonas aeruginosa* – патогенна бактерія, здатна викликати отит, пневмонію, менінгоенцефаліт, нагноювання ран.

Родина *Azotobacteriaceae* являють собою паличкоподібні клітини, які залежно від віку та умов культивування змінюють свою форму. Здатні утворювати цисти. Головна особливість – здатність фіксувати молекулярний азот. *Azotobacter chroococcum* – перший аеробний вільно існуючий азотфіксатор (на 1 г спожитого вуглецю фіксується 10 мг і більше азоту). Препарат азотобактерин, виготовлений на основі живих культур азотфіксаторів, призначений для збагачення ґрунту азотом і підвищення урожайності сільськогосподарських культур. *Azotobacter vinelandii* – продуцент полісахариду альгінату, що за складом аналогічний рослинним полісахаридам, які виділяють з морських водоростей.

Бактерії роду *Rhizobium* (бульбочкові бактерії) здатні фіксувати азот в умовах симбіозу з бобовими рослинами. Видова назва бульбочкових бактерій визначається в основному рослиною-хазяїном (*Rhizobium leguminosarum*, *Rhizobium meliloti*). Бактерії роду *Agrobacterium* (*Agrobacterium tumefaciens*) є внутрішньоклітинними паразитами, вони проникають у тканину рослини-хазяїна через пошкодження і викликають пухлини на коренях, стеблах чи листях рослин.

Родина Acetobacteriaceae об'єднує бактерії, здатні окислювати етанол до оцтової кислоти в нейтральному або кислому середовищі (рН 4,5).

Бактерії родів *Neisseria*, *Moraxella*, *Kingella* є паразитами (збудники гонореї, менінгіту, захворювань слизових оболонок людини та теплокровних тварин).

Частина 5. Факультативно анаеробні грамнегативні палички.

Хемоорганогетеротрофи, але деякі можуть рости автотрофно, використовуючи H_2 як донор електронів. Не утворюють простеків, стеблинок, чохлів чи газових вакуолей. Здатні рости в атмосфері повітря, метаболізм дихального типу, здатні також рости гетеротрофно за рахунок бродіння. Зустрічаються як вільно існуючі форми, так і в асоціаціях з тваринами, людиною чи рослинами. Деякі патогенні.

Бактерії об'єднані у три родини: родина *Enterobacteriaceae* складається із 30 родів. Типовим родом родини *Enterobacteriaceae* є рід *Escherichia* (типовий вид – *Escherichia coli* – кишкова паличка). Патогенні види є серед представників роду *Salmonella* (збудник черевного тифу), *Shigella* (збудник дизентерії), *Klebsiella*. Фітопатогенні види зустрічаються серед бактерій родів *Erwinia*, *Enterobacter*.

Частина 6. Грамнегативні анаеробні прямі, вигнуті та спіральні палички.

Хемоорганогетеротрофи. Облігатні анаеробні, неспороутворювальні, нерухливі чи рухливі палички, схильні до плеоморфізму. Одержують енергію за рахунок анаеробного дихання чи бродіння. В анаеробному диханні не використовують як термінальний акцептор електронів сульфат, інші окиснені сполуки сірки чи елементну сірку.

Бактерії об'єднані в одну родину *Bacteroidaceae* і 13 родів (*Butyrivibrio*, *Succinivibrio*, *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Leptotrichia*, *Wolinella*, *Anaerovibrio*, *Acetivibrio* тощо). Бактерії цієї групи живуть у ротовій порожнині, травному каналі людини, тварин і комах. Деякі види патогенні (окремі види *Fusobacterium* зустрічаються при гнійних і гангренозних інфекціях). Бактерії різних родів відрізняються за кінцевими продуктами бродіння: представники роду *Butyrivibrio* з глюкози утворюють бутират, *Succinivibrio* – сукцинат, *Acetivibrio* – ацетат. *Fusobacterium* накопичують як основний продукт бродіння масляну кислоту, *Leptotrichia* – молочну кислоту, *Bacteroides* – суміш кислот (бурштинову, оцтову, мурашину та ін.).

Частина 9. Рикетсії та хламідії.

Облігатні внутрішньоклітинні паразити еукаріотичних хазяїв (хребетних і членистоногих). Клітини паличкоподібні, кокоподібні та плеоморфні. Багато видів патогенні.

Рикетсії трибу *Rickettsieae* є патогенними для людини (спричиняють сипний тиф, лихоманки), трибу *Ehrlichieae* – непатогенними. Бактерії трибу *Wolbachieae* є симбіонтами членистоногих, непатогенні, за винятком роду *Rickettsiella* – патогенів для личинок комах і деяких інших безхребетних. Рикетсії родини *Bartonellaceae* виявляються в еритроцитах людини і хребетних тварин. Дрібні рикетсіальні форми родини *Anaplasmataceae* є облігатними

паразитами плазми та еритроцитів крові багатьох диких і домашніх тварин.

Хламідії – це облигатні внутрішньоклітинні паразити людини та хребетних тварин, які розмножуються тільки у цитоплазмі крові.

Частина 10. Ковзні бактерії.

Хемоорганотрофні, облигатно аеробні бактерії, позбавлені джгутиків, але здатні ковзати по твердій поверхні. За браку поживних речовин клітини агрегують з утворенням плодових тіл, які складаються із слизу та клітин, часто яскраво забарвлених і видимих неозброєним оком. Плодові тіла варіюють від простих грудочок до складних структур, які мають спорангії характерних форм і розмірів, розміщені поодинокі чи в групах на простих стеблинках, або на таких, які галузяться. Клітини всередині плодових тіл являють собою форми спокою (міксоспори або мікроцисти).

Плодові тіла здатні утворювати представники порядку *Mycobacteriales*. Міксобактерії характеризуються високою активністю літичних ферментів, які зумовлюють гідроліз білка, нуклеїнових кислот, полісахаридів та ін. Завдяки цьому вони активно руйнують мертві рослинні залишки, лізують клітини прокаріот та еукаріот. Існують у ґрунті, на рослинному матеріалі, який розкладається, корі живих дерев.

Частина 11. Бактерії, які мають чохли.

Хемоорганогетеротрофи. Аероби. Нездатні до руху ковзанням. Характерним є ріст у вигляді ниток, клітини яких оточені чохлами (трубка чи позаклітинна речовина). При спостереженні у вологому препараті за допомогою фазово-контрастної мікроскопії трубка виглядає прозорою, нагадуючи пластикову мікротрубочку чи дудку. Іноді чохол буває настільки тонким і так щільно прилягає до клітини, що його неможливо розрізнити при фазово-контрастній мікроскопії. При добавленні в препарат 95% етанолу чохол стає видимим. Чохли можуть мати колір від жовтого до темно-коричневого за рахунок відкладень у них оксидів заліза та марганцю. Поодинокі клітини можуть бути рухливими за рахунок полярних або субполярних джгутиків або нерухливими.

Бактерії є вільноплаваючими чи прикріпленими до занурених у воду рослин, каменів та інших предметів. Існують у стічних водах, активному мулі, у морських і прісних водоймах. *Leptothrix* – розвиваються у місцях, багатих на органічний матеріал і залізо.

Частина 13. Грамнегативні хемолітотрофні бактерії. Залежно від хімічної природи неорганічних сполук, які є для бактерій джерелом енергії, поділяються на такі групи:

1) нітрифікатори. Можуть використовувати як джерело енергії для росту відновлені неорганічні сполуки азоту (аміак і нітрит);

2) бактерії, які окислюють сірку. Можуть окислювати відновлені неорганічні сполуки сірки, причому багато які організми використовують їх як єдине джерело енергії;

3) облигатні окисники водню, які використовують молекулярний водень як джерело енергії для росту. Органічні джерелавуглецю не використовують;

Клас *Anoxyphotobacteria*.

Частина 15. Фототрофні бактерії.

Бактерії, які містять бактеріохлорофіл, каротиноїди і здатні використовувати світло як джерело енергії. Ростуть на світлі в анаеробних умовах і не виділяють кисень у процесі фотосинтезу. Деякі здатні рости в темноті за рахунок кисневого дихання. Можуть існувати фотоавтотрофно, фотогетеротрофно та хемогетеротрофно. Не можуть використовувати як донор водню воду, вони потребують донорів з більш високим ступенем окиснення (сірководень, водень, органічні сполуки). Тому фотосинтез у них проходить без виділення кисню (аноксигенний фотосинтез). Не містять фікобіліпротейнів. Морфологічно різноманітна група – коки, палички, вигнуті форми (спірили, вібріони), рухливі та нерухливі.

Таксономія. Бактерії належать до двох порядків. Перший порядок *Rhodospirillales* (пурпурові бактерії) об'єднує родини *Rhodospirillaceae* (несіркові пурпурові бактерії) та *Chromatiaceae* (сіркові пурпурові бактерії), другий порядок *Chlorobiales* (зелені бактерії) – родини *Chlorobiaceae* (зелені сіркові бактерії) та *Chloroflexaceae*.

Характеристика представників. За здатністю використовувати елементну сірку як донор електронів поділяються на сіркові та несіркові бактерії.

Спільним для представників порядку *Rhodospirillales* є те, що їх фотосинтетичний апарат міститься на внутрішніх мембранах (*тилакоїдах*), які утворюються з інвагінацій плазматичної мембрани. Для представників порядку *Chlorobiales* характерна наявність *хлоросом* – органел, які вміщують пігмент і прилягають до плазматичної мембрани. Саме у хлоросомах міститься бактеріохлорофіл.

Пурпурові та зелені бактерії існують у водоймах із вмістом сірководню 20-100 мг/л і вище, що забезпечує їм анаеробні умови існування. Несіркові бактерії розвиваються у водоймах, багатих на органічні речовини. Живуть у солоних і прісних водоймах. Очевидно, є найдавнішими бактеріями на Землі.

Клас *Oxypotobacteria*.

Частина 16. Ціанобактерії.

Бактерії, які містять хлорофіл *a*, використовують світло як джерело енергії та виділяють кисень (як зелені рослини). Поділяються на дві групи:

1) організми, які містять хлорофіл *a* та фікобіліпротейни (алофікоціанін, фікоціанін, іноді фікоеритрин). Мають назву *ціанобактерії*;

2) організми, які містять хлорофіли *a* та *b* (який властивий тільки зеленим водоростям і вищим рослинам), але не фікобіліпротейни. Називаються *прохлорофітами*.

Відділ *Firmicutes*.

Сюди належать прокаріоти з грампозитивним типом будови клітини; фарбування за Грамом, як правило (хоча і не завжди), позитивне. Форма клітин може бути сферичною, паличкоподібною, нитчастою. Палички та нитки можуть бути такими, що гілкуються. Розмноження бінарним поділом. Деякі представники утворюють спори як форми спокою (ендоспори чи спори на гіфах або в спорангіях). Більшість представників нерухливі. Рухливі мають

джгутики. Нефотосинтезувальні організми. Як правило, це хемогетеротрофи, серед яких є аероби, анаероби, факультативні анаероби та мікроаерофіли. До цієї групи належать прості аспорогенні та споро-утворювальні бактерії, а також актиноміцети та споріднені з ними організми. Поділяються на два класи:

Firmibacteria (складаються з трьох частини, № 17-19);

Thallobacteria (складаються з однієї частини № 20).

Клас *Firmibacteria*.

Частина 17. Грампозитивні коки.

Хемоорганотрофні, мезофільні, грампозитивні коки, що не утворюють спор і поділяються так:

1) аеробні коки, розміщені попарно, в скупченнях, тетрадах. Каталазопозитивні. Містять цитохроми. У клітинних стінках відсутні тейхоеві кислоти. Утворення кислот з вуглеводів часто відсутнє або слабо виражене (родина *Micrococcaceae*);

2) факультативно анаеробні або мікроаерофільні коки, розміщені попарно, в ланцюжках, кластерах або тетрадах. Присутність каталази, цитохромів і тейхоевих кислот у складі клітинної стінки – варіабельні ознаки (родина *Streptococcaceae*);

3) строго анаеробні коки, розміщені попарно, в ланцюжках, тетрадах або пакетах кубічної форми. Цитохроми не виявлені. Результати тесту на каталазу, як правило, негативні, хоча в деяких випадках спостерігається слабка або псевдокаталазна активність (родина *Peptococcaceae*).

Таксономія. Бактерії об'єднані у три родини: родина *Micrococcaceae* (роди: *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Planococcus*); родина *Streptococcaceae* (роди: *Streptococcus*, *Pedococcus*, *Aerococcus*, *Gemella*, *Leuconostoc*); родина *Peptococcaceae* (роди: *Peptococcus*, *Ruminoccus*, *Peptostreptococcus*, *Sarcina*). У Керівництві Бергі з ідентифікації бактерій (1997 р.) ця група бактерій складається з 24 родів, більша половина з яких не увійшла до *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, оскільки була вперше описана після виходу його у світ.

Характеристика представників. Бактерії родини *Micrococcaceae* є аеробами. Це коки, які діляться більш як в одній площині. Хемоорганогетеротрофи. Рухливі або нерухливі. Існують у ґрунтах, прісних водах, на шкірі людини і тварин (рід *Micrococcus*), шкірних залозах, слизових оболонках теплокровних тварин і людини (рід *Staphylococcus*), у морській воді (рід *Planococcus*). В основному сапрофіти, але є патогенні види (*Staphylococcus aureus* – спричиняє фурункули, гнійні процеси і навіть сепсис).

Класифікація родів родини *Streptococcaceae* ґрунтується на морфологічних ознаках і продуктах бродіння: бактерії родів *Streptococcus*, *Pedococcus*, *Aerococcus* зброджують глюкозу з утворенням молочної кислоти, тобто є гомоферментативними. Бактерії роду *Leuconostoc* є гетероферментативними, оскільки у процесі зброджування глюкози утворюється не тільки молочна кислота, а й етанол, оцтова кислота, CO₂. Існують у ґрунтах, повітрі, воді, молоці та молочних продуктах (*Streptococcus lactis*, *Streptococcus cremoris*), квашених овочах, харчових продуктах. Можуть

бути причиною псування продуктів (цукрового сиропу –

Leuconostoc mesenteroides, пива – *Pediococcus*). Є паразитами ссавців (*Gemella*, *Streptococcus*). Особливо патогенними є стрептококи, які викликають у людини ряд захворювань (лімфаденіти, абсцеси, інфекції легенів, нирок та ін.).

До складу родини *Peptococcaceae* входять анаеробні нерухливі коки. У процесі бродіння утворюють CO₂, H₂, нижчі жирні кислоти, сукцинат, етанол. Молочна кислота не є основним продуктом бродіння. В основному сапрофіти – мешканці ґрунту (*Sarcina*), поверхні зернових культур, ротової порожнини і дихальних шляхів людини і тварин (*Peptococcus*), рубця жуйних тварин (*Ruminococcus*). Є патогенні види (*Peptostreptococcus*).

Частина 18. Палички та коки, що утворюють ендоспори.

Бактерії, які утворюють стійкі до нагрівання ендоспори. Для перевірки на присутність ендоспор найкращим тестом є нагрівання при 70-80°C упродовж 10 хв. з наступним культивуванням у сприятливих умовах. Найчастіше – рухливі палички або нитки, але один рід представлений рухливими коками (розміщені в тетрадах або кубічних пакетах). Здебільшого грампозитивні, зокрема в молодих культурах, але представники одного роду є грамнегативними. Облігатні аероби, факультативні анаероби, мікроаерофіли або строгі анаероби. Хемоорганотрофи. У одного роду анаеробних бактерій анаеробне дихання відбувається з використанням сульфату як термінального акцептора електронів.

Таксономія. Бактерії об'єднані в одну родину *Bacillaceae*, яка складається з п'яти родів (*Bacillus*, *Sporolactobacillus*, *Clostridium*, *Sporosarcina*, *Desulfotomaculum*). У Керівництві Бергі з ідентифікації бактерій (1997 р.) ця група бактерій складається з 10 родів, тобто після виходу у світ *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* описано п'ять нових родів (*Amphibacillus*, *Oscillospira*, *Sporohalobacter*, *Sulfobacillus*, *Syntrophospora*).

Характеристика представників. Ця група бактерій характеризується великою різноманітністю властивостей. Серед них є маслянокислі бактерії (*Clostridium butyricum*), ацетобутилові (*Clostridium acetobutyricum*), уролітичні (*Sporosarcina ureae*), фіксатори атмосферного азоту (*Clostridium pasteurianum*), продуценти антибіотиків, ферментів, амінокислот, токсинів. Продуцентами всіх цих біологічно активних сполук є представники роду *Bacillus*. Кількість антибіотиків, які продукуються бактеріями цього роду, наближається до 200. За цим показником бацили поступаються лише стрептоміцетам. Найбільш продуктивним видом є *Bacillus subtilis*, для якого описано понад 70 різних антибіотиків. Близько 30 антибіотиків утворюють штами *Bacillus brevis*. Найважливішими антибіотиками є поліміксин, бацитрацин, граміцидин С, субтилін та ін. Бацилам притаманна амілолітична, пектинолітична, ліполітична, целюлозолітична, протеолітична активність. Живі культури бацил є основою *пробіотинів* – біопрепаратів лікувального та профілактичного спрямування, яким притаманні антимікробні та імуномодулювальні властивості. Встановлено, що *Bacillus subtilis* індукує утворення інтерферону другого типу. Інтерфероногенність бацил пов'язують з

продукуванням ними позаклітинних лектинів.

Бактерії цієї групи існують у ґрунтах, донних відкладеннях, мулі, прісних і солоних водоймах. Сапрофіти, але є і паразити, навіть особливо патогенні: види клостридій викликають газову гангрену, ботулізм.

Частіша 19. Грампозитивні паличкоподібні бактерії, які не утворюють ендоспор. Прямі чи вигнуті палички, нерухливі (є небагато рухливих), факультативні чи облігатні анаероби.

Таксономія. Бактерії цієї групи об'єднані в одну родину *Lactobacillaceae* і представлені одним родом *Lactobacillus*. До цієї родини віднесено рід *Saryorphanon* з неясним систематичним положенням. У Керівництві Бергі з ідентифікації бактерій (1997 р.) ця група бактерій значно розширена і представлена вісьмома родами, які поділяються за фізіологічними ознаками на три основні групи. *Характеристика представників.* Мешканці рослин, молока та молочних продуктів, пива, солінь, маринадів, травного тракту людини та теплокровних тварин. Сапрофіти, за винятком тих, які відіграють певну роль у карієсі зубів. Основним продуктів бродіння є молочна кислота, тому ці бактерії називають "молочнокислими".

Клас *Thallobacteria*

Частина 20. Актиноміцети та споріднені організми. Актиноміцети – це грампозитивні бактерії, які утворюють розгалужені нитки або гіфи у вигляді міцелію, тобто утворюють подібність міцелію (повітряного та субстратного). Міцелій може бути стабільним або розпадатися на паличкоподібні та кокоподібні елементи. Якщо міцелій зберігається, то утворюються спори, за допомогою яких відбувається розмноження. Спори можуть

Розглянемо характеристику представників груп бактерій згідно з цим виданням.

Корінеформи (група 20). *Корінеформні бактерії* – це грам-позитивні паличкоподібні форми, схильні до морфологічної мінливості з утворенням булавоподібних, слабкорозгалужених клітин, які часто розміщуються під кутом у вигляді літер V, Y. Мають також вигляд неправильних паличок, які переходять у кокоподібні форми (притаманний цикл кок–паличка–кок). Більшість нерухливі, некислотостійкі, хемоорганогетеротрофи, переважно облігатні аероби, але є факультативні анаероби. Бактерії роду *Corynebacterium* є аеробними органотрофами. Існують у ґрунті, воді, повітрі, ряд видів є збудниками хвороб рослин, тварин і людини (наприклад, збудник дифтерії – *Corynebacterium diphtheriae*). Артробактерії живуть у ґрунті, здійснюють процеси амоніфікації, нітрифікації, фіксації молекулярного азоту, розкладають пластмаси, гербіциди, фунгіциди, сполуки із вмістом ртуті. Бактерії роду *Cellulomonas* розкладають целюлозу, їх клітинні стінки не містять ні .іезо-діамінопімелінової кислоти, ні арабінози.

Анаеробні мікроорганізми у цій групі представлені орґано-трофними неспоровими бактеріями: маслянокислими *Eubacterium*, *Butyriouibrio*, гомоацетатними *Acetobacterium*, молочнокислими *Bifidobacterium*, пропіоновокислими *Propionibacterium*, термофільними *Thermoanaerobacter*, які здійснюють різноманітні види бродінь з виділенням H₂ та утворенням

різних жирних кислот.

Мікобактерії (група 21). До цієї групи входять кислотостійкі аеробні нерухливі органотрофні палички *Mycobacterium*, які не утворюють спор. Характеризуються повільним ростом (від 2 до 40 діб) і *кислотостійкістю* (після фарбування не знебарвлюються при обробці підкисленим спиртом або сильними неорганічними кислотами). Кислотостійкість зумовлена присутністю у клітинних стінках *міколових кислот*, які містять 78-95 атомів вуглецю. Тільки довго ланцюгові міколові кислоти надають клітинам кислотостійкості. Слід зазначити, що міколові кислоти присутні у клітинних стінках корінебактерій (під *Corynebacterium*) та нокардій (під *Nocardia*), але їх ланцюги мають меншу довжину (у міколових кислотах корінебактерій міститься 32–36 атомів вуглецю, у нокардій – 48-58), і тому ці бактерії некислотостійкі. За Грамом, фарбуються слабо. Іноді утворюють нитки, які галузяться. Повітряний міцелій не утворюють. Біль-

шість сапрофіти, але є патогенні для людини (збудник туберкульозу). Живуть у ґрунті, воді, тканинах тварин.

Нокардієформи (група 22). До цієї групи входять схильні до утворення розгалужених форм і слабо розвинутого міцелію грампозитивні бактерії. Типовим родом групи є *Nocardia*. Органо-трофні бактерії роду *Rhodococcus* незважаючи на свою назву не мають нічого спільного з пурпуровими несірковими бактеріями. Аероби, які відносно повільно ростуть, здатні ефективно використовувати вуглеводні нафти.

Геодерматофіли і франки (група 23). Розглядаються як актиноміцети, що не утворюють міцелій. Роди: *Dermatophilus*, *Geodermatophilus*., *Frankia*. **Аеробні органотрофи.** *Frankia* є азотфіксувальним симбіонтом вільхи, який утворює на її коренях бульбочки (подібно до ризобій). Характеризуються наявністю типового повітряного міцелію зі спорангієм, розділеним на багато спор.

Актиноплани (група 24). Водні актиноміцети, утворюють добре розвинутий як субстратний, так і повітряний міцелій. Спори утворюються у мішкоподібних спорангіях, в яких витримують висушування. Але при зволоженні спори вивільнюються у вигляді рухливих джгутикових клітин. Роди: *Actino-planes*, *Dactylosporangium*.

Стрептоміцети (група 25). Саме за ними закріпилася тривіальна назва: актиноміцети. Вони утворюють добре розвинутий міцелій, розмножуються конідіями. Мають будову, аналогічну будові грибів, але з більш тонкими прокаріотними гіфами, які містять багато нуклеоїдів і не завжди розділені на окремі клітини. Це насамперед ґрунтові організми, які пристосовані до існування у відносно засушливих умовах. їм притаманна висока гідролітична активність щодо різних полімерів. Багато які стрептоміцети асимілюють целюлозу, хітин та інші природні речовини, що важко розкладаються. Міцелій поділяється на субстратний і повітряний, який служить для розмноження. Коні-діеспори є одночасно і органами розмноження, і формами спокою. Стрептоміцети є продуцентами антибіотиків (стрептоміцин, хлороміцетин, ауреоміцин, тетрацикліни). Роди: *Streptomyces* (понад 500 видів),

Streptoverticillium, Intrasporangium, Kineosporia, Sporichthya.

Мадуроміцети або олігоспорові актиноміцети (група 26). Мають таку саму міцеліальну будову, що й інші актиноміцети, але на відміну від них утворюють невелику кількість конідій.

Роди розрізняються перш за все формою конідієносців. Роди: *Actinomadura, Microbispora, Planomonospora, Microtetraspora, Spirillospora, Streptosporangium.*

Термоактиноміцелій (групи 27 і 28). Виділені за їх здатністю до помірної термофілії. Роди: *Thermoactinomyces, Thermo-monospora, Actinosynnema, Nocardiosis, Streptoalloteichus.*

Інші роди (група 29). Утворюють повітряний міцелій з ланцюжками спор. Роди: *Glycomyces, Kitasatospora, Saccharothrix.*

Відділ Tenericutes

Сюди належать прокаріоти, у яких відсутня клітинна стінка (називаються мікоплазмами) і які не здатні до синтезу попередників пептидоглікану. Клітини оточені елементарною плазматичною мембраною, плеоморфні, розрізняються за розмірами (найменший розмір 0,15-0,20, найбільший – 10 мкм). Характерні нитчасті форми, що гілкуються. Розмноження може відбуватися брунькуванням, фрагментацією та/або бінарним поділом. Нерухомі, для деяких видів характерна рухомість (ковзання). За Грамом, не фарбуються. Для росту потрібні складні поживні середовища (середовища з високим осмотичним тиском). Ці організми інколи нагадують L-форми бактерій, які не мають клітинної стінки (особливо часто виникають у грампозитивних еубактерій), але відрізняються від цих еубактерій тим, що не здатні ревертувати до нормального типу і утворювати клітинну стінку. Багатьом видам додатково потрібні для росту холестерол і довголанцюгові жирні кислоти. Вміст ГІД в ДНК – 23-46 %.

Відсутність клітинної стінки зумовила своєрідність будови бактерій цієї групи: 1) поліморфізм клітин – сферичні, еліпсоподібні, дископодібні, паличкоподібні, нитчасті, такі, що галузяться; 2) стійкість до антибіотиків, які специфічно діють на клітинну стінку (наприклад, до пеніциліну та його аналогів); 3) наявність добре розвинутої стабільної еластичної плазматичної мембрани.

Об'єднані в клас Mollicutes (складається з однієї частини – № 21). У Керівництві Бергі з ідентифікації бактерій (1997 р.) мікоплазми розміщені у групі № 30. Представники цього класу є найдрібнішими прокаріотами, здатними самостійно розмножуватися. Вони об'єднані в порядок *Mycoplasmatales* і три родини: *Mycoplasmataceae, Acholeplasmataceae* і *Spiroplasmataceae*. Класифікація мікоплазм на родини проведена за їх відношенням до стеринів: стеринзалежні мікоплазми родини *Mycoplasmataceae* потребують екзогенного холестерину (та інших стеринів), який є основним компонентом мембранних ліпідів паразитичних мікоплазм; мікоплазми родини *Acholeplasmataceae* є стерин-незалежними.

Енергію одержують за рахунок окиснення чи зброджування органічних сполук (моно- і полісахариди), неорганічних сполук (залізо, марганець).

Відсутність хінонів і цитохромів свідчить про те, що дихальний ланцюг у них обмежений. Більшість – аероби, є облигатні анаероби. Є ацидофіли, які здатні рости тільки в умовах високої кислотності середовища – *Thermoplasma acidophilum*, рН 1-4. Представники роду *Thermoplasma* є термофілами, деякі мікоплазми здатні гідролізувати сечовину (рід *Ureaplasma*).

Серед мікоплазм виявлені сапрофітні, паразитичні та патогенні форми. Останні спричиняють хвороби тварин, рослин і культур тканин.

У тварин мікоплазми зустрічаються як відносно безпечні паразити на слизових оболонках дихальних шляхів і статевих органів. Ці організми є мембранними паразитами, тобто досить міцно прикріплюються до епітеліальних клітин слизових оболонок. Вони не виділяють токсинів, але завдяки відсутності клітинних стінок навіть такі слабкотоксичні продукти, як іони амонію та перекис водню, несприятливо діють на мембрану пошкоджених клітин тварини. Зараження мікоплазмами у одних тварин не викликає ніяких симптомів хвороби, у інших розвивається запалення дихальних шляхів, легенів.

У рослин мікоплазми є збудниками захворювань етіювання. Вони переважно локалізуються у флоємі і у зв'язку з їх зовнішньою подібністю із спірилами об'єднані в рід *Spiroplasma*. *Spiroplasma citri* – збудник хвороби етіювання цитрусових. Подібні форми були виявлені у інших рослин (кукурудза, бермудська трава, рис). *Spiroplasma* була виявлена також у бджіл і коників. Ймовірно, що комахи не тільки переносять мікоплазми, але і є їх хазяями.

Відділ *Mendosicutes*

Архебактерії – це переважно ґрунтові або водні мікроорганізми, які зустрічаються в анаеробних умовах у гіперсолоних, гідро- та геотермальних середовищах, а також як симбіонти у травному тракті тварин. До цієї групи входять аероби, анаероби, факультативні анаероби, здатні рости як хемолітоавтотрофи, гетеротрофи або факультативні гетеротрофи. Архебактерії можуть бути мезо- чи термофілами, причому деякі види здатні рости при температурі вище 100°C. Унікальна біохімічна особливість архебактерій полягає в тому, що до складу ліпідів у них входять ізопренільні ефіри гліцерину. Відсутність муреїну (пептидоглікану, який вміщує мурамову кислоту) в клітинних стінках робить архебактерії стійкими до Р-лактамних антибіотиків (пеніцилінів). Нуклеотидні послідовності 5S-, 16S- та 23S рРНК сильно відрізняються від відповідних у еубактерій та еукаріот. Асиміляція вуглецю в автотрофних архебактерій відбувається не в циклі Кальвіна. CO₂ фіксується через ацетил-КоА-шлях або через відновлювальний цикл трикарбонових кислот. Деякі архебактерії здатні фіксувати молекулярний азот. Серед *коферментів* та *простетичних груп* зустрічаються компоненти, які хоч і подібні до таких у еубактерій та еукаріот, але не ідентичні їм: похідне 5-деазарибофлавіну F₄₂₀, нікельтетрапірольний фактор F₄₃₀, метаноптерин, кофермент М.

Результати фарбування за Грамом можуть бути позитивними або негативними всередині одного порядку. Форма клітин різноманітна:

сферична, спіральна, пластинчаста, паличкоподібна. Зустрічаються одно- та багатоклітинні форми у вигляді ниток або агрегатів. Діаметр окремих клітин варіює від 0,1 до 15 мкм, а довжина ниток може досягати 200 мкм. Розмноження відбувається бінарним поділом, брунькуванням, перетяжкою, фрагментацією або невідомими способами.

2.2. ПРАКТИЧНА ЧАСТИНА

2.2.1. Виготовлення і фіксація мазків із культур бактерій та патологічного матеріалу, простий метод їх фарбування. основні фарби і робочі розчини

Мета заняття: Оволодіти методикою приготування мазка-препарату. Познайомитися з основними фарбами, що використовують у бактеріології, засвоїти простий метод фарбування фіксованих мазків.

Матеріальне забезпечення. Пробірки з сумішшю мікроорганізмів (стафілококи, кишкова паличка, вакцинний штам бацили сибірки), імерсійна олія, предметні скельця, бактеріологічні петлі, пастерки, спиртівки, водні розчини фуксину та метиленової синьки, фільтрувальний папір, прилади для промивання мазків, пінцети, дезрозчин (5% фенол) для предметних скелець.

Зміст заняття.

Взяття матеріалу: бактеріологічну петлю фламбують у полум'ї спиртівки, витягують корок з пробірки, яку тримають в лівій руці. Вводять петлю у пробірку, охолоджуючи її по внутрішній стінці пробірки. Беруть матеріал, виймають петлю, пропалюють край пробірки, закривають корком. Краплю матеріалу наносять на предметне скло для приготування мазка-препарату.

Приготування мазків з органів і тканин. Спочатку для знищення мікрофлори, що є на поверхні органів і тканин, місце взяття матеріалу припалюють розжареним шпателем і стерильним скальпелем роблять розріз, після чого із свіжорозрізаного місця профламбованою бактеріологічною петлею беруть матеріал. Його наносять на предметне скельце і тонким шаром рівномірно розмазують на поверхні площею 6 см². Можна взяти трохи пульпи з розрізу, перенести її в краплю фізрозчину на запасному склі, а потім з нього беруть і готують мазок.

Приготування мазка – відбитка. Стерильним скальпелем відрізають із середньої частини органу чи тканини невеликий шматочок матеріалу і за допомогою пінцету притискають його до предметного скельця. Рідкий матеріал (гній, слиз, ексудат) наносять у вигляді краплі на середину предметного скла, зверху покривають іншим склом. Розтягнувши скельця у різні сторони, отримують два мазки.

При виготовленні мазків із крові, лімфи їх наносять у вигляді краплі на предметне скло з правої сторони і підводять до них під кутом 450 інше предметне скло з рівними краями або шліфувальне скло. Після розтікання

краплі вздовж скла рівномірним рухом розподіляють її по предметному склу у вигляді тонкого мазка.

Приготування мазка з мікробних культур. На чисте знежирене предметне



Рис.2.1. Робоче місце бактеріолога

скло наносять краплю води або фізрозчину, петлею вносять дослідний матеріал і розподіляють його на предметному склі так, щоб отримати рівномірний мазок площею 1-1,5 см. Якщо дослідний матеріал – рідина, то попередньо краплю води або фізрозчину не наносять. Мазок висушують на повітрі, або ж в струмені теплого повітря над полум'ям спиртівки.

При приготуванні мазків із дуже дрібних колоній, їх беруть нікельованою голкою злегка зігнутою на кінці. Кінчиком голки обережно забирають з центра колонії бактерійну масу, готують суспензію у фізрозчині і роблять бакпетлею мазок.

Для фіксації бактерійних клітин на поверхні предметного скла останнє на протязі 3-5 секунд декілька разів проводять крізь полум'я спиртівки.

Мікроорганізми при фіксації гинуть, щільно прикріплюються до скла і не змиваються при промиванні мазка водою. Тривале нагрівання скла недопустимо, так як при цьому настає деформація бактерій.

Фіксація мазків хімічним шляхом:

1. Етиловий спирт 96⁰. Термін фіксації – 15-20 хв.
2. Суміш Нікіфорова (спирт-ефір). Термін фіксації 15-20 хв.
3. Метиловий спирт. Термін фіксації 1-5хв.

Набір барвників, таких, що застосовуються в бактеріологічних лабораторіях для фарбування препаратів.

Для вивчення тінкторіальних властивостей мікроорганізмів (відношення до барвників) та їх морфології використовують анілінові барвники (лужні, кислі та нейтральні). Найчастіше застосовують лужні барвники: метиленовий синій, основний фуксин, генціанвіолет, кристалічний фіолетовий, везувін, хризоїдин та ін. Рідше використовуються нейтральні (нейтральний червоний) та кислі (еозин) барвники. Із названих барвників готують спиртові та водні розчини, у деяких випадках для підвищення забарвлюваної сили розчину до нього додають протрави, наприклад, карболову кислоту, лути та ін.

Фарбування мікроорганізмів має велике діагностичне значення, оскільки дає змогу встановити морфологічні та тінкторіальні особливості бактерій, чого в деяких випадках достатньо для встановлення мікробіологічного діагнозу. Фарбування мікроорганізмів являє собою складний фізико-хімічний процес, у

механізмі якого суттєву роль відіграють адсорбція, капілярність, хімічна спорідненість між барвником та об'єктами, що фарбуються, а також рН середовища, в якому вони перебувають.

Основні барвники складаються із фарбувального катіона та безбарвного аніона. Під час дисоціації таких барвників пофарбований катіон, який звільнюється, з'єднується зі структурами бактерії, що характеризуються кислотними властивостями, в результаті утворюються солі. Якщо барвник характеризується кислими властивостями, то забарвлювальна частина його молекули, яка заряджена негативно, буде утворювати солі та сполуки з речовинами, що мають основні властивості.

Бактерії наділені поверхневим негативним зарядом (містять сполуки кислої природи – нуклеїнові кислоти, саме тому основні барвники характеризуються більшою спорідненістю до бактерій, ніж кислі барвники, і широко застосовуються у мікробіології. Кислі барвники частіше застосовуються для фарбування фону препарату в контрастні кольори.

Живі нефіксовані мікроорганізми фарбуються значно складніше, ніж ті самі мікроорганізми, що фіксовані різними способами. Клітинна стінка і цитоплазматична мембрана обмежують можливість проникнення барвників усередину клітини. Фарбування відбувається лише після того, як у результаті дії самого барвника порушується проникність стінки і цитоплазматичної мембрани.

Простий метод фарбування мазків полягає у тому, що висушений та зафіксований препарат фарбують однією фарбою: водним фуксином (1-2 хв.), метиленовою синьою (3-5 хв.) та інші. Промивають водою, висушують фільтрувальним папером та мікроскопують: під об'єктивом “40” знаходять потрібне місце, зсувають об'єктив в сторону не торкаючись тубуса, наносять краплю імерсійної олії, ставлять об'єктив “90” і мікрогвинтом проводять налаштування. Як правило, при правильній установці об'єктивів фокусні відстані співпадають. Якщо ж при обертанні мікрогвинта на 1/2 - 1 обертів поле не стає контрастним, потрібно під контролем ока об'єктив погрузити в олію так, щоби він майже, але не торкався поверхні предметного скла. Далі повертаючи макрогвинт тільки доверху і дуже повільно, потрібно вловити поле, після чого встановити максимальну контрастність мікрогвинтом.

Після закінчення дослідження мазка, макрогвинтом на 2-3 см підіймають тубус, переводять на об'єктив самого малого збільшення, салфеткою знімають масло з імерсійного об'єктиву. Предметне скло з мазком опускають у дезрозчин.

Контрольні запитання

1. Виготовлення мазка для фарбування.
2. Прості методи фарбування бактерій.
3. Фіксація мазків хімічним шляхом.
4. Фарби, що використовуються для фарбування бактерій.

2.2.2. Складні методи фарбування мікробів: фарбування за Грамом, методи фарбування спор, капсул та кислотостійких бактерій

Мета заняття: Засвоїти техніку фарбування бактерій за Грамом; фарбування спор, призначення протрави, фарбування капсул. Засвоїти методи фарбування кислотостійких бактерій.

Матеріальне забезпечення. Пробірки з сумішшю мікроорганізмів (стафілококи, кишкова паличка, вакцинний штам бацили сибірки), імерсійна олія, вазелін, предметні скельця, бактеріологічні петлі, пастерки, спиртівки, набір фарб для фарбування за Грамом, фільтрувальний папір, прилади для промивання мазків, пінцети, дезрозчин (5% фенол) для предметних скелець. Таблиці зафарбованих кислотостійких бактерій, бактерій з капсулами, спорами.

Зміст заняття.

Складні (диференціюючи) методи фарбування.

Фарбування мікроорганізмів за Грамом, на виявлення спор, капсул та кислотостійких форм мікроорганізмів має таксономічне значення. Воно широко застосовується в бактеріологічних лабораторіях і виконується з великою ретельністю та увагою.

Відношення бактерій до фарбування за Грамом визначається їх здатністю утримувати комплекс фарби з йодом. У грампозитивних бактерій клітинна стінка містить 90% пептидоглікану, тоді як у грамнегативних бактерій - 10% пептидоглікану, який представлений тонким шаром в глибині стінки клітини. В оболонці грамнегативних бактерій значно більше, ніж у грампозитивних міститься білків та ліпідів, які разом з поліцукридами утворюють поверхневі шари у вигляді мозаїки. Їх цитоплазма містить РНК та ДНК в співвідношенні 1:1, а у грампозитивних - 8:1. Проникність стінки у грампозитивних бактерій менша, ніж у грамнегативних. Це пов'язано з тим, що у грампозитивних бактерій міститься більше пептидоглікану та діаметр пор у них менший, ніж у грамнегативних бактерій.

Техніка фарбування за Грамом (модифікація за Синьовим).

– На фіксований мазок кладуть просочений фарбою генціанвіолету фільтрувальний папір, наносять декілька крапель дистильованої води;

– Через 1-2 хвилини знімають папір, наносять розчин Люголю. Витримують 1-2 хвилини.

– На 30-60 секунд наносять 96⁰ етиловий спирт. Промивають мазок водою;

– На 1-2 хвилини наносять розчин фуксину. Змивають водою і висушують мазок фільтрувальним папером.

Мікроскопують. Стафілококи повинні бути фіолетовими (грампозитивні), а кишкові палички - червоні (грамнегативні).

Ряд мікроорганізмів (бацил) в несприятливих для них умовах утворюють спори. При цьому процесі у протоплазмі формується ущільнене зневожене тіло. Воно вкривається п'ятишаровою оболонкою. В одній бактерійній клітині

утворюється завжди одна спора. Ендоспори бацил локалізуються у центрі і не перевищують діаметр материнської клітини. У клостридій вони розташуються ексцентрично, термінально та субтермінально, завжди при цьому перевищуючи діаметр вегетативної клітини. Тому бацили різних видів, які містять спори, морфологічно між собою практично відрізнити важко, тоді як клостридії мають форму веретена, ложки, ракетки або барабанної палички.

Фарбування спор.

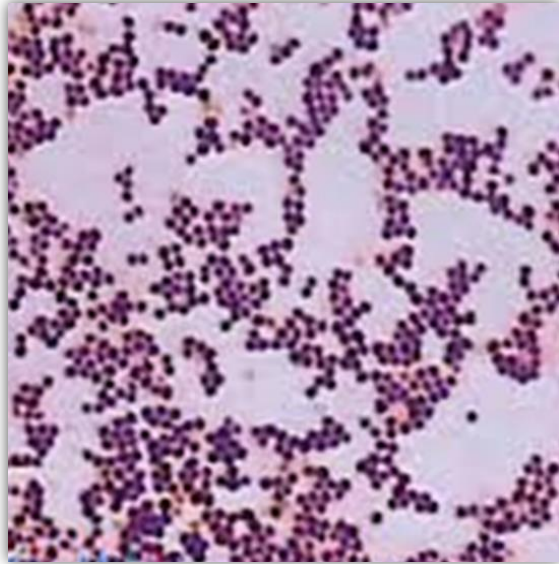


Рис.2.2. Стафілококи

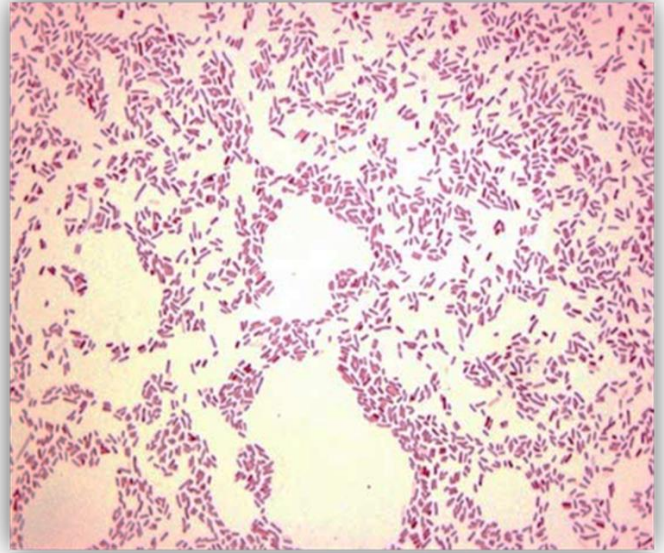


Рис.2.3. Ешерихії (фарбування за Грамом)

Спора може мати форму кулі, циліндру тощо. Поверхня спор може бути гладкою або мати вирости у вигляді шипів, кутів зірки тощо. Всі ці особливості характерні для виду і мають таксономічне значення. Зрілі спори погано фарбуються.

Для виявлення спор та вивчення їх особливостей застосовуються спеціальні методи фарбування: Пешкова, Златогорова, Мелера, Ожежко, Ауескі.

Фарбування за Златогоровим. Висушений мазок 10 раз (замість 5) проводять над полум'ям спиртівки для того, щоби вбити спори та розрихлити їхню оболонку. Далі на мазок кладуть фільтрувальний папір, наносять фуксин Циля і підігрівають до появи пари. Знімають папір, зливають залишки фарби, наносять на 10 секунд 2% сірчану кислоту, промивають водою. На 1 хвилину наносять розчин метиленової синьки. Промивають водою і висушують мазок фільтрувальним папером. Спори фарбуються у червоний колір, а вегетативна клітина - у синій.

Спосіб Мелера відрізняється від фарбування за Златогоровим тим, що на фіксований мазок наливають 5% розчин хромової кислоти, витримують хвилину, змивають кислоту водою - далі фарбують у тій же послідовності, що і за Златогоровим.

Метод Ожежко. На нефіксований мазок наливають 0,5% розчин соляної кислоти, 2-3 хвилини підігрівають над полум'ям спиртівки. Кислоту зливають,

препарат промивають водою, просушують і фіксують над полум'ям. Далі фарбують за Циль-Нільсеном: на мазок кладуть фільтрувальний папір, наносять фуксин Циля, підігрівають до появи пари. Знімають папір, після охолодження скла мазок промивають водою, знебарвлюють препарат 5% розчином сірчаної кислоти або 3% розчином солянокислого спирту. Промивають водою і дофарбовують 3-5 хвилин метиленовою синькою.

Фарбування капсул. Капсула - це продукт оболонки. У деяких видів мікробів навколо клітин утворюється шар слизової речовини. У більшості мікробів капсула складається з поліцукридів, у окремих (збудник сибірки) - з поліпептидів і води. Капсула захищає клітину від висихання, несприятливих впливів макроорганізмів, зумовлює вірулентність, характеризується імунологічною специфічністю. Виявлення капсули має діагностичне значення. Капсульна речовина погано сприймає фарбу і для її виявлення застосовують складні методи: Міхіна, Романовського-Гімза, Буррі-Гінса, Ольта тощо.

Фарбування за Міхіним. Мазок 2-3 хвилини фарбують метиленовою синькою, підігрівають до появи пари. Фарбу швидко змивають водою, висушують фільтрувальним папером. Капсули фарбуються у світло-рожевий, а бактерії - темно-синій колір.

Фарбування за Романовським-Гімза. Мазки висушують, 10 хвилин фіксують 96° етиловим спиртом або сумішшю Нікіфорова. Розводять фарбу: на 1 мл бідистильованої води 1-2 краплі фарби (дистильована вода повинна бути тільки нейтральною). В чашку Петрі на сірники кладуть предметне скельце мазком донизу. Фарбують 20-30 хвилин, після чого фарбу змивають водою, висушують фільтрувальним папером. Капсули - блідо-рожеві, бактерії - сині.

Фарбування кислотостійких мікробів, які містять багато жировоскоподібних речовин. Ці бактерії (туберкульозна паличка) фарбуються дуже важко. Основний метод фарбування Циль-Нільсена: на фіксований мазок кладуть фільтрувальний папір і наносять розчин фуксину Циля. Мазок підігрівають до появи пари і залишають фарбу на препараті (без підігріву) ще на 2-3 хвилини. Знімають папір, препарат промивають водою, 3-5 секунд знебарвлюють 5% розчином сірчаної кислоти, 10-15 секунд промивають спиртом, далі водою. Дофарбовують на протязі 1-2 хвилини метиленовою синькою, змивають водою, висушують. Кислотостійкі форми - червоні, всі інші - сині.

Контрольні запитання

1. Відмінності в будові клітинної стінки у грампозитивних та грамнегативних бактерій.
2. Роль капсули у життєдіяльності бактерій. Її хімічний склад.
3. В чому полягає процес утворення спор. Структура та хімічний склад спори.
4. Механізм фарбування за Грамом.
5. Механізм фарбування за Циль-Нільсеном.
6. Методи фарбування спор.
7. Методи фарбування капсул.

2.3. ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ

Опрацюйте табл.2.1

Таблиця 2.1

Основні відмінності складних методів фарбування від простих	1. Використання декількох барвників. 2. Використання додаткових інгредієнтів, що не мають забарвлювальних властивостей. Складні методи називають ще диференціальними, оскільки дають можливість розрізнити окремі групи бактерій, а також виявити хімічний склад, структуру бактеріальної клітини
Приклади складних методів фарбування	Фарбування за Грамом, Нейсером, Буррі-Гінсом
Основні етапи фарбування грампозитивних бактерій	1. Зв'язок генціанвіолету з магнієвими солями РНК. 2. Фіксація йодом комплексу генціанвіолет + Mg-солі РНК. 3. Стійкий комплекс генціанвіолету з йодом + пептидоглікан. 4. Стійкий комплекс не вимивається спиртом, фарбує бактерії у фіолетовий колір
Основні етапи механізму фарбування грамнегативних бактерій	1. Генціанвіолет і йод утворюють комплекс, який у клітині не фіксується, що зумовлено меншою кількістю пептидоглікану та Mg-солей РНК. 2. Спирт вимиває комплекс через широкі пори оболонки. 3. Бактерії фарбуються фуксином у червоний колір
Кислотостійкість бактерій пов'язана	1. З ліпідами. 2. З оксикислотами
Обов'язкові структури (елементи) бактеріальної стінки	1. Нуклеоїд (хромосома). 2. Цитоплазма. 3. Цитоплазматична мембрана. 4. Клітинна стінка. 5. Мезосоми. 6. Рибосоми
Функції клітинної стінки	1. Визначає антигенну будову. 2. Взаємозв'язок із зовнішнім середовищем. 3. Зберігає форму клітини (руйнування – поява L-форм бактерій). 4. Надає форми, ригідності та еластичності. 5. Захисна роль. 6. Рецептори для бактеріофагів
Необов'язкові структури (елементи) бактеріальної стінки	Капсула. Джгутики. Пілі (ворсинки). Спора.

Морфологічні особливості нуклеоїду бактерій	Не має ядерної мембрани. Складається з кільцевої молекули ДНК, що пов'язана з білками. Відсутні гістони. Гаплоїдний набір генів
Біополімер, що є основою клітинної стінки у прокаріотів	Пептидоглікан (муреїн)
Основні морфологічні відмінності мікоплазм від інших прокаріотів	Відсутність клітинної стінки
Сферопласти	Бактерії, у яких частково зруйнована клітинна стінка
Протопласти	Бактерії, у яких повністю зруйнована клітинна стінка
L-форми	Протопласти та сферопласти
Види L-трансформації	Зворотна та незворотна
Цитоплазма	Складна колоїдна система, яка містить нуклеоїд, плазмід, рибосоми та різні включення
Плазмід	Додаткова позакромосомна молекула ДНК
Види включень у бактеріальній клітині	Крохмаль, глікоген, гранульоза, воски та ін.
Мікрівійки	1. Фімбрії, або війки. 2. Кон'юговані, або донорські (F-пілі)
Необов'язкові структури (елементи) бактеріальної стінки	1. Капсула. 2. Джгутики. 3. Пілі. 4. Спора
Особливості будови джгутиків	Джгутики утворені волокнами - флагеліном, що розташовані навколо пустої серцевини. Джгутик прикріплюється до базального тільця, що міститься в клітинній стінці та цитоплазматичній мембрані бактеріальної клітини. Утворення джгутика кодується генами і є постійною ознакою певних видів бактерій
Класифікація бактерій за кількістю та розміщенням джгутиків	1. Монотрихи. 2. Лофотрихи. 3. Амфітрихи. 4. Перитрихи.
Методи, що використовуються для виявлення рухливості	1. Мікроскопічний: фазово-контрастна або темнопольна мікроскопія „роздавленої” чи „висячої” краплі. 2. Бактеріологічний: посів уколом у стовпчик напівщільного агару або конденсаційну вологу
Приклади джгутикових бактерій	<i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella typhimurium</i> , <i>Vibrio cholerae</i> та ін.
Характеристика спор	1. Стійка форма бактерій, що утворюється переважно

	паличкоподібними бактеріями, дуже рідко коками. 2. Спора – ущільнена ділянка цитоплазми з нуклеоїдом, яка містить ліпіди, мінімальну кількість води, велику кількість мінеральних сполук. 3. Спори можуть десятки і навіть сотні років зберігатися в несприятливих умовах навколишнього середовища. 4. Спороутворення кодується генами, тому є постійною ознакою певних видів бактерій
Приклади спорових бактерій	<i>Clostridium tetani</i> , <i>C. botulinum</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>B. anthracis</i> та ін.
Методи фарбування спорової культури	Метод Ожешки, Циля-Нільсена, Ауєскі
Розташування спор у клітині	Термінальне (<i>Clostridium tetani</i>) Субтермінальне (<i>Clostridium botulinum</i>, <i>C. perfringens</i>, <i>C. novyi</i>). Центральне (<i>B. anthracis</i>)
Мікрокапсула	Подана мукополісахаридними фібрилами, виявляється за допомогою електронної мікроскопії
Макрокапсула (капсула)	Має гелеподібну консистенцію. У різних бактерій різна за хімічним складом. Містить 98% води, 2% полісахаридів (<i>Streptococcus pneumoniae</i>), поліпептидів (<i>Bacillus anthracis</i>) або аміновуглеводнів (<i>Streptococcus pyogenes</i>). У деяких бактерій (<i>S. pneumoniae</i> , <i>B. anthracis</i>) капсули утворюються в організмі у людини або тварини, а у деяких – як у макроорганізмі, так і на штучних поживних середовищах (<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>S. pyogenes</i>)
Слизовий шар	Слиз, що виділяється бактерією та утворює пухкий шар (<i>Neisseria gonorrhoeae</i>)

2.4. ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ

1. Мікроорганізми з недосконалою клітинною стінкою належать до відділу:

A. Gracilicutes Б. Firmicutes В. Tenericutes Г. Mendosicutes

2. Розташуйте таксономічні категорії в порядку зменшення:

A. Regnum, Divisio, Classis, Ordo, Familia, Genus, Species, Varieties
 Б. Divisio, Regnum, Classis, Ordo, Familia, Genus, Species, Varieties
 В. Divisio, Classis, Regnum, Ordo, Familia, Genus, Species, Varieties
 Г. Regnum, Classis, Divisio, Familia, Ordo, Genus, Species, Varieties

3. Мікоплазми відносяться до відділу:

A. Gracilicutes Б. Firmicutes В. Tenericutes Г. Mendosicutes

4. Рикетсії - поліморфні мікроорганізми, які:

- А. Рухливі, утворюють спору і капсулу
- Б. Нерухомі, утворюють спори не утворюють капсулу
- В. Не мають джгутиків і ворсинок, не утворюють капсулу і спори
- Г. Прокаріоти із складним циклом розвитку

5. Для визначення рухливості бактерій використовують метод:

- А. Коха
- Б. Романовського - Гімзи
- В. Ціля - Нільсона
- Г. Шукевича

6. Грампозитивні бактерії відносяться до відділу:

- А. Gracilicutes
- Б. Firmicutes
- В. Tenericutes
- Г. Mendosicutes

7. Бацила - це:

- А. Паличка, що утворює спору
- Б. Аеробна паличка, що утворює спору, діаметр якої менший, ніж діаметр бактерії
- В. Анаеробна паличка, що утворює спору, діаметр якої більший, ніж діаметр бактерії
- Г. Аспорогенна паличка

8. Клостридія - це:

- А. Паличка, що утворює спору
- Б. Аеробна паличка, що утворює спору, діаметр якої менший , ніж діаметр бактерії
- В. Анаеробна паличка, що утворює спору, діаметр якої більший , ніж діаметр бактерії
- Г. Аспорогенна паличка

9. Бактерії L - форми - це бактерії, які позбавлені:

- А. Клітинної стінки
- Б. Джгутиків
- В. Нуклеоїда
- Г. Капсули

10. Грампозитивні бактерії фарбуються в колір:

- А. Фіолетовий
- Б. Червоний
- В. Синій
- Г. Зелений

ТЕМА 3. ВПЛИВ ФАКТОРІВ ЗОВНІШНЬОГО СЕРЕДОВИЩА НА МІКРОБИ

3.1. ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА

3.1.1. Вплив фізичних, хімічних та біологічних чинників на життєдіяльність мікроорганізмів

В процесі розвитку і життєдіяльності мікроорганізми зазнають впливу багатьох факторів зовнішнього середовища. Такий вплив в окремих випадках може призводити до загибелі мікроорганізмів, а в інших, завдяки високим адаптаційним можливостям, до їх пристосування в нових умовах.

Фактори зовнішнього середовища, які виявляють вплив на розвиток та життєдіяльність мікроорганізмів, умовно поділяють на три групи: фізичні, хімічні і біологічні. Найважливішими фізичними факторами є температура, вологість, промениста енергія, тиск, ультразвук, магнітні поля, хімічними склад і реакція середовища, хімічні речовини, окисно-відновні умови, біологічними – взаємодія мікроорганізмів між собою та іншими організмами.

Вплив фізичних чинників на життєдіяльність мікроорганізмів

Температура. Температура є одним із найбільш важливих чинників, який визначає життя мікроорганізмів. Особливість мікроорганізмів полягає у тому, що вони значно краще пристосовані до коливань температур, ніж інші живі організми. Для кожного виду мікроорганізмів є своя оптимальна температура, як для метаболізму, так і для розмноження. Виділяють три кардинальні температурні точки, які визначають розвиток мікроорганізмів:

- *мінімальна кардинальна точка* – це сама низька температура, при якій мікроорганізми можуть розвиватись,

- *максимальна* – це сама висока температура, при якій мікроорганізми ще розвиваються,

- *оптимальною* називається температура при якій мікроорганізми найбільш інтенсивно розвиваються і вона завжди ближча до максимальної, ніж до мінімальної.

Кожний вид мікроорганізмів має свою максимальну, мінімальну і оптимальну кардинальну точку, але вони можуть змінюватись в залежності від впливу інших чинників зовнішнього середовища. Так, при нестачі вологи, мікроорганізми більш стійкі до дії високих температур, ніж при високій вологості.

Кожний вид мікроорганізмів має свій діапазон між мінімальною і максимальною кардинальними точками. Ті мікроорганізми, у яких цей інтервал широкий, називаються евритермними, а ті, у яких він вузький – стенотермними.

Щодо чутливості до температури мікроорганізми поділяються на три групи: психрофіли, мезофіли і термофіли.

Психрофіли (від грецьк. «психрос» – холод і «філео» – люблю) – це мікроби, які пристосовані до життя при низьких температурах. Серед

психрофілів умовно виділяють облігатні (ті, які надають перевагу холоду) і факультативні форми – оптимально ростуть при помірних температурах, але зберігають активність і при низьких температурах. Оптимум росту для облігатних психрофілів – 5 – 15°C (мінімум – 8, максимум – 20°C), для факультативних – вище 20°C, але вони розвиваються, починаючи від мінусових температур і до 35°C. Психрофіли в основному населяють холодні моря, глибокі озера, льодовики, а також можуть знаходитись в холодильниках.

Здатність психрофілів рости при низьких температурах пояснюється тим, що їх ферменти проявляють активність при низьких температурах, а мембрани вміщують більше ненасичених жирних кислот, ніж в інших мікроорганізмах. Завдяки значному вмісту ненасичених жирних кислот в мембранах, вони залишаються напіврідкими при низьких температурах, що забезпечує їх функціонування. Проте, повністю механізм життєдіяльності психрофілів при низьких температурах не вивчений.

Здатність низьких температур зупиняти процеси гниття і бродіння використовується для зберігання харчових продуктів (м'яса, риби, масла, молока та ін.) в холодильних установках, що попереджає їх псування.

Більшість мікроорганізмів низькі температури переносять добре, вони лише припиняють процеси росту і розмноження, все ж є температури, нижче яких мікроби припиняють свій ріст. Так, при температурі нижче мінус 30°C ензиматичні реакції в мікробних клітинах відбуваються сповільнено, а ріст припиняється. Деякі бактерії здатні переносити температуру рідкого повітря (– 190°C). Кишкова паличка при такій температурі здатна зберігати життєдіяльність на протязі 20 годин, а паличка туберкульозу при температурі мінус 180°C залишається неушкодженою протягом восьми днів. Ще більш стійкими до низьких температур є бактерії черевного тифу, які на протязі двох годин зберігають життєдіяльність при температурі мінус 252°C.

Особливу стійкість до низьких температур проявляють спори і віруси. Прикладом цього може бути вірус сказу, який зберігається активним на протязі декількох місяців при температурі рідкого водню (– 252°C). Підтвердженням того, що мікроорганізми є надзвичайно стійкими до низьких температур, є знахідки життєздатних бактерій і спор в трупах мамонтів, що пролежали в мерзлом ґрунті більше десяти тисяч років.

Таким чином, при заморожуванні мікроорганізми не гинуть, а лише тимчасово припиняють свій ріст і розмноження. Більш згубно на них впливає повторне заморожування і розморожування. Менш сприятливою для мікроорганізмів є температура від мінус 10 до – 20°C, ніж – 190°C. Це пояснюється тим, що при температурі мінус 10 – 20°C утворюються кристали льоду, які пошкоджують мікробну клітину, а при температурі мінус 190°C заморожування відбувається без утворення кристалів. Дуже чутливими до низьких температур є гонококи і менінгококи, вони швидко гинуть вже при короткочасній дії охолодження.

Мезофільні бактерії (від грецьк. «мезос» – середній) розвиваються при середніх температурах. Температурний оптимум для цих мікроорганізмів 25 –

39°C. Мезофільні бактерії представлені як сапрофітами так і патогенними формами. Вони зустрічаються в повітрі, воді, ґрунті, організмі людей і тварин. Представниками мезофільних бактерій є кишкова паличка, протей, стафілокок та ін.

Термофільні бактерії (від грецьк. «термос» – теплий) розвиваються при температурах від 40 до 80°C. Ця група мікроорганізмів є найбільш стійкою до високих температур із всіх живих організмів, які населяють нашу планету. До неї відносяться мікроорганізми, які заселяють гарячі мінеральні джерела, поверхневі шари ґрунту в районах із жарким кліматом, а також травний канал тварин і людини. При оптимальній вологості термофільні бактерії підвищують температуру органічних речовин і розкладають їх. Такі процеси відбуваються у гної, вологому зерні, тютюні тощо. Бактерії, що беруть участь у цих процесах не тільки витримують підвищену температуру, але і самі виділяють тепло. Вони отримали назву термогенні бактерії.

Регулюючи температуру, можна керувати мікробіологічною діяльністю. Так поступають при виготовленні кефіру, адже в залежності від температури молоко може піддаватися молочнокислому або спиртовому бродінню. При температурі нижчій від 15°C переважає розвиток дріжджів, внаслідок чого виникає спиртове бродіння. При температурі вищій від 20°C під дією молочнокислих бактерій в основному утворюється молочна кислота.

Стійкість термофільних бактерій до високих температур кінцево не вивчена. Сприяють термостійкості термофільних бактерій стійка до високих температур клітинна мембрана, завдяки її насиченню жирними кислотами. Крім цього у термофільних бактерій ензими (ферменти) і синтез білка більш стійкі до нагрівання, ніж у інших мікроорганізмів.

Стійкість бактерій до високих температур має досить великий діапазон. Нагрівання до 60°C викликає згортання протоплазми мікроорганізмів і їх загибель, за винятком термофільних бактерій і тих, що утворюють спори. Так спори бацил витримують кип'ятіння від декількох хвилин до 3 годин. При такій температурі безспорові мікроби гинуть протягом 30-60 хвилин, а при нагріванні до 70°C протягом 10-15 хвилин, при 100°C – протягом 2-3 хвилин. Менш стійкими виявились бактерії, що викликають тиф, вони при температурі 47°C гинуть через 2 години, а при 59°C – через 21 сек.

Згубна дія високих температур на бактерії широко застосовується для їх знищення. Для цього використовують різні методи стерилізації.

Вологість. Всім живим організмам для нормальної життєдіяльності необхідна вода. Вода бере участь в процесах дихання і адсорбції, в ній розчиняються органічні речовини і мінеральні солі, що входять до складу мікробних клітин. Все це є причиною того, що деякі мікроорганізми досить чутливі до нестачі води. В той же час є мікроорганізми, які досить стійкі до висушування. Мікроби, які здатні витримувати засуху, називаються ксерофітними.

Пагубна дія висушування на бактеріальну клітину полягає у зневодненні цитоплазми і денатурація білків бактерій. Важко переносять висушування

менінгококи, гонококи, лептоспіри, трепонеми, оцтовокислі бактерії та ін. Досить стійкі до висушування стафілококи, молочнокислі бактерії, мікобактерії туберкульозу, дифтерійна і черевнотифозна палички, а особливо спори бактерій, які зберігаються у висушеному стані десятки років (спори бацил сибірки до 10 років). Хвороботворні мікроорганізми можуть досить довго зберігатись у висушених білкових субстратах (крові, мокротинні та ін.). Так, мікобактерії туберкульозу у висохлому мокротинні можуть зберігати життєздатність близько 10 місяців.

Внаслідок зменшення кількості вологи процеси життєдіяльності мікробної клітини сповільнюються, але не припиняються і вона переходить в анабіотичний стан. Виявлені життєздатні мікроорганізми у ґрунті, що знаходився у висушеному стані протягом 100-200 років, в єгипетських муміях та римських похованнях зроблених ще 1800 років тому.

Згубний вплив висушування на деякі мікроорганізми використовують для попередження псування продуктів. Висушуванням забезпечується тривале зберігання м'яса, риби, молока, овочів і фруктів. Ефективним методом консервування харчових продуктів є *сублімація* (обезводнення при низькій температурі і глибокому вакуумі). При сублімації продукти зневоднюються (випаровується вода) і швидко заморожуються. В такому сублімованому стані харчові продукти можуть зберігатися понад 2 роки. Важливим є те, що такі продукти не втрачають харчової цінності, у них зберігаються органічні мінерали, вітаміни, ферменти та інші компоненти.

Променева енергія. Різні спектри променистої енергії впливають на мікроорганізми в різній мірі. Найбільш виражену бактерицидну дію мають рентгенівське, альфа-, бета-, гамма-, нейтронне і ультрафіолетове випромінювання, радіохвилі не впливають на життєдіяльність мікроорганізмів.

Згубна дія іонізуючого випромінювання на мікроорганізми зумовлена його впливом на ДНК, що призводить до бактерицидного або мутагенного ефекту. Найбільш чутливими до випромінювання є молоді клітини, які ростуть або діляться. Бактерії більш стійкі до дії іонізуючого випромінювання ніж віруси, а грампозитивні мікроорганізми стійкіші від грамнегативних. Надзвичайно стійкі до випромінювання тіонові бактерії, які живуть в уранових рудах, а деякі види бактерій (*Micrococcus radiodurans*) навіть виявлені у воді атомних реакторів. Досить витривалими є клостридії ботулізму, які гинуть при впливі на них дозами в 25 – 40 кГр, а вірус ящуру ще витриваліший, його можна інактивувати дозою 35 – 40 кГр. Для порівняння можна відмітити, що значна кількість мікроорганізмів припиняє свій ріст вже при випромінюванні в 3 – 5 Гр (грей).

Пряме сонячне проміння має бактерицидну дію на мікроорганізми. Так, вірус ящура гине під дією сонячних променів вже через 2 години, а мікобактерія туберкульозу через 3 – 5 годин. Тому у світлих приміщеннях завжди значно менше мікроорганізмів, ніж у затемнених. Згубна дія сонячного світла враховується для визначення санітарно-гігієнічних вимог до виробничих приміщень, житла та інших закладів. Народна мудрість каже: «Куди не заглядає сонце, туди часто приходить лікар».

Вченими встановлена така закономірність, чим коротша довжина хвилі видимого випромінювання, тим в ньому більше енергії і його дія на мікроорганізми сильніша. Бактерицидна дія сонячного проміння в першу чергу зумовлена активністю ультрафіолетових променів з довжиною хвилі 250 – 300 нм. Вони викликають зміни в молекулі ДНК внаслідок чого клітини втрачають здатність до поділу. Ультрафіолетове випромінювання в дозах менших від летальних виявляє мутагенну дію на бактерії і віруси.

Бактерицидна дія ультрафіолетового випромінювання широко використовується в практиці. Лампами ультрафіолетового випромінювання стерилізують повітря в закритих приміщеннях, посуд, знешкоджують поверхні харчових продуктів від мікроорганізмів, особливо в тих випадках де це неможливо зробити іншими способами. З допомогою ультрафіолетових променів стерилізують також воду і молоко.

Проте існують мікроорганізми для яких видиме світло є основним джерелом енергії. До них належать зелені і пурпурові бактерії, які містять в собі бактеріохлорофіл.

Механічний струс (сильні і часті поштовхи) знищує більшість мікроорганізмів за винятком вірусів. Особливо чутливі до струсів бактерії. Підтвердженням згубної дії струсу на мікроорганізми служать досліди із струсом колб заповнених водою, в якій знаходяться бактерії. Руйнування бактерій прискорюється, якщо в колбі буде пісок. Подібний механізм спрацьовує у швидких гірських ріках, вода яких досить чиста із-за самоочищення завдяки руху води і дії променів сонця.

Ультразвук – пружні хвилі з частотою понад 16 кГц, які не сприймаються вухом людини. Бактерицидна дія ультразвуку на мікроорганізми полягає у створенні ним великої різниці тисків, яка і пошкоджує мікроби. Крім цього сильні механічні коливання порушують фізіологічні процеси в мікробних клітинах. Під впливом ультразвуку в клітинах вивільняються біологічно активні речовини (ферменти, вітаміни та ін.), а також з'являються ферменти яких в нормально функціонуючій клітині немає. Все це згубно впливає на життєдіяльність мікроорганізмів.

Під впливом ультразвуку швидше руйнуються паличкоподібні мікроорганізми і повільніше – кулясті. Це пояснюється тим, що чим менший мікроорганізм, тим він стійкіший до ультразвуку. Ультразвук згубно впливає на всі види мікроорганізмів, в тому числі і спорів. Але чутливість їх не однакова. Високочутливі до дії ультразвуку (швидко руйнуються) сальмонели, лактобактерії, протей, досить стійкі мікобактерії туберкульозу.

Дія ультразвуку залежить ще від того, в якому середовищі знаходяться мікроорганізми. Оскільки наявність протейну в середовищі значно знижує бактерицидну дію ультразвуку, тому його не використовують для стерилізації молока та інших продуктів багатих протейнами.

Електричний струм суттєвого впливу на мікроорганізми не має. Проходячи через середовище, струм високої напруги може викликати електроліз деяких її компонентів, а сполуки, які при цьому утворюються, можуть виявляти негативний вплив на мікроорганізми. Окрім того, при

проходженні через середовище електричний струм призводить до виділення тепла, яке також виявляє вплив на бактерії. Таким чином, дія електричного струму на мікроорганізми зумовлена не безпосереднім його впливом на мікроби, а опосередкованим. Явище електролізу використовують для дезинфекції води, знезараження стічних вод тощо.

Вплив хімічних чинників на життєдіяльність мікроорганізмів

Реакція середовища. В залежності від концентрації іонів водню (рН) збільшується або зменшується проникність оболонки клітин для іонів. рН нижче 7 визначає кислотність середовища, а вище 7 – лужність. Кожний вид мікроорганізмів здатний рости і розвиватись при певному рН середовища. Так, для життєдіяльності маслянокислих бактерій оптимальним рН є 6,9-7,3, для кишкової палички – 6,5-7,8, актиноміцетів – 6,0-7,0, холерного вібріона – 7,2-8,6, клостридій ботулізму – 7,3-7,6, мікобактерій туберкульозу – 6,4-7,0, стафілококів – 7,2-7,4, пліснявих грибів – 5,0-6,0.

Мікроорганізми, які краще розвиваються в лужному середовищі (холерний вібріон) називаються **алкаліфільними**, а ті, для яких більш сприятливим є кисле середовище (плісняві гриби і дріжджі) – **ацидофільними**.

Патогенні мікроорганізми, які живуть в тілі людини або тварин, здатні розвиватись при незначних коливаннях рН середовища, а ті, що заселяють водойми і ґрунти, пристосувались до широкого діапазону коливань рН. У випадку зміни рН, що виходить за нормальні межі для даного виду мікроорганізмів, їх життєдіяльність припиняється.

Хімічні речовини. Щодо мікроорганізмів окремі хімічні речовини виявляють різну дію: стимулюючу (вітаміни) - сприяючи їх росту і розмноженню, бактеріостатичну - пригнічуючи їх ріст і розмноження (сульфаніламідні препарати, антисептики в невеликих концентраціях), а також бактерицидну, знищуючи їх (хлорне вапно, кислоти, луги та ін.). Речовини, які згубно впливають на мікроорганізми отримали назву **протимікробних**. Протимікробні речовини можуть бути органічної і неорганічної природи. Їх використовують для ліквідації патогенних мікроорганізмів (дезинфекція, дезинсекція і лікування інфекційних захворювань).

Дезінфікуючими засобами знезаражують приміщення, посуд, апаратуру, інструменти та ін. Найбільш широке використання в якості дезінфікуючих засобів отримали феноли, луги, кислоти, солі важких металів, хлорвміщуючі сполуки.

Протимікробна дія дезінфікуючих засобів залежить від їх концентрації - чим вища концентрація даного засобу, тим сильніша його дія на мікроорганізми.

Феноли (карболова кислота, креозол) діють в основному на вегетативні форми бактерій. Вони впливають на окисно-відновні процеси. Бактерицидна і противірусна дія фенолів зумовлена коагуляцією мікробних білків.

Луги (натрій гідроксид, калій гідроксид) мають противірусну і бактерицидну дію, оскільки руйнують вуглеводи, викликають денатурацію білка мікробних клітин. Денатурацію білків мікроорганізмів спричиняють і

кислоти (сірчана, соляна, азотна). Протимікробна дія кислот посилюється з підвищенням температури.

Солі важких металів (ртуті, срібла, міді, цинку, свинцю та ін.) викликають коагуляцію білків. Солі важких металів згубно впливають і на віруси. Відома бактерицидна дія і посуду виготовленого із срібла. Ця дія пояснюється адсорбцією позитивно заряджених іонів срібла негативно зарядженою поверхнею бактерій, що зумовлює зміну проникності цитоплазматичної мембрани бактерій.

Хлорвміщуючі сполуки (хлорне вапно, хлорамін Б) вміщують активний хлор, який, з'єднуючись із водою, утворює хлорнуватисту і хлористоводневу кислоти, а також кисень. Кислоти викликають денатурацію білка мікробної клітини, а кисень окисляє її компоненти, внаслідок чого вона гине.

Детергенти, або поверхнево-активні речовини (мила, сульфанол, жирні кислоти та ін.) використовують в якості миючих, розчинюючих та дезінфікуючих засобів. Протимікробна дія детергентів зумовлена тим, що вони знижують поверхневий натяг і порушують регулюючу функцію цитоплазматичної мембрани.

Вплив біологічних чинників на життєдіяльність мікроорганізмів

У природних умовах мікроорганізми взаємодіють, як з неживим середовищем, так і з живими організмами, оскільки вони є складовою частиною біоценозу. Ця взаємодія може бути фізичною, хімічною і біологічною. Найбільш складною є біологічна взаємодія. Взаємовідношення між живими організмами і мікроорганізмами, а також між різними видами мікроорганізмів можуть носити характер симбіозу, коменсалізму, метабіозу, сателізму, синергізму, антагонізму, паразитизму, фагії.

Симбіоз – це співжиття двох і більше видів мікроорганізмів, при якому вони отримують взаємну вигоду. Прикладом симбіозу тварин і мікроорганізмів є наявність у шлунку жуйних тварин мікробів, які розщеплюють целюлозу; симбіоз рослин і мікроорганізмів простежується між мікробами, які знаходяться на коренях рослин (бульбочкові бактерії) і бобовими рослинами, а також між грибами і синьо-зеленими водоростями. Часто зустрічається симбіоз між різними видами мікроорганізмів. Прикладом такого симбіозу є взаємовідношення між деякими видами молочнокислих бактерій і дріжджів. Продукти життєдіяльності дріжджів – вітаміни стимулюють ріст молочнокислих бактерій, які, виробляючи молочну кислоту, в свою чергу, створюють умови, сприятливі для розвитку дріжджів. Співжиття в одному замкнутому середовищі аеробів і анаеробів також є прикладом симбіозу. Використавши кисень середовища, аероби створюють сприятливі умови для анаеробних мікроорганізмів, які можуть існувати лише в безкисневому середовищі.

Коменсалізм – це вид співжиття, коли одні організми живляться за рахунок інших, не причиняючи їм шкоди. Прикладом коменсалізму є заселення кишечника людини і тварин мікроорганізмами сапрофітами (кишкова паличка), поверхні шкіри – коковими бактеріями.

Метабіоз – вид взаємовідношень, при яких продукти життєдіяльності одних видів мікроорганізмів використовуються іншими і тим самим створюються сприятливі умови для їх розвитку. Метабіоз характерний для мікробів сапрофітів, які розщеплюють білки до пептонів, амінокислот і інших простих сполук. Ці сполуки служать вихідним (поживним) матеріалом для нітрифікуючих бактерій, які переводять аміачні солі в азотисту, а потім в азотну кислоту. Азотна кислота з ґрунту добре засвоюється рослинами. В основі кругообігу речовин в природі лежить перетворення цукрів у етиловий спирт за участю дріжджів, а в подальшому – окислення етилового спирту оцтовокислими бактеріями в оцтову кислоту. Такий метабіоз поширений серед мікроорганізмів ґрунту.

Сателізм – це різновид співжиття, в якому стимуляція росту одного мікроорганізму відбувається за рахунок продуктів життєдіяльності іншого, який потім стає його супутником. Прикладом сателізму служить продукція азотобактером біологічно активних речовин і вітамінів, стимулюючих розвиток мікроорганізмів, які перетворюють органічні форми фосфору в неорганічні, необхідні для розвитку вищих рослин.

Синергізм – форма взаємовідношень при якій посилюються фізіологічні функції у членів асоціації. Явища синергізму спостерігаються при співжитті азотобактера і грибоподібної бацили, борелій і фузобактерій.

Паразитизм, коли користь від співжиття отримує лише один (паразит), а інший отримує від цього лише шкоду.

Антагонізм – це такий різновид взаємовідносин, в яких продукти життєдіяльності одного мікроорганізму пригнічують розвиток іншого. Причиною цього явища може бути згубна дія на іншого. До того ж бактерії і гриби здатні виробляти речовини антибіотики, які згубно діють на інші мікроорганізми. Людина широко використовує антибіотики для боротьби з патогенними мікроорганізмами, при лікуванні інфекційних захворювань.

Принцип антагонізму використовується і для приготування та зберігання кисломолочних продуктів. Так, молочнокислі мікроорганізми утворюють молочну кислоту, яка знижує рН і тим самим створюються умови, в яких не можуть жити гнилісні бактерії. Ще один приклад антагонізму: синьогнійна паличка виробляє отруйні речовини, які згубно діють на збудника сибірської виразки.

Антагонізм можливий не тільки між мікроорганізмами, а й між ними і рослинами. Різними рослинами виробляються токсичні для мікроорганізмів речовини. Ці леткі речовини отримали назву **фітонциди**. Фітонциди одних рослин мають бактеріостатичну дію, для інших – бактерицидну. Чисте повітря в соснових і кедрових лісах пояснюється високим вмістом у ньому фітонцидів. Багато фітонцидів виділяють часник, цибуля, гірчиця, ялинка, піхта, редька, черемха, дуб, береза.

Антибіотики (грец. *anti* - проти, *bios* - життя) – це специфічні сполуки біологічного походження, які згубно впливають на мікроорганізми. Для них характерна специфічність, а саме вибірковість дії на певні види мікроорганізмів. Термін “антибіотики ” в 1942 році запропонував

S.A.Waksman.

Вперше антагоністичне відношення між різними видами мікроорганізмів спостерігав в 1887 р. Л. Пастер. Він помітив, що бактерії сибірки гинуть у випадку їх спільного знаходження із гнилісними мікроорганізмами. Поворотним моментом у вивченні антибіотиків було відкриття англійським вченим А.Флемінгом (1929) пеніциліну, який встановив, що навколо колонії *Penicillium notatum* (пліснявого гриба) колонії стафілокока гинуть. Згодом в 1940 році Е.Чейн і Г.Флорі виділили чистий пеніцилін, в 1944 р. З.Ваксман відкрив ще один антибіотик – стрептоміцин. На даний час описано більше 2000 антибіотиків. Особливістю антибіотиків, яка відрізняє їх від інших метаболітів, є їхня вибіркова токсичність для мікроорганізмів. Крім природних антибіотиків в останні роки отримали широке розповсюдження і напівсинтетичні препарати.

Класифікують антибіотики, за походженням, за спектром дії і за механізмом дії, за хімічною структурою тощо.

За походженням антибіотики поділяються на ті, що виробляються мікроорганізмами, антибіотики із рослин (звіробоя – іманін, часнику – аліцин, безсмертника – аренарін) і тканин тварин (риб – екмолін). Найбільш представницька група антибіотиків – це антибіотики мікробного походження.

Близько 70% антибіотиків, які використовуються в медицині виділено з актиноміцетів: стрептоміцин, неоміцин, канаміцин, тетрациклін, еритроміцин тощо.

Велика кількість антибіотиків, які надзвичайно широко використовуються в медицині виробляються грибами: пеніцилін, ампіцилін, оксацилін, ампіокс, цефалоспорін та ін.; значно менше антибіотиків, що утворюються бацилами (граміцидин, поліміксин В і М, субтілін та ін.).

За спектром дії антибіотики поділяються на антибактеріальні (згубно впливають на бактерії – стрептоміцин, левоміцетин, бензилпеніцилін, тетрациклін), протигрибкові (пригнічують ріст грибків – ністатин, леворін) і протипухлинні (затримують розмноження клітин злоякісних пухлин – брунеоміцин, рубоміцин).

Антибіотики, які активні лише до грампозитивних або грамнегативних мікроорганізмів, називають препаратами вузького спектру дії (бензилпеніцилін, поліміксин), а ті, які затримують ріст і розвиток і одних і других – широкого спектру дії (тетрациклін, стрептоміцин, гентаміцин, неоміцин).

За механізмом дії антибіотики поділяються на препарати, які:

- ✓ порушують синтез бактеріальної клітинної оболонки (пеніцилін, циклосерін, цефалоспорицини та ін.);
- ✓ порушують синтез білка в бактеріальній клітині (стрептоміцин, левоміцетин, тетрацикліни та ін.);
- ✓ порушують цілісність цитоплазматичної мембрани (поліміксин, ністатин та ін.);
- ✓ пригнічують синтез нуклеїнових кислот в клітинах (рифампіцин, протипухлинні антибіотики).

3.2. ПРАКТИЧНА ЧАСТИНА

3.2.1. Методи стерилізації та лабораторне обладнання

Мета заняття: ознайомити з основними методами стерилізації, їх призначенням, практичним використанням. Засвоїти правила миття, обробки та підготовки до стерилізації лабораторного посуду, інструментів тощо. Знезараження відпрацьованого патологічного матеріалу.

Матеріальне забезпечення. Стерилізатори, апарат Коха, водяна баня, піч Пастера, автоклав, бактерицидна лампа, бактеріологічні фільтри, лабораторний посуд, інструменти, чашки Петрі, пробірки з культурами бактерій, таблиці.

Зміст заняття.

Стерилізація – процес, який передбачає знищення у об'єкті усіх вегетативних і спорових, патогенних і непатогенних мікроорганізмів.

Підготовка до стерилізації: посуд миють і висушують. Пробірки, колби, флакони закривають ватно-марлевым корком. Зверху на корки одягають паперові корки (окрім пробірок). Чашки Петрі стерилізують загорнутими в папір по 1-5 штук, пастерівські піпетки по 3-15 штук. В верхню частину піпетки вкладають трохи вати для того, щоб попередити потрапляння матеріалу до рота. Під час роботи піпетки потрібно доставати за верхній кінець. Посуд стерилізують сухим жаром при температурі 150, 160, 190⁰С відповідно 2,1 і 0,5 годин або у автоклаві при тиску 1 атм. на протязі 20-30 хвилин.

Види стерилізації.

Фізичні методи включають:

- 1) стерилізацію сухим жаром (фламбування, сухим нагрітим повітрям),
- 2) стерилізацію вологим жаром (кип'ятіння, текучою парою при 100⁰С, дробову стерилізацію при температурі нижче ніж 100⁰С, стерилізація парою під тиском з температурою вище 100⁰С, пастеризація),
- 3) стерилізацію фільтруванням (бактеріологічні фільтри), ультрафіолетовими променями, ультразвуком.

Засоби стерилізації сухим жаром. Фламбуванням, або пропалюванням, стерилізують бактеріологічні петлі, пінцети і інші металеві предмети. Петлю у горизонтальному положенні спочатку вносять в нижню частину полум'я, щоб не відбувалося розбризкування патматеріалу. Коли все згорить, петлю переносять в верхню частину полум'я і переводять петлю у вертикальне положення. Вслід за петлею фламбують нижню частину держателя.

Стерилізація *сухим нагрітим повітрям* здійснюється в спеціальних сушильних шафах (печі Пастера) з подвійними стінками. Зовні шафа облицьована теплонепроникним матеріалом, всередині – стінки металеві. В верхній частині шафи знаходиться термометр. Між теплонепроникною обшивкою і внутрішнім металом шафи на дні є автоматичний електронагрівальний елемент. В печі Пастера стерилізують чистий скляний посуд. Колби закривають ватними корками, накривають паперовими ковпачками і зав'язують. Чашки Петрі і пастерівські піпетки завертають пачками в пергаментний папір. При включенні сушильної шафи в електромережу повітря всередині шафи нагрівається. При досягненні заданої температури відзначають час початку стерилізації.



Рис.3.1. Сушильна шафа

Режим стерилізації – при температурі 155-160°C, експозиція 2 год., при 165 - 170°C – 1-1,5 год., при 180°C – 1 год. По закінченні часу стерилізації нагрівання припиняють і, лише коли температура знизиться приблизно до 45°C, шафу відкривають.

Речовини що запалюються, живильні середовища, гумові предмети стерилізувати сухим жаром не можна.

Засоби стерилізації вологим жаром. Кип'ятіння - засіб стерилізації інструментів (пінцети, ножиці, скальпелі та ін.) і деяких гумових та скляних предметів в стерилізаторах, які мають решітку. На решітку кладуть два-три шари марлі або тонкий шар гігроскопічної вати. Шприці стерилізують у розібраному вигляді, в голки вставляють мандрени. Леза скальпелів і ножиці рекомендується обгортати марлею або ватою. В стерилізатор наливають воду (краще дистильовану) так, щоб вона повністю вкривала інструменти і додають 2% розчин соди. Стерилізатор закривають кришкою. Кип'ятять 20-30 хвилин. Після стерилізації воду обережно зливають, а інструментами користуються тільки після їхнього охолодження.

Стерилізація текучою парою. Здійснюють стерилізацію в апараті Коха при 100°C 30-40 хв. Апарат являє собою металевий котел циліндричної форми з подвійним дном, що закривається кришкою з отвором для термометру і виходу пари. Всередині котла є спеціальна підставка з отвором для матеріалу, що стерилізують і нагрівальні елементи. На дно апарату наливають воду до рівня, про який судять за показами водомірної трубки.

Початком стерилізації вважають момент закипання води. Пара, що утворюється при цьому підіймається доверху безперервно до матеріалу, який стерилізується. Стерилізацію проводять 3 дні підряд. Однократне прогрівання вбиває тільки вегетативні форми мікроорганізмів. Спори, які залишалися

життєздатними в періоди між стерилізацією проростають у вегетативні форми. Стерилізація на наступний день викликає їхню загибель. На третій день прогрівання гарантує повну стерильність матеріалу. Ефективність дробової стерилізації залежить від проростання спор, а тому в проміжках між нагріванням матеріали витримують при кімнатній температурі (25°C). Дробову стерилізацію при 100°C можна проводити і в автоклаві, закритому не герметично, у тих же режимах. Текучою парою стерилізують живильні середовища і інші матеріали, що руйнуються при нагріванні їх вище 100°C (желатина, вуглеводи).

Тиндалізація - дробова стерилізація при температурах нижче 100°C . Стерилізацію здійснюють в водяній бані. Принцип цього засобу той же, що і при стерилізації текучою парою. Кратність нагріву залежить від температур, що застосовуються: при $70-80^{\circ}\text{C}$ на протязі 3 діб, $60-65^{\circ}\text{C}$ – 5 діб, $56-58^{\circ}\text{C}$ – 6-7 діб. В перший день матеріали стерилізують 2 год., в наступні дні – по



Рис.3.2. Вертикальний автоклав

одній годині. В проміжках між прогріванням матеріал, що стерилізується витримують при кімнатній температурі для проростання спор. За допомогою тиндалізації при $56-58^{\circ}\text{C}$ стерилізують матеріали, що руйнуються при більш високій температурі (колоїдні розчини, сироватка крові і ін.).

Автоклавування – стерилізація парою під тиском з високою температурою. Здійснюють в спеціальному апараті – автоклаві. В основі цього засобу лежить нагрівання матеріалу, поміщеного в автоклав герметично закритою кришкою, чистою насиченою парою під тиском вище атмосферного. При зустрічі насиченої пари з більш холодним об'єктом пара конденсується перетворюючись на воду, в результаті чого виділяється велика кількість тепла, і температура об'єкту стерилізації швидко підвищується.

Промисловість випускає автоклави вертикальні і горизонтальні. Вертикальний автоклав являє собою двостінний металевий котел циліндричної форми, що закривається герметично кришкою. Через спеціальний кран з вирвою між стінками заливають воду до певного рівня. Внутрішня стінка котла в верхній частині має отвір, в нижній частині котла – кран, через який при нагріванні води пара витісняє повітря з котла. Автоклав нагрівають включенням в електромережу. Автоклав завантажують матеріалом, кришку закривають герметично, закривають кран, через який заливають воду, нижній кран тимчасово залишається відкритим. При закипанні води між стінками автоклаву пара, що утворюється піднімається

доверху і через верхній отвір внутрішньої стінки потрапляє всередину котла, поштовхами витісняючи повітря через нижній відкритий кран. Коли повітря все витиснеться і пара починає виходити рівним струменем, нижній кран закривають. В результаті тиск пари всередині автоклаву підвищується.

Початком стерилізації вважають момент досягнення показань манометра заданої величини. Нагрів регулюють протягом усієї стерилізації, підтримуючи тиск пари на одному рівні. При надмірному підвищенні тиску всередині автоклаву передбачений запобіжний клапан, через який автоматично надлишок пари виходить назовні.

При підвищенні тиску пари відповідно підвищується і температура в автоклаві;

$0,5 \cdot 10^5$ Па (0,5 атм)	температура	110-112 ⁰ С
$1,0 \cdot 10^6$ Па (1 атм)	»	120-121 ⁰ С
$1,5 \cdot 10^6$ Па (1,5 атм)	»	124-126 ⁰ С
$2,0 \cdot 10^6$ Па (2 атм)	»	132-133 ⁰ С

Манометр показує тиск пари без врахування навколишнього атмосферного тиску (760 мм рт. ст.). По закінченні часу стерилізації автоклав відключають. Після охолодження при нульовій позначці манометру відкривають кран для того, щоб випустити пару. Кришку відкривають обережно на себе, не заглядаючи в котел, уберігаючи очі від можливої залишкової пари. До повного виходу пари відкривати кришку не можна, бо при швидкому падінні тиску всередині автоклаву простерилізовані рідкі середовища закипають, корки з пробірок виштовхуються разом з рідиною.

В автоклаві стерилізують живильні середовища, що витримують нагрівання вище 100⁰С (МПА, МПБ, фізрозчин).

Крім того, в автоклаві знезаражують використані бактеріальні культури, посуд. В цих випадках тиск пари і експозиція стерилізації повинні бути тривалішими (1,5 атм - 1 год.), ніж при стерилізації чистого матеріалу (0,5 атм. – 30-40 хв.). Для перевірки якості роботи автоклаву, відповідність показів манометра і температури пару використовують різноманітні хімічні речовини (бензонафтол, сірка), які мають певну температуру плавлення.

Горизонтальний автоклав відрізняється від вертикального конструкцією, але принцип роботи той же.

Пастеризація – засіб запропонований Пастером з метою збереження живильної цінності харчового продукту (молоко, м'ясні, рибні і овочеві консерви), що знижується при кип'ятінні (руйнуються вітаміни і інші нестійкі до високої температури речовини). При пастеризації продукт нагрівають до 80⁰С 30 хв., після цього різко охолоджують (до 4-8⁰С). Пастеризацією досягається часткова стерилізація – гинуть вегетативні форми бактерій, а спори зберігаються. Різде охолодження і наступне зберігання при низькій температурі (4-5⁰С) перешкоджають проростанню спор і наступному розмноженню бактерій.

Стерилізація фільтруванням полягає в пропусканні рідкого матеріалу через бактеріологічні фільтри шляхом створення на фільтрі перепаду тиску, або шляхом створення вакууму в приймальникові фільтрату. Дія фільтру

полягає в механічній затримці і в адсорбції мікроорганізмів стінками пор фільтру. Розміри мікробів часто бувають менші середнього діаметру пор фільтрів. Фільтрують звичайно рідини, які не витримують нагрівання (сироватки крові, розчини антибіотиків і ін.). Фільтри бувають тверді - керамічні, азбестові і мембранні.

Більш частіше в роботі використовують фільтри Зейтца мембранні і фільтри, які вмонтовані в спеціальному утримувачі-вирві, вставленому в пробку, що закриває колбу Бунзена (товстостінна колба з тубусом). Змонтований фільтр загортають папером і стерилізують в автоклаві. Рідину, яка фільтрується наливають в вирву над фільтром, на тубус колби надягають гумову трубку, приєднану до ручного або електричного насоса, викачуванням повітря з колби створюють понижений тиск, і рідина фільтрується, бактерії залишаються на фільтрі. Стерильність отриманих фільтратів перевіряють посівом на живильні середовища з наступним інкубуванням в термостаті на протязі декількох діб.

Стерилізація ультрафіолетовим опроміненням. В лабораторії джерелом УФО-опромінення служать спеціальні бактерицидні лампи. Ці промені використовують для знезараження повітря в приміщеннях (боксах).

Ультразвук, являючись фізичним чинником стерилізації, може бути використаний, наприклад, для знезараження води, молока, деяких продуктів. Згублива дія ультразвуку пов'язана з виникненням в цитоплазмі бактерій кавітаційних пухирців, заповнених парами з тиском біля 10 тис. атм., внаслідок чого руйнуються внутрішні структури бактеріальної клітини.

Стерилізація за допомогою хімічних речовин в лабораторній практиці має обмежене застосування і зводиться до консервування, з метою попередження бактеріального забруднення живильних середовищ, вакцин, а також лікувальних і діагностичних сироваток різноманітними хімічними сполуками (солі металів, луги, антибіотики і ін.).

Живильні середовища консервують хлороформом, толуолом, інколи ефіром (для звільнення від консерванту середовище нагрівають до 56°C). Вакцини і лікувальні сироватки консервують фенолом (0,2-0,5%-вим), хлороформом (0,5%), формаліном (0,05%).

Хімічні речовини застосовують в лабораторіях і для дезінфекції.

Дезінфекція – це знищення патогенних мікроорганізмів в об'єктах зовнішнього середовища. Навіть у фіксованих і зафарбованих мазках іноді зберігаються збудники деяких хвороб. Тому дезінфекція в бактеріологічному відділі лабораторії - це обов'язковий повсякденний захід.

Контрольні запитання:

1. Поняття “стерилізація”, “дезінфекція”, їх застосування у практиці.
2. Методи стерилізації.
3. Автоклав, його будова і призначення.
4. Методи дробової стерилізації.
5. Стерилізація сухим жаром.

3.3. ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ

Опрацюйте табл.3.1

Таблиця 3.1

Групи факторів зовнішнього середовища, що діють на мікроорганізм	Фізичні, хімічні, біологічні
Результати дії факторів зовнішнього середовища на мікроорганізми	1. Сприятливе. 2. Знешкоджувальне. 3. Індиферентне
Варіанти знешкоджувальної дії факторів	1. Бактерицидна. 2. Бактеріостатична. 3. Бактеріолітична. 4. Зміна властивостей (мінливість)
Умови, що визначають результат дії фактора	1. Природа фактора, що діє. 2. Вид мікроорганізму. 3. Інтенсивність фактора. 4. Експозиція. 5. Поєднання факторів. 6. Фізіологічний стан мікроорганізму
Загальна характеристика фізичних та хімічних агентів	До фізичних факторів, які мають негативний вплив на мікроорганізми, відносять високі температури, променеву енергію, ультразвук, речовини, що зменшують поверхнєве натягнення. Під високими температурами розуміють діапазон температур вище 60⁰ С, які мають стерилізувальну дію відносно вегетативних та спорових форм мікробів. Променева енергія поширена у природі у вигляді електромагнітних хвиль різної довжини, що викликає різноманітні фізіологічні та біохімічні ефекти. Бактерицидну дію на мікроби мають ультрафіолетові промені (довжиною 2300 – 2800 Å) та іонізуюча радіація. До їх дії найбільш чутливі нуклеїнові кислоти. Ультразвукові (високочастотні) коливання в багатьох випадках руйнують мікробні клітини, але їх чутливість до ультразвуку може коливатися в широких діапазонах. Ультразвуком користуються для отримання антигенів із тканин та мікробних клітин та інших цілей. Речовини, які зменшують поверхнєве

	натягнення (детергенти), затримують ріст, спороутворення бактерій. Висушування має бактерицидну дію на велику кількість мікроорганізмів. Але деякі з них стійкі до висушування, наприклад, спори збудника правця, сибірки. Деякі хімічні сполуки мають бактерицидну та бактериостатичну дію на мікроорганізми. Ці сполуки використовують у медичній практиці антисептики для дезінфекції різних матеріалів, приміщень тощо. Вибір антисептика та його дози залежить від матеріалу, що підлягає дезінфекції
Мікробоциди	Речовини, які вбивають мікроорганізми: бактеріоциди, фунгіциди, спороциди, альгіциди вірулоциди
Бактеріостатики та фунгістатики (мікробостатики)	Речовини, що пригнічують ріст та розмноження мікроорганізмів
Класифікація атимікробних речовин залежно від мети використання	1. Антибіотики. 2. Антисептики. 3. Дезінфектанти. 4. Консерванти
Антисептики (визначення)	Речовини, що викликають загибель широкого кола мікроорганізмів або запобігають їх розмноженню в/на тканинах організму
Дезінфектанти (визначення)	Речовини, що знешкоджують мікроорганізмів в/на об'єктах зовнішнього середовища
Консерванти (визначення)	Речовини, що запобігають розмноженню мікроорганізмів у харчових продуктах, косметичних засобах та інших об'єктах
Загальна характеристика антимікробних речовин	Для антибіотиків та хіміотерапевтичних препаратів характерна специфічність та вибірковість дії. Антисептики та дезінфектанти, як правило, мають неспецифічну дію
Дезінфекція (визначення)	Знешкодження патогенних та умовно патогенних мікроорганізмів в об'єктах зовнішнього середовища з використанням переважно хімічних речовин – дезінфектантів
Основна причина проведення дезінфекції	Знешкодження збудника інфекційного захворювання на предметах зовнішнього

	середовища, які використовуються у роботі з хворим
Методи дезінфекції	1. Фізичні. 2. Механічні (витряхування, провітрювання, вологе прибирання та ін.); дія високої температури (кип'ятіння, пастеризація та ін.); дія УФВ (опромінення бактерицидними лампами). 3. Хімічні методи (використання дезінфекційних засобів: хлоровмісних препаратів, окисників, фенолів, йоду, спиртів, формальдегідів, кислот, альдегідів)
Вимоги до дезінфектантів	Повинні швидко і повністю розчинятися у воді. Повинні у малих концентраціях та в короткий час знешкоджувати мікроорганізми. Не повинні мати токсичної дії на людський організм та тварин
Пастеризація (визначення)	Знешкодження вегетативних форм патогенних та гнильних мікроорганізмів у продуктах харчування шляхом прогрівання останніх при температурах нижче 90 °C
Антисептика (визначення)	Знешкодження патогенних мікроорганізмів на поверхні тіла людини та у рані з використанням хімічних речовин – антисептиків
Різновиди антисептики	Механічна. Фізична. Хімічна. Біологічна
Асептика (визначення)	Система заходів, що запобігають внесенню (потраплянню) мікроорганізмів із навколишнього середовища в тканини або порожнини людського організму при лікувальних та діагностичних маніпуляціях, а також у матеріал для дослідження, в поживні середовища та культури мікроорганізмів при лабораторних дослідженнях
Стерилізація (визначення)	Знешкодження всіх форм життя в об'єктах зовнішнього середовища з використанням переважно фізичних факторів (автоклавування, кип'ятіння, фільтрування та ін.)
Методи стерилізації	1. Фізичні методи стерилізації: а) термічна стерилізація високими температурами (асептичний метод); б) променева стерилізація ультрафіолетовим

	випроміненням; в) механічна стерилізація (фільтраційний метод). 2. Хімічні методи стерилізації. 3. Біологічна (додавання антибіотиків у поживні середовища)
Фізичні методи стерилізації	1. Прокалювання. Таким способом зазвичай стерилізують дрібний інструментарій (бактеріологічні петлі, голки, пінцети тощо), предметні та покривні скельця. 2. Кип'ятіння. 3. Стерилізація сухим жаром. Проводиться у сухожаровій шафі (пічі Пастера) при нагріванні повітря до температури 165 – 180 °С та стерилізації матеріалу впродовж 60 – 45 хвилин. При більш високій температурі відбувається обвуглення паперу, у який загорнутий посуд, а при більш низькій температурі необхідний більший термін стерилізації. Сухим жаром стерилізують скляний посуд – пробірки, чашки Петрі, піпетки тощо. 4. Стерилізація парою під тиском. Це один із найбільш ефективних методів стерилізації, що ґрунтується на сильній гідролізуючій дії насиченої пари. Проводиться в автоклаві. 5. Стерилізація проточною парою – при температурі 100 °С використовується у тих випадках, коли матеріал не витримує високої температури (наприклад, поживні середовища, молоко, желатин, деякі вуглеводи). Стерилізацію проточною парою проводять у автоклаві при відкритому випускному крані та незачиненій кришці або в апараті Коха при 100 °С. Для повного знезараження використовують принцип багаторазової стерилізації, тобто стерилізують матеріал при 100 °С (або 80 – 90 °С) упродовж 30 – 40 хвилин упродовж 3 діб (вегетативні форми гинуть, а спори зберігаються та проростають при кімнатній температурі; таке трикратне прогрівання забезпечує достатньо надійну стерильність матеріалу). 6. Тиндалізація – це багаторазова стерилізація матеріалу при 56 – 58 °С упродовж 1 години 5 днів поспіль. Використовується для стерилізації речовин, що легко руйнуються (сироватки, вітаміни тощо).

5. В апараті Коха стерилізують:

- А. Живильні середовища
- Б. Живильні середовища, лабораторний посуд
- В. Лабораторний посуд
- Г. Культури бактерій

6. Культуру одного й того ж виду, яку виділено з різних джерел, або з одного джерела в різні часи, називають:

- А. Варіантом
- Б. Штамом
- В. Родом
- Г. Родиною

7. Де стерилізують скляний посуд?

- А. Автоклав
- Б. Піч Пастера
- В. Апарат Коха
- Г. Стерилізатор

8. Хто відноситься до абсолютних паразитів?

- А. Мікоплазми
- Б. Актиноміцети
- В. Рикетсії
- Г. Вібріони

9. Де у бактерій утворюється 60% АТФ?

- А. ЦПМ
- Б. Мезосома
- В. Рибосома
- Г. Нуклеоїд

10. Який органоїд приймає активну участь у транспорті поживних речовин?

- А. Клітинна стінка
- Б. ЦПМ
- В. Капсула
- Г. Нуклеоїд

ТЕМА 4. ФІЗІОЛОГІЯ МІКРООРГАНІЗМІВ

4.1. ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА

4.1.1. Конструктивний та енергетичний катаболізм бактеріальної клітини

Фізіологія мікроорганізмів вивчає біохімічні й енергетичні процеси, що відбуваються в бактеріальній клітині й забезпечують відтворення її структурного матеріалу та енергетичні потреби.

Бактерії є складними живими організмами, в яких відбуваються різноманітні біохімічні перетворення. Вони зумовлюють ріст, розмноження, продукцію ферментів, токсинів та інших біологічно активних речовин, відповідають за регуляцію функціональної активності клітин, їх високу пластичність і здатність адаптуватись до умов зовнішнього середовища.

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 % і 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 формується з білків, нуклеїнових кислот, ліпідів, вуглеводів, полісахаридів, низькомолекулярних органічних речовин і солей.

У клітині нараховується понад 2,4 млн різноманітних білкових молекул 1850 видів.

Білок складає до 55 % сухого залишку клітини. Його представлено 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. Токсини збудників газової анаеробної інфекції, правця, ботулізму, фермент гіалуронідаза є простими білками.

Складні білки - протеїди свою назву отримали за здатність сполучатися з іншими речовинами. Так, білки, зв'язані з нуклеїновими кислотами, одержали назву нуклеопротеїди, з вуглеводами - глікопротеїди, 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.

Тонкі фізико-хімічні дослідження дозволили встановити, що в клітині нараховується понад 2,4 млн різноманітних білкових молекул 1850 видів.

Нуклеїнові кислоти представлено дезоксирибонуклеїновою (ДНК) та рибонуклеїновою (РНК) кислотами. Їх вміст коливається в межах 25-30 % сухої маси. У клітині є дві молекули ДНК та понад 250 тисяч молекул РНК. Останні можна поділити на три групи: рибосомальні РНК, транспортні РНК і матричні (інформаційні) РНК. Матрична РНК - форма, що утворюється в процесі біосинтезу білка. Вона забезпечує передачу генетичної інформації на білок, тобто елонгацію (подовження) поліпептидних ланцюгів. Рибосомальні РНК входять до складу великих і малих субодиниць рибосом. Вони відрізняються від РНК еукаріотів за константою седиментації. Транспортні

РНК здатні зв'язуватись із амінокислотами, що накопичуються в цитоплазмі, й доставляти їх до рибосом, на яких відбувається процес біосинтезу.

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, так як вони входять до складу будь-яких структур клітини. Прості цукри є субстратом, з яких синтезуються більш складні сполуки. Полісахариди різних бактерій відрізняються за своєю специфічністю. Вони зумовлюють антигенні властивості клітини, їх вірулентні (капсули пневмококів) властивості.

Відмінності у будові бактеріальних полісахаридів лягли в основу розробки методів хемотаксономії мікробів, їх ідентифікації. Особливості складу полісахаридів оболонки дозволяють одержувати вакцини, специфічні діагностичні сироватки.

У клітині міститься в середньому 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.

В середньому в клітині є до 22 млн молекул різноманітних ліпідів. Представлено їх, в основному, жирними насиченими й ненасиченими жирними кислотами, ефірами жирних кислот і гліцерину, восками, фосфоліпідами. 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 насоса. Магній й кальцій здатні активувати багато ферментів; залізо - невід'ємний складник цитохромів.

Клітинний метаболізм. Сукупність усіх біохімічних перетворень у клітині називається метаболізмом. Він відбувається за двома основними напрямками. Перший забезпечує синтез складних клітинних сполук із більш простих. Тому він одержав назву біосинтез, конструктивний метаболізм або анаболізм. Однак переважна більшість реакцій синтезу й розпаду потребує енергетичного забезпечення. Тому енергетичний метаболізм або катаболізм представляє собою потік реакцій, які супроводжуються накопиченням електрохімічної енергії, що потім використовується клітиною.

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 з 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.

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 облигатними (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.

Джерела енергії та донори електронів. Залежно від джерела енергії, що засвоюють мікробні клітини, їх поділяють на фототрофи і хемотрофи.

Фототрофні бактерії здатні використовувати енергію сонячного

світла. Їх інакше називають фотосинтезуючими бактеріями. Патогенних для людини серед них немає. 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^+ , Fe^{+2} та інші, називаються *літотрофами* (litos - камінь). Інші бактерії, для яких донором електронів виступають органічні речовини, називаються *органотрофами*.

Мікроорганізми, які здатні викликати у людини захворювання, належать до *хемоорганогетеротрофів*.

Бактерії, яким притаманний один із способів живлення, позначають як облігатні, а ті, які використовують два джерела енергії, - міксотрофи.

Для здійснення своїх метаболічних перетворень і забезпечення життєдіяльності клітина потребує інші неорганічні сполуки. Так, сірка входить до складу деяких амінокислот (метіонін, 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 йони 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, так як вони входять до складу основних клітинних метаболітів, виконуючи життєво важливі функції.

При культивуванні бактерій крім білків, жирів та вуглеводів, які надходять у клітину з навколишнього середовища, до середовищ додають речовини, які виконують функцію стимуляторів росту. Вони включаються до складу клітинних метаболітів, каталізують біохімічні перетворення. Такими факторами є деякі вітаміни (біотин, тіамін, пантотенова кислота, холін, ціанокобаламін, нікотинова та фолієва кислоти), пуринові та піримідинові основи, жирні кислоти, гемін, коензим ферменту дегідрогенази.

Надходження речовин у клітину. Незважаючи на досягнення мікробіологічної науки у вивченні процесів обміну в бактеріальній клітині остаточно інтимні механізми транспорту поживних речовин в клітину і виведення метаболітів назовні не з'ясовано. Встановлено, що мікробам притаманний голофітний тип живлення, тобто 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, викликають гідроліз цих субстанцій, розщеплюючи їх до більш простих і дрібних молекул і переводячи в розчинний стан.

Виділяють декілька механізмів проникнення речовин. Пасивна дифузія функціонує тоді, коли створюється градієнт концентрації речовини всередині бактеріальної клітини та зовні. 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 високоспецифічними 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 декарбоксилування, перетворюючись на аміак, вуглекислий газ, оксикислоти.

Біосинтетичні процеси відбуваються за участю готових амінокислот, які трансамінуються або перамінуються. Деякі мікроорганізми здатні синтезувати амінокислоти з простих сполук азоту. Необхідно зазначити, що мікроорганізми, на відміну від клітин організму людини, здатні синтезувати незамінні амінокислоти - лізин, метіонін, триптофан.

Вуглеводний обмін забезпечується або гідролітичним розщепленням молекул з утворенням глюкози й мальтози або фосфоролізом. І в одному, і в іншому випадках процеси не супроводжуються вивільненням енергії. Це відбувається при бродінні - окисно-відновних 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. Часто з цією метою клітини використовують метіонін. Синтезовані ліпіди включаються до складу фосфоліпідів. Розщеплення ліпідів відбувається за участю ліпаз та інших ліполітичних ферментів.

Ферменти мікроорганізмів. Усі біосинтетичні процеси та інші метаболічні перетворення в клітині відбуваються за участю особливих високоактивних біологічних каталізаторів, які називаються ферментами. Вони належать до 6 класів: гідролази (забезпечують реакції розщеплення за участю води), оксидоредуктази (каталізують різноманітні окисно-відновні реакції, беруть участь у процесах дихання), ізомерази (здійснюють перенос фосфатних груп у молекулах, спонукаючи процеси ізомеризації), трансферази (переносять аміногрупи, аденілові групи з одних субстратів на інші), ліази (каталізують реакції відщеплення хімічних груп негідролітичним шляхом), лігази (відповідають за синтез нових речовин, який відбувається за рахунок енергії АТФ).

Здатність утворювати певні ферменти кодується клітинним геномом і є постійною ознакою бактерій. Так як бактеріальна клітина займає невеликий об'єм, у ній переважають адаптивні ферменти над конститутивними. Перша група ферментів синтезується тільки за умов наявності субстрату для їх дії. Ферменти другої групи постійно присутні в бактерії в певних концентраціях. Вони зумовлюють першочергові біосинтетичні потреби клітин.

Клітина виділяє ферменти в навколишнє середовище (екзоферменти). Там вони здійснюють контактне позаклітинне перетравлювання речовин або пошкоджують тканини організму господаря. Ендоферменти локалізуються на цитоплазматичній мембрані, в периплазматичному просторі.

Роль ферментативної діяльності мікроорганізмів важко переоцінити. Вони мають загальнобіологічне значення. Відома участь бактерій у кругообізі речовин у природі, формуванні родовищ корисних копалин (нафта, вугілля, поклади сірки). Мікроорганізми - прекрасні санітари довкілля. Вони здатні біодеградувати практично будь-які речовини, що забруднюють навколишнє середовище.

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 (хемотропні 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.

Протягом своєї 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 аденозиндифосфornoї кислоти (АДФ), яка перетворюється в АТФ. Реакції, в яких енергія запасасться на АТФ, одержали назву субстратного фосфорилування. Відновлювач, який при цьому утворюється, (НАДН₂, відновлений фередоксин), переносить електрони на ендogenousний акцептор (піруват, ацетальдегід) або звільняється у вигляді водню.

Окислення відбувається внаслідок переносу електронів через спеціальний електронотранспортний ланцюг, локалізований на мембрані. Він складається з набору переносників і в більшості випадків 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, запасасться у формі електрохімічного трансмембранного градієнта іонів водню - DmH⁺ або в молекулах АТФ.

Прокаріоти містять декілька сполук із високоенергетичними фосфатними зв'язками - ацилфосфати, фосфоенолпіруват, аденозинфосфосульфат, 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 $\Delta\mu_{H^+}$. 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 в клітину два електрони, а протони вивільняються в зовнішнє середовище.

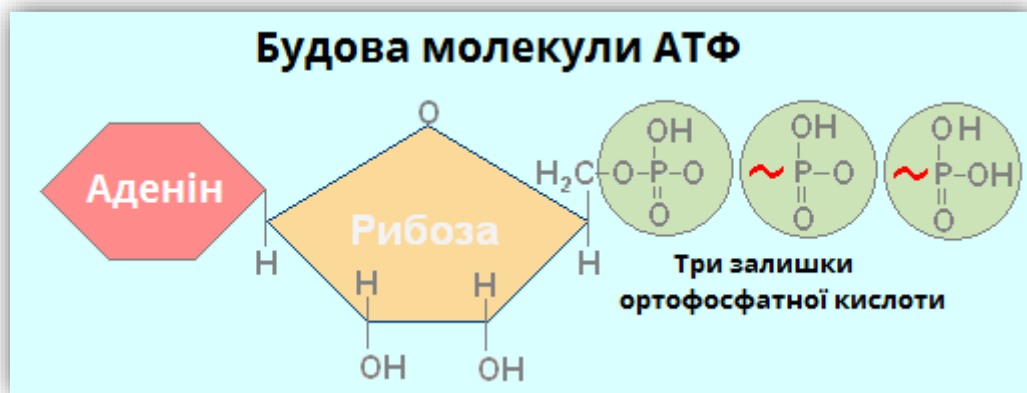


Рис.4.1. Будова молекули АТФ

При такому переносі назовні клітини накопичуються 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 $\Delta\mu_{H^+}$ досягає 200-250 мВ.

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 $\Delta\mu_{H^+}$, 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.

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) служать донорами електронів і при цьому окислюються, акцепторами електронів виступають неорганічні сполуки, вони 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».

Сьогодні, 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. На поверхні рідких живильних середовищ вони ростуть, як правило, у вигляді плівки. Облігатні анаероби - бактерії, які ростуть при відсутності вільного молекулярного кисню за рахунок процесів бродіння. Вони одержують кисень з органічних сполук у процесі їх метаболізму. Деякі з них не виносять 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 (ешеріїї, 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 є збудники бруцельозу бичачого типу.

В облігатних аеробів кисень використовується як кінцевий акцептор електронів у реакціях, що каталізуються цитохромоксидазами та оксигеназами. В 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, так як 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.

4.1.2. Ріст і розмноження бактерій. Культивування 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

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.

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

Розрізняють чотири основні фази росту періодичної культури: початкову (або лаг-) фазу, експоненціальну (або логарифмічну) фазу, стаціонарну та фазу 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.

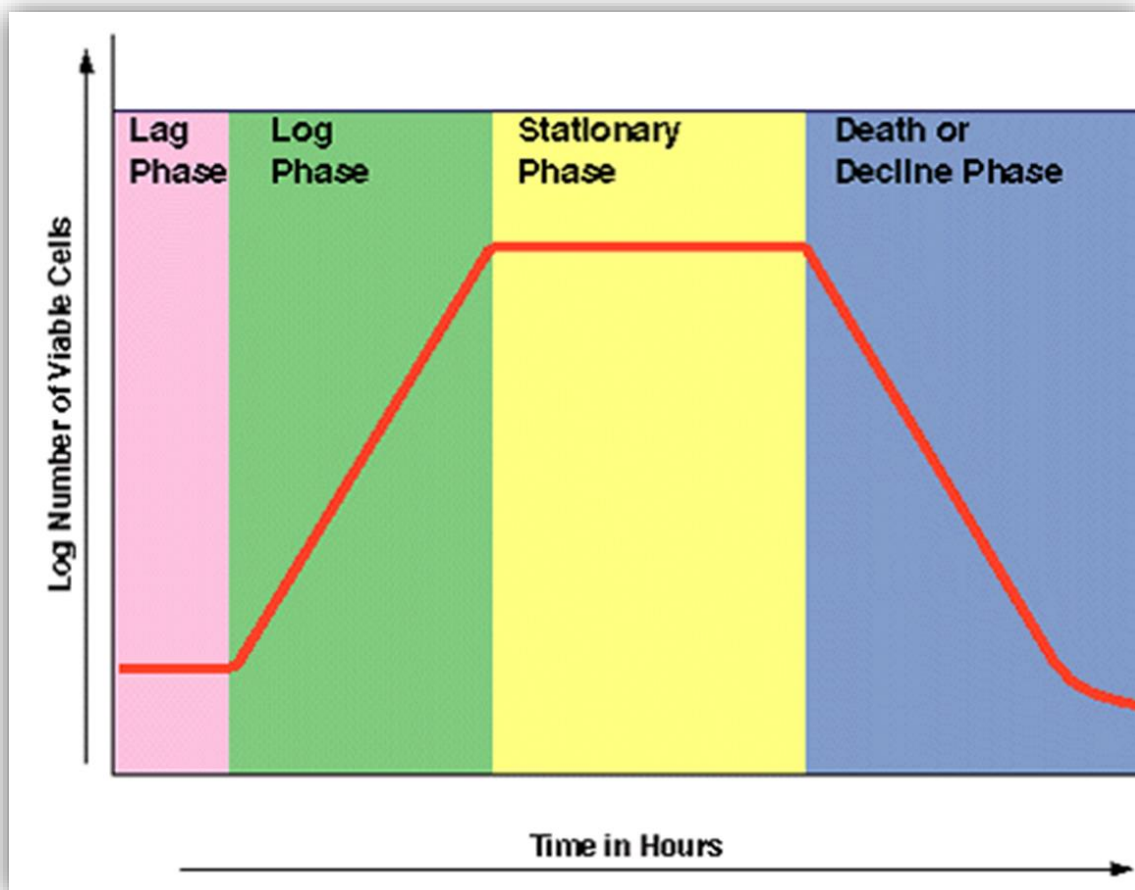


Рис.4.2. Стадії розмноження бактерій в умовах обмеженого середовища

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. Тривалість фази - 5-8 год.

Стаціонарна фаза настає тоді, коли число клітин перестає збільшуватись. Триває фаза 6-7 год.

Фаза відмирання (до 10 год) супроводжується різким зменшенням числа живих клітин. Цьому сприяють значний дефіцит поживних речовин у середовищі, нагромадження кислот, автоліз під впливом власних ферментів.

Культивування мікроорганізмів. Для вирощування бактерій в 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-кісткова мука, 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 служать 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, ячний 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 високої буферності. Середовища повинні мати певну в'язкість, густину Залежно (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 й нові середовища заводського виготовлення (сухі), які здатні задовільнити найвибагливіші потреби мікробіологів. Вони зберігаються тривалий час, мають стандартний склад.

Залежно від своєї густини, середовища поділяються на рідкі, напіврідкі та щільні. Напіврідкі та щільні середовища готуються 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 %), білків (2-3 %), основними складниками є високомолекулярні агароза та агаропептин. Агар розчиняється у воді при підвищеній температурі, а, застигаючи, надає середовищу драгелеподібної консистенції та стійкості до ферментних систем бактерій. Саме за ці властивості він набув широкого розповсюдження у мікробіологічній практиці. Для створення щільних середовищ використовують також желатин (10-15 %), згорнуту сироватку крові.

Середовища поділяються на природні й 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). За своїм складом, наявністю живильних речовин вони придатні для культивування багатьох видів бактерій.

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

Третя група - елективні середовища. Їх використовують для цілеспрямованого 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 Плоскірева - для дизентерійних паличок, середовище Мюллера- для тифо-паратифозних бактерій. 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 велика група середовищ, які дозволяють визначити певні біохімічні властивості мікроорганізмів і проводити їх первинну диференціацію. Вони поділяються на середовища для визначення протеолітичних, пептолітичних, цукролітичних, гемолітичних, ліполітичних, редукуючих властивостей тощо.

На поверхні щільного поживного 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 і лаборанта, адже мікроорганізмам кожного виду притаманні свої особливі колонії.

Характеризувати колонії можна за різними ознаками. За величиною (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, що пропускають світло, і мутними.

За рельєфом і контуром форми у вертикальному розрізі колонії поділяються на плоскі, опуклі, куполоподібні, каплеподібні, конусоподібні. плоско-опуклі, плоскі, що стеляться по поверхні середовища, із вдавненим 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, гірзною, бородавчастою, шагреневою, мати радіальну посмугованість тощо.

Переважає 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 гіалінові, зернисті, ниткоподібні і чи 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 набуває 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. Середовище над ним може залишатись прозорим або ставати мутним. 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.

4.2. ПРАКТИЧНА ЧАСТИНА

4.2.1. Живильні середовища. культивування мікроорганізмів і методи отримання чистих культур

Мета заняття: Вивчити види і призначення живильних середовищ, навчитися готувати звичайні, спеціальні, диференціально-діагностичні і синтетичні середовища. Ознайомитися з будовою термостата, анаеростата і їх призначенням; засвоїти техніку посівів бактерій на живильні середовища. Засвоїти діагностичне значення виділення чистої культури і оволодіти методами, які застосовуються для отримання чистої культури.

Матеріальне забезпечення. Пробірки з МПБ, МПА скошений та стовпчиком, МПЖ, агар Ендо, Левіна, ЖС Кітт-Тароцці, пробірки з вуглеводами, молоко з метиленовою синькою, кров'яний агар, зразки сухих живильних середовищ фабричного виробництва,. Пробірки з лимонно-жовтим стафілококом, сінною паличкою, кишковою паличкою, бактеріологічні петлі, ексикатор.

Зміст заняття.

Обмін речовин у мікроорганізмів представлені 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.

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.

Бактерії живляться голофітним шляхом (як і рослини) через усю поверхню. Пасивний – дифузія і осмос. Активний – білки пермеази. Перед тим, як поживні речовини потрапляють в середину бактерії вони мають бути розщепленні і розчиненні. Для цього бактерії продукують в зовнішнє середовище екзоферменти. Процеси синтезу переважають над процесами розщеплення і відбуваються дуже швидко.

По відношенню до карбону бактерії поділяються:

1. Фотосинтетичні – відбувається синтез (ціанобактерії)
2. Автотрофи – відбувається процес фотосинтезу (здатні утворювати органічні сполуки з неорганічних, але не за допомогою сонячної енергії, а тієї що утворилася гомосинтезом)

3. Гетеротрофи – нездатні перетворювати органічні сполуки з неорганічних, використовують лише органічні (збудники інфекційних хвороб)

За типом засвоєння білку всі бактерії поділяються на :

1. Метатрофи (сапрофіти) – здатні використовувати відмерлий білок. Належать бактерії, що приймають участь в кругообігу речовин.

2. Паратрофи (паразити) – використовують нативний білок (живий білок) – збудники інфекційних хвороб.

Цей поділ умовний, саме це дозволяє вирощувати бактерії на живильних середовищах.

До абсолютних паразитів належать: рикетсії і хламідії. Їх вирощують заражаючи синтезованих клітин або мішок курячого ембріону.

Для розмноження мікробів в лабораторії їх вирощують на живильних середовищах у термостатах. Живильні середовища за консистенцією бувають щільні та рідкі. За складом: білкові, безбілкові та мінеральні (розчини). За походженням: природні – тваринного походження (молоко, яйця, жовч, кров, кров'яна сироватка) та рослинного походження (овочі, плоди, соки, зерно гороху тощо). Широке застосування знайшли штучні середовища тваринного походження (МПА, МПБ, МПЖ) та рослинного (настої і відвари сіна, соломи, дріжджів, пивне сусло).

Любе живильне середовище повинно відповідати наступним вимогам:

1. Містити поживні речовини необхідні для росту даного мікроорганізму в певних пропорціях.

2. Бути прозорим - ця вимога тільки для тих середовищ, на яких вивчаються культуральні і біохімічні властивості (МПА, МПБ, МПЖ, вуглеводні середовища).

3. Бути стерильним.

4. Повинно мати певну реакцію рН 7.2-7.4.

5. Щільне середовище – бути вологим, так як мікроорганізми засвоюють речовини з розчинів голофітним шляхом.

Живильні середовища за своїм призначенням поділяють на звичайні

(прості), кольорові і спеціальні.

До простих відносять молоко, картоплю, МПБ, МПЖ, МПА.

Кольорові - це середовища з індикаторами, які змінюють свій колір при виділенні продуктів життєдіяльності мікробів – кислот, ферментів. Кольорові живильні середовища (Гісса) використовують для визначення цукролітичних властивостей бактерій.

Середовища для визначення ферментації вуглеводів: агар Ендо – бактерії, які розкладають лактозу, фарбують середовище в червоний колір, а бактерії, які не розкладають лактозу - утворюють безбарвні колонії. Середовище Левіна - має фіолетовий колір; бактерії розкладаючі лактозу утворюють сині або чорні колонії, а не розкладаючі - безбарвні.

Спеціальні середовища готують для тих мікроорганізмів, які не ростуть на звичайних середовищах.

Живильні середовища для вирощування анаеробів: Кітт-Тароцці, кров'яний цукровий агар, мозкове середовище.

Середовища для вирощування грибів: Сабуро, агар Чапека.

Техніка посіву мікробів. Посіви для вирощування аеробів здійснюють як з нативного матеріалу, що надсилається в лабораторію, так і з вже наявних бактеріальних культур. Посіви з проб матеріалу, що надійшов в лабораторію, проводять пастерівською піпеткою, з бактерійної маси – бактеріологічною петлею. Посів обов'язково потрібно робити над полум'ям спиртівки.

При посіві в рідкі середовища (МПБ, молоко) пробірку з матеріалом, що досліджується і пробірку з живильним середовищем тримають в лівій руці, в правій розташована петля або піпетка для переносу матеріалу в середовище і корки від пробірок. Біля полум'я спиртівки петлю (або піпетку) вносять в пробірку з матеріалом, беруть одну краплю, після цього обережно переносять в пробірку із стерильним середовищем, злегка занурюючи в нього, після цього обережно виймають, закривають корками пробірки, петлю фламбують над полум'ям спиртівки (пастерівську піпетку занурюють в банку з дезінфікуючим розчином - фенол, формалін). Стежать, щоб не змокрили корки.

При посіві на щільне середовище пробірки з мікробною культурою і стерильним живильним середовищем (МПА) беруть в ліву руку, тримають скошеною поверхнею МПА доверху, корками в бік полум'я спиртівки. У відкриту у полум'ї пробірку з мікробною культурою, яку засіваємо (або іншим матеріалом) обережно опускають петлю, злегка торкаючись до поверхні вмісту пробірки, і, взявши одну краплю, переносять її в іншу пробірку зі стерильним середовищем. Петлю опускають до дна пробірки, занурюють в конденсаційну рідину і роблять посів штрихом - зигзагоподібними рухами проводять петлею вверх вздовж поверхні середовища. Пробірки закривають, петлю фламбують

Всі засіяні пробірки ставлять в термостат для вирощування. Через 16-18 або 24-48 год. враховують результат.

Методи культивування аеробів і анаеробів.

Культивування мікроорганізмів відбувається в термостатах при певних температурах. Збудників хвороб теплокровних тварин культивують при 37-

38⁰С, людини – 36-37⁰С, бджіл – 34-35⁰, грибів – 28-30⁰С.



Рис.4.3. Культивування бактерій в термостаті

Крім забезпечення температурного режиму, необхідно враховувати тип дихання мікроорганізмів: при аеробному типі дихання ніяких додаткових умов створювати не потрібно. Для анаеробів необхідно вилучити доступ вільного кисню повітря. З цією метою використовують ексикатор. З ексикатора фізичним, хімічним або біологічним методом видаляють повітря і ставлять його в термостат.

Фізичний - за допомогою насоса викачують повітря, *хімічний* - на дно ставлять чашку Петрі з хімічними

речовинами, які активно зв'язують кисень повітря (пірогалол + їдкий натр), *біологічний* - на одну половину поживного середовища засівають аеробний мікроб, а на другу - анаеробний.

Виділення чистих культур. Вид - це сукупність мікроорганізмів, які мають однакове походження і генотип, подібну будову та функціональні ознаки.

Ріст мікробних клітин одного виду на щільному або рідкому живильному середовищі називають **чистою культурою**.

Культури мікробів одного виду, які вилучені з різних джерел, або з одного й того ж джерела, але в різні часи називають **штамом**.

Бактерії одного виду, які виростили на щільному середовищі складають **колонію**.

Чисті культури необхідні для ідентифікації виду мікроорганізмів. Належність мікробної культури до певної систематичної групи (класу, родини, роду, виду, варієтету) встановлюють шляхом вивчення морфологічних, тінкторіальних, культуральних, біохімічних, антигенних ознак.

Виділення чистої культури.

Засіб Дригальського - засіб пластинчатого посіву. Беруть 4 - 5 стерильних чашок Петрі з МПА. Краплю матеріалу, що досліджується бактеріологічною петлею вносять на поверхню агару, шпателем Дригальського розтирають рівномірно по поверхні середовища. Цим же шпателем, не опалюючи його, розтирають (засівають) по поверхні середовища другої чашки, після цього послідовно в третій, четвертій чашках. Після посіву їх розміщують у термостаті вверх дном. Зростання ізолюваних колоній досягається в останніх чашках. Далі потрібну колонію відзначають, відділяють в МПБ і МПА, ставлять в термостат для вирощування.

В випадках необхідності відділення спорових форм від видів, які не утворюють спори, готують суспензію матеріалу, що досліджується,

прогрівають її в водяній бані при 800С 30-40 хв. – вегетативні форми мікроорганізмів гинуть, спори зберігаються життєздатними. Далі прогріту суспензію висівають методом Дригальського.

Хімічний засіб полягає в тому, що хімічні речовини в певній концентрації додають до живильних середовищ. Дія цих речовин на різні види мікробів неоднакова: одні види гинуть (бактеріцидна дія), інші – затримуються в своєму рості (бактеріостатична дія), а на треті ці речовини не виявляють згубного впливу. На цьому принципі засноване застосування вибіркового і елективного середовищ.

Біологічний засіб дозволяє виділити чисту культуру тільки патогенних (хвороботворних) мікроорганізмів: матеріал, що досліджується (суспензія тканини, суспензія бактерій) вводять чутливій тварині (біла миша, морська свинка, голуб, кріль). Тварини гинуть, їх розтинають, і посіви з внутрішніх органів дозволяють виділити чисту культуру.

Отримання чистої культури анаеробів. Принцип зберігається той же, що і при роботі з аеробами, тільки використовують спеціальні середовища: застосовуючи засіб Дригальського, посів проводять на глюкозо-кров'яний агар в чашках Петрі, які після цього поміщають в умови анаеробіозу (в ексікатор, мікроанаеростат). Користуються також засобом посіву на середовище Вільсона-Блера. Коли зростають окремі чорні колонії, їх пересівають в середовище Кітт-Тароцці, одержуючи таким чином чисту культуру. Для цієї ж мети може служити біологічна проба: матеріалом що досліджується (або змішаною культурою) заражають чутливу лабораторну тварину. Після її загибелі і розтину – проводять посіви в середовище Кітт-Тароцці, напіврідкий агар високим стовпчиком або на глюкозо-кров'яний агар, як згадано вище.

Контрольні запитання

1. Призначення живильних середовищ і вимоги до них.
2. Класифікація живильних середовищ.
3. Культивування аеробів.
4. Культивування анаеробів.
5. Метод Пастера, Дригальського.
6. Що таке вид, клон, штам, варіант, чиста культура ?

4.2.2. Культуральні і біохімічні властивості мікроорганізмів

Мета заняття: Вивчити культуральні, цукролітичні, протеолітичні, редуційні властивості мікроорганізмів отриманих на попередніх заняттях і визначити їх видову належність по визначнику.

Матеріальне забезпечення. Предметні та покривні скельця, культури стафілокока, кишкової палички в напіврідкому агарі, в МПБ, МПА, МПЖ, середовища з різними вуглеводами, молоко з метиленовою синькою, агар Ендо, агар Левіна, кров'яний агар, фільтрувальний папір, просочений 12% водним розчином щавлевої кислоти і 10% розчином оцтовокислого свинцю,

пробірки і чашки Петрі з посівами попереднього заняття, набори для фарбування за Грамом.

Зміст заняття.

Враховуючи результати посівів на попередньому занятті, відмітити характер росту на рідкому і щільному живильних середовищах.

Культури розглядати макроскопічно (візуально) і мікроскопічно (під лупою). Результати спостережень занести в робочий зошит.

Культуральні властивості – це характеристика росту мікроорганізмів на живильних середовищах. Кожний вид бактерій по своєму росте на живильних середовищах і це – є індивідуальна ознака.

Зростання мікроорганізмів в рідких живильних середовищах не характеризується великою різноманітністю. При макроскопічному дослідженні (неозброєним оком) відзначають характер і ступінь **помутніння** середовища: рівномірне (дифузне), інтенсивне, помірне, слабе і у вигляді опалесценції.

Зростання культури в рідкому середовищі може бути поверхневим у вигляді **плівки** на всій поверхні середовища, підійматися (загинатися) на стінки пробірки або займати тільки частину поверхні середовища, не доходячи до стінки пробірки.

Враховують **колір плівки** (блакитний, жовтуватий, сірий, білий), товщину (тонка, товста, ніжна, груба), характер поверхні плівки (складчаста, зморшкувата, гладка, сітчаста, пухнаста), консистенцію (крихка, ослизла,).

Культури мікробів деяких видів в рідкому середовищі утворюють **осад** - він може бути численний і незначний, щільний (компактний), пухкий, зернистий, у вигляді шматочків вати, пластівців, ослизлий.

За кольором - білий, жовтий, матовий, зеленуватий, сіруватий та ін. При струшуванні осад або розбивається, створюючи рівномірне помутніння середовища, або утворюються великі або ж дрібні пластівці, грудки; ослизлий осад може підійматися уверх в вигляді «коси» з помутнінням середовища, або воно при цьому залишається прозорою.

Зростання культури в рідкому середовищі може бути пристінним. Воно супроводжується прикріпленням та розмноженням мікробів на склі (на стінках пробірок) з утворенням характерного матового нальоту, дрібних пластівців, зерен.

Зростання мікробів в напіврідкому середовищі, що не володіють рухливістю, відбувається за уколом у вигляді білуватого стрижня. Навколишнє середовище при цьому залишається прозорим. Рухомі

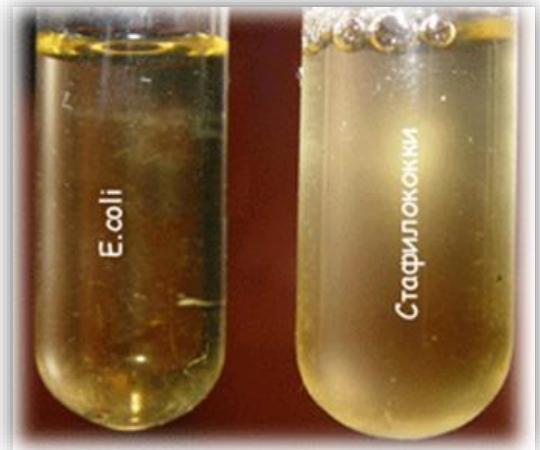


Рис.4.4. Культуральні властивості бактерій в МПБ

мікроорганізми викликають помутніння напіврідкого агару різної інтенсивності, що розповсюджується у вигляді «хмарок».

Посів мікробів в МПА, МПЖ (стовпчиком) роблять уколом суворо по центру в глибину середовища або в безпосередній близькості до стінки пробірки.

Зростання мікробів на щільних живильних середовищах (МПА) супроводжується утворенням колоній - скупчень мікробів, що утворюються в результаті розмноження однієї бактеріальної клітини. Колонії характеризуються великою різноманітністю, можуть бути ізольованими і злитими. Вивчення їх проводять неозброєним оком і з допомогою мікроскопу або лупи. Звичайно заздалегідь відзначають характер зростання - численний, помірний, незначний; після цього враховують наступні ознаки:



Рис.4.5. Культуральні властивості бактерій в МПА

1) форма - правильна (овальна, округла), неправильна (зіркоподібна, гілляста та ін.);

2) розмір (вимірюють з допомогою лінійки або окуляру-мікромметра мікроскопу) - великі (діаметр понад 4 мм), середні (діаметр 2-4 мм), дрібні (діаметр 1-2 мм) і дрібні - росяні (діаметр менше 1 мм);

3) край колонії - рівний (S-форма), шорсткий (R-форма), хвилястий, бахромчастий, зубчастий, локоноподібний;

4) прозорість і блиск - прозора, напівпрозора, мутна колонія;

5) колір - сірувато-білий, безбарвний, білий, кремовий, оранжевий, блакитний, зелений, золотистий, жовтий, червоний, синій, чорний та ін. Колір колоній культури бактерій залежить від кольору пігменту, який вони виробляють;

6) профіль (рельєф) (визначають у відбитому світлі) - опуклий, плоский, конусоподібний, кратероподібний, з валиком по колу;

7) поверхня - гладка, горбкувата, зморшкувата, складчаста, з концентричними колами;

8) консистенція (визначають дотиком до поверхні колонії бактеріологічною петлею) - щільна (легко знімається з агару або росте в товщу середовища), крихка, ослизла (тягуча, прилипає до петлі), тістоподібна, олієподібна;

9) структура - однорідна, волокнувата, плівчаста, зерниста.

При перегляді колоній під мікроскопом чашки Петрі розміщують на предметний столик дном уверх, а пробірки з агаровою культурою - скошеною поверхнею агару донизу. На поверхні агару при посіві штрихом бактерії

ростуть у вигляді ізольованих колоній або утворюють суцільний наліт з рівними, хвилястими, краями. Інколи цей наліт буває дифузним, перистим і ризоїдним (деревоподібним). При цьому відзначають колір, характер поверхні, консистенцію, прозорість штриху.

Колонії вивчають у віці однієї доби!

Культуральні властивості анаеробів вивчають на середовищі Цейслера. Вони утворюють десять видів колоній. Для ветлікаря мають значення шість з них:

1. Гудзикоподібні підвищення. Колонії оточені великою коричнево-болотистою непрозорою зоною - *Cl. perfringens*.

2. Округлі, кореневоподібні, безбарвні або ніжно сірі колонії - *Cl. botulinus*, *Cl. oedematiens*.

3. Вуалеподібні із зрізаними краями колонії, часто з ніжними відростками, безбарвні. Легкий гемоліз - *Cl. tetani*, *Vibrio septique*.

4. Колонії мають вигляд перламутрового гудзика і форму виноградного листа. Плоскі з підвищеннями в центрі, ніжно синьо-фіолетового відтінку. Незначний гемоліз - *Cl. chauvoei*

5. В'язкі, іноді у вигляді твердих бородавок колонії, білі або непрозорі. Часто вузька інтенсивна зона гемолізу - *Cl. sporogenes*.

6. Білі, ніжно блакитні або безбарвні майже круглі, дуже дрібні колонії. Оточені ніжним гемолізом - *Cl. histolyticum*, а іноді *Cl. tetani*.

Потрібну колонію пересіяти в пробірки з середовищами для визначення цукролітичних, протеолітичних і редукційних властивостей мікроорганізмів. Поставити у термостат.

Біохімічна активність мікроорганізмів дуже різноманітна і зумовлена наявністю у них специфічних ферментних систем, а також умовами навколишнього середовища. Ферменти відіграють велику роль у життєдіяльності мікробів. Вони беруть участь у різноманітних біохімічних реакціях, що лежать в основі живлення, дихання, зростання і розмноження 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°C, а також під дією лугів, кислот, солей важких металів тощо. Розрізняють ендоферменти та екзоферменти.

Ендоферменти міцно зв'язані з цитоплазмою і здійснюють перетворення поживних речовин у складі частини клітини.

Екзоферменти 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-носії і простетична, або

активна, група. Білковий носій називається апоферментом, активна група – коферментом. Власне ні білкова, ні простетична група не мають ферментативної активності і тільки разом вони набувають її.

Ферменти діють при певному рН: пепсин активний тільки в кислому середовищі (рН 1,5-2,5), трипсин – слабко-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. 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.

В лабораторній мікробіологічній практиці вивчення біохімічних властивостей бактерій є одним з найважливіших диференціально-діагностичних засобів точного розпізнавання збудника інфекційної хвороби.

Цукролітичні властивості – це здатність мікроорганізмів гідролізувати цукри і багатоатомні спирти. Виявляють при посіві бактерій на диференціально-діагностичні середовища з різними вуглеводами і індикатором. Частіше застосовують середовище Гісса (з індикатором Андреде). Набір середовищ Гісса з різними вуглеводами (глюкоза, лактоза, мальтоза, цукроза, манніт, дульцит, і ін.), стерильне знежирене просте молоко, молоко з лакмусом, молоко з метиленовим синім - називають *строкатим рядом*. Посіви культур здійснюють за звичайною методикою бактеріологічною петлею або пастерівською піпеткою. Після інкубування в термостаті враховують результат ферментації вуглеводів: зміна кольору живильного середовища (в червоний колір з індикатором Андреде) означає розщеплення вуглеводу і утворення в середовищі кислих продуктів розпаду.

Якщо при розщепленні даного вуглеводу утворюється не тільки кислота, але й газоподібні речовини, останні виштовхують частину рідини з поплавця, і міхурці газу збираються у його верхній частині.

Протеолітичні властивості – це здатність мікроорганізмів гідролізувати білки. Визначають на МПЖ. Посів мікробів в МПЖ стовпчиком проводять уколом, зануривши голку (або петлю) з культурою, що досліджується, вглиб живильного середовища до дна пробірки. В тих пробірках, де під дією ферментів бактерій відбудеться протеоліз желатини, середовище розріджується. Мікроби різноманітних видів розріджують МПЖ неоднаково. Одні з них у вигляді вирви (збудник сибірки), інші - у вигляді «панчохи» (стафілококи). Буває розрідження пошарове (синьогнійна паличка та ін.).

Ступінь протеолізу і глибину розщеплення білка у різних видів бактерій визначають шляхом утворення кінцевих продуктів розпаду (індол, сірководень, аміак та ін.)

Індол встановлюють різноманітними способами. Найбільш доступним і зручним вважається спосіб з використанням індикатору (фільтрувальний папір), просоченого 12%-вим розчином щавлевої кислоти. За наявності індолу нижня частина індикаторного паперу фарбується в рожевий колір.

Визначення сірководню проводять за допомогою індикатора (фільтрувальний папір) , просоченого 10%-вим розчином оцтовокислого свинцю. При наявності сірководню відбувається почорніння фільтрувального паперу (утворюється сірчистий свинець чорного кольору).

Редукуючі властивості мікробів – це здатність мікроорганізмів знебарвлювати органічні барвники. Визначають на молоці з метиленовою синню, малахітовою зеленню, нейтральним червоним та ін., на підставі зміни кольору органічної фарби.

Петлю культури, що досліджується, висівають в молоко з фарбою, інкубують в термостаті 24 год. Під впливом мікробних ферментів барвник відновлюється, відбувається його знебарвлення або зміна вихідного кольору.

Гемолітичні властивості мікробів – це здатність мікроорганізмів руйнувати еритроцити. Бактерії деяких видів в процесі життєдіяльності продукують особливі речовини, гемотоксини (білкової природи), що руйнують оболонку еритроцитів. Для визначення гемолітичної активності бактеріальні культури висівають на живильні середовища, що містять 5% дефібринованої крові (частіше кров'яний МПА). При зростанні мікроорганізмів, що володіють гемолітичними властивостями, навколо колонії в результаті лізису еритроцитів утворюється зона гемолізу: прозора зона (безбарвна або пофарбована).

Контрольні запитання

1. Характер росту мікроорганізмів на МПБ.
2. Характер росту мікроорганізмів на щільному живильному середовищі.
3. Методи визначення цукролітичних властивостей.
4. Визначення протеолітичних властивостей мікроорганізмів.
5. Методи визначення індолу, аміаку, сірководню.

4.2.3. Визначення активності антибіотиків і антибіотико-резистентності мікроорганізмів

Мета заняття: навчити студентів визначати активність антибіотиків і антибіотикорезистентність мікроорганізмів.

Матеріальне забезпечення. Банка з дезрозчином, серія послідовних розведень пеніциліну в пробірках на фізіологічному розчині (1:10, 1:100, 1:1000, 1:10000), дві чашки Петрі з МПА, бульйонна культура золотистого стафілококу, стерильні паперові диски, культура мікроорганізмів, виділена з патматеріалу, стерильні пробірки, стерильний фізрозчин у пробірках, паперові диски, просочені різними антибіотиками, очні піпетки, пінцет, спиртівка.

Зміст заняття.

У природних умовах мікроорганізми взаємодіють, як з неживим середовищем, так і з живими організмами, оскільки вони є складовою частиною біоценозу. Ця взаємодія може бути фізичною, хімічною і

біологічною. Найбільш складною є біологічна взаємодія. Взаємовідношення між живими організмами і мікроорганізмами, а також між різними видами мікроорганізмів можуть носити характер симбіозу, коменсалізму, метабіозу, сателізму, синергізму, антагонізму, паразитизму, фагії.

Симбіоз – це співжиття двох і більше видів мікроорганізмів, при якому вони отримують взаємну вигоду. Прикладом симбіозу тварин і мікроорганізмів є наявність у шлунку жуйних тварин мікробів, які розщеплюють целюлозу; симбіоз рослин і мікроорганізмів простежується між мікробами, які знаходяться на коренях рослин (бульбочкові бактерії) і бобовими рослинами, а також між грибами і синьо-зеленими водоростями. Часто зустрічається симбіоз між різними видами мікроорганізмів. Прикладом такого симбіозу є взаємовідношення між деякими видами молочнокислих бактерій і дріжджів. Продукти життєдіяльності дріжджів – вітаміни стимулюють ріст молочнокислих бактерій, які, виробляючи молочну кислоту, в свою чергу, створюють умови, сприятливі для розвитку дріжджів. Співжиття в одному замкнутому середовищі аеробів і анаеробів також є прикладом симбіозу. Використавши кисень середовища, аероби створюють сприятливі умови для анаеробних мікроорганізмів, які можуть існувати лише в безкисневому середовищі.

Коменсалізм – це вид співжиття, коли одні організми живляться за рахунок інших, не причиняючи їм шкоди. Прикладом коменсалізму є заселення кишечника людини і тварин мікроорганізмами сапрофітами (кишкова паличка), поверхні шкіри – коковими бактеріями.

Метабіоз – вид взаємовідношень, при яких продукти життєдіяльності одних видів мікроорганізмів використовуються іншими і тим самим створюються сприятливі умови для їх розвитку. Метабіоз характерний для мікробів сапрофітів, які розщеплюють білки до пептонів, амінокислот і інших простих сполук. Ці сполуки служать вихідним (поживним) матеріалом для нітрифікуючих бактерій, які переводять аміачні солі в азотисту, а потім в азотну кислоту. Азотна кислота з ґрунту добре засвоюється рослинами. В основі кругообігу речовин в природі лежить перетворення цукрів у етиловий спирт за участю дріжджів, а в подальшому – окислення етилового спирту оцтовокислими бактеріями в оцтову кислоту. Такий метабіоз поширений серед мікроорганізмів ґрунту.

Сателізм – це різновид співжиття, в якому стимуляція росту одного мікроорганізму відбувається за рахунок продуктів життєдіяльності іншого, який потім стає його супутником. Прикладом сателізму служить продукція азотобактером біологічно активних речовин і вітамінів, стимулюючих розвиток мікроорганізмів, які перетворюють органічні форми фосфору в неорганічні, необхідні для розвитку вищих рослин.

Синергізм – форма взаємовідношень при якій посилюються фізіологічні функції у членів асоціації. Явища синергізму спостерігаються при співжитті азотобактера і грибоподібної бацили, борелій і фузобактерій.

Паразитизм, коли користь від співжиття отримує лише один (паразит), а інший отримує від цього лише шкоду.

Антагонізм – це такий різновид взаємовідносин, в яких продукти життєдіяльності одного мікроорганізму пригнічують розвиток іншого. Причиною цього явища може бути згубна дія на іншого. До того ж бактерії і гриби здатні виробляти речовини антибіотики, які згубно діють на інші мікроорганізми. Людина широко використовує антибіотики для боротьби з патогенними мікроорганізмами, при лікуванні інфекційних захворювань.

Принцип антагонізму використовується і для приготування та зберігання кисломолочних продуктів. Так, молочнокислі мікроорганізми утворюють молочну кислоту, яка знижує рН і тим самим створюються умови, в яких не можуть жити гнилісні бактерії. Ще один приклад антагонізму: синьогнійна паличка виробляє отруйні речовини, які згубно діють на збудника сибірської виразки.

Антагонізм можливий не тільки між мікроорганізмами, а й між ними і рослинами. Різними рослинами виробляються токсичні для мікроорганізмів речовини. Ці леткі речовини отримали назву фітонциди. Фітонциди одних рослин мають бактеріостатичну дію, для інших – бактерицидну. Чисте повітря в соснових і кедрових лісах пояснюється високим вмістом у ньому фітонцидів. Багато фітонцидів виділяють часник, цибуля, гірчиця, ялинка, піхта, редька, черемха, дуб, береза.

Антибіотики (грец. anti - проти, bios - життя) – це специфічні сполуки біологічного походження, які згубно впливають на мікроорганізми. Для них характерна специфічність, а саме вибірковість дії на певні види мікроорганізмів. Термін «антибіотики» в 1942 році запропонував S.A.Waksman.

Вперше антагоністичне відношення між різними видами мікроорганізмів спостерігав в 1887 р. Л. Пастер. Він помітив, що бактерії сибірки гинуть у випадку їх спільного знаходження із гнилісними мікроорганізмами. Поворотним моментом у вивченні антибіотиків було відкриття англійським вченим А.Флемінгом (1929) пеніциліну, який встановив, що навколо колонії *Penicillium notatum* (пліснявого гриба) колонії стафілокока гинуть. Згодом в 1940 році Е.Чейн і Г.Флорі виділили чистий пеніцилін, в 1944 р. З.Ваксман відкрив ще один антибіотик – стрептоміцин. На даний час описано більше 2000 антибіотиків. Особливістю антибіотиків, яка відрізняє їх від інших метаболітів, є їхня вибіркова токсичність для мікроорганізмів. Крім природних антибіотиків в останні роки отримали широке розповсюдження і напівсинтетичні препарати.

Класифікують антибіотики, за походженням, за спектром дії і за механізмом дії, за хімічною структурою тощо.

За походженням антибіотики поділяються на ті, що виробляються мікроорганізмами, антибіотики із рослин (звіробою – іманін, часнику – аліцин, безсмертника – аренарін) і тканин тварин (риб – екмолін). Найбільш представницька група антибіотиків – це антибіотики мікробного походження.

Близько 70% антибіотиків, які використовуються в медицині виділено з актиноміцетів: стрептоміцин, неоміцин, канаміцин, тетрациклін, еритроміцин тощо.

Велика кількість антибіотиків, які надзвичайно широко використовуються в медицині виробляються грибами: пеніцилін, ампіцилін, оксацилін, ампіокс, цефалоспорин та ін.; значно менше антибіотиків, що утворюються бацилами (граміцидин, поліміксин В і М, субтілін та ін.).

За спектром дії антибіотики поділяються на антибактеріальні (згубно впливають на бактерії – стрептоміцин, левоміцетин, бензилпеніцилін, тетрациклін), протигрибкові (пригнічують ріст грибків – ністатин, леворін) і протипухлинні (затримують розмноження клітин злоякісних пухлин – брунеоміцин, рубоміцин).

Антибіотики, які активні лише до грампозитивних або грамнегативних мікроорганізмів, називають препаратами вузького спектру дії (бензилпеніцилін, поліміксин), а ті, які затримують ріст і розвиток і одних і других – широкого спектру дії (тетрациклін, стрептоміцин, гентаміцин, неоміцин).

За механізмом дії антибіотики поділяються на препарати, які:

- порушують синтез бактеріальної клітинної оболонки (пеніцилін, циклосерин, цефалоспорины та ін.);
- порушують синтез білка в бактеріальній клітині (стрептоміцин, левоміцетин, тетрацикліни та ін.);
- порушують цілісність цитоплазматичної мембрани (поліміксин, ністатин та ін.);
- пригнічують синтез нуклеїнових кислот в клітинах (рифампіцин, протипухлинні антибіотики).

Методика визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів.

Приготувати ряд розведень антибіотику, що досліджується (1:10, 1:100, 1:1000 тощо). В чашки Петрі з стерильним МПА вносять культуру тест-мікробу і рівномірно розподіляють по всій поверхні, надлишок зливають в банку з фізрозчином. Чашку залишають на 30 хвилин при кімнатній температурі. Далі паперові диски просочують відповідними розведеннями антибіотику і розташовують на МПА на однаковій відстані одне від одного. У центрі чашки Петрі розміщують паперові диски просочені різними антибіотиками: пеніциліном, стрептоміцином, байтрілом та іншими.

Антибіотик, яким просочений диск, дифундує в агар і чим більше його активність, тим більше зона відсутності росту тест-мікробу.

Антибіотикорезистентність збудників хвороб перевіряють по



Рис.4.6. Визначення чутливості бактерій до антибіотиків

відношенню до декількох антибіотиків.

Агарову культуру збудника хвороби, що досліджується змивають фізіологічним розчином і готують одномільярду суспензію. 1 мл суспензії засівають суцільним шаром в чашку з МПА, надлишок рідини відсмоктують піпеткою. Засіяні чашки підсушують в термостаті при 37°C 15-30 хвилин. Диски просочені антибіотиками стерильним пінцетом розкладають на відстані 2 см від краю. У одній чашці одночасно розміщують 4-5 різних антибіотиків. Чашки з дисками витримують при кімнатній температурі 2-3 години і далі - у термостаті 14-15 годин при температурі 37°C. За величиною затримки росту збудника судять про його чутливість до відповідного антибіотику.

Мікроорганізм вважається чутливим до антибіотику, якщо зона затримки росту дорівнює 15-25 мм, малочутливим - до 15 мм, резистентним при відсутності зони затримки росту.

Контрольні запитання

1. Походження антибіотиків. Мікробний антагонізм.
2. Одиниці дії антибіотиків.
3. Методи визначення активності антибіотиків.
4. Визначення резистентності мікробів до антибіотиків.

4.3. ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ

Опрацюйте таблицю 4

Таблиця 4.1

Культура бактерій (визначення)	Бактерії, що вирости на поживному середовищі
Чиста культура (визначення)	Скупчення бактерій одного виду, що вирости на щільному чи рідкому поживному середовищі
За способом отримання чисті культури поділяють на	1. Одноклітинну культуру, що отримана з однієї вихідної мікробної клітини шляхом прямої її ізоляції за допомогою мікроманіпулятора. Таку одноклітинну культуру називають клоном. Цей метод використовується в науково-дослідницькій роботі. 2. Культуру, що отримана з ізолюваної колонії шляхом її пересівання у пробірку з щільним чи рідким поживним середовищем. Цей метод є загальноприйнятим. Таку культуру можна вважати одноклітинною, хоча в окремих випадках колонія може утворюватися в результаті розмноження не однієї, а декількох бактеріальних клітин – штаб
Чисті культури бактерій необхідні для	Вивчення властивостей даного виду мікробів. Визначення видової належності даних мікробів, тобто

	для їх ідентифікації. Виготовлення бактеріальних препаратів: діагностичних, лікувальних та профілактичних. Використання у мікробіологічних експериментах
Вид (визначення)	Це група особин, що мають загальне походження, однакову будову та функції
Штам (визначення)	Культура бактерій, виділена з конкретного джерела (організму людини, тварини, об'єкта зовнішнього середовища)
Клон (визначення)	Потомство однієї бактеріальної клітини
Основні процеси, що складають фізіологію мікроорганізмів	Живлення, дихання, розмноження, мінливість
Механізми живлення бактерій	Пасивна дифузія – перенесення поживних речовин у клітину за рахунок різниці концентрації по обидва боки цитоплазматичної мембрани. Спостерігається в основному при потраплянні в бактеріальну клітину води. Активний транспорт - проходження проти градієнта концентрації, тобто „проти течії”, відбувається зі значними витратами енергії АТФ, що виділяється у процесі метаболізму.
Групи бактерій за типом дихання	1. Облігатні аероби. 2. Облігатні анаероби. 3. Факультативно-анаеробні мікроорганізми. 4. Мікроаерофіли
Облігатні аероби	Мікроорганізми, для оптимального росту яких необхідно 21% кисню в атмосфері. До них належать збудники туберкульозу, чуми, холерний вібріон. Акцептором електронів (водню) у них є кисень
Облігатні анаероби	Бактерії, які ростуть за відсутності вільного молекулярного кисню за рахунок процесів бродіння. Такими є збудники правця, ботулізму, газової анаеробної інфекції, бактеріоди, фузобактерії та ін.
Факультативні анаероби (факультативні аероби)	Бактерії, що залежно від умов середовища (наявності або відсутності кисню) здатні переключати свої метаболічні процеси з використанням молекулярного кисню на бродіння та навпаки Групу факультативних анаеробів формують численні представники групи кишкових бактерій (ешерихії, шигели, сальмонели та ін.)
Мікроаерофіли	Особлива група бактерій, для яких концентрація кисню в атмосфері при культивуванні може бути

	зменшена до 2%. Вищі його концентрації здатні затримувати ріст. Представниками цієї групи є молочнокислі бактерії, збудники виразки шлунка, спірохети, актиноміцети
Капнофільні мікроорганізми	Мікроорганізми, що культивуються в атмосфері, яка містить 5 – 10 % вуглекислого газу, наприклад, бруцели, менінгококи
Групи бактерій за способом утилізації вуглецю та азоту	Аутотрофи, гетеротрофи
Класифікація гетеротрофів	Сапрофіти та паразити
Класифікація паразитів	Облігатні та факультативні
Облігатні паразити (визначення)	Мікроорганізми, що повністю не здатні жити без живого організму (віруси, рикетсії, хламідії)
Методи мікробіологічної діагностики	1. Мікроскопічний. 2. Бактеріологічний. 3. Біологічний. 4. Серологічний. 5. Алергічні проби. 6. Молекулярно-генетичні
Цілі культивування бактерій у ветеринарній практиці	Культивування бактерій, а саме бактеріологічний метод дослідження, проводять з метою діагностики інфекційних захворювань, виявлення мікроорганізмів у навколишньому середовищі, визначення виду й варіанта мікроорганізмів, а також для добування продуктів їх життєдіяльності – токсинів, ферментів, антибіотиків тощо
Методи виділення чистих культур, що ґрунтуються на біологічному принципі	Біологічний принцип роз'єднання бактерій передбачає цілеспрямований пошук методів, які враховують численні особливості мікробних клітин: 1) тип дихання (аероби та анаероби); 2) здатність мікроорганізмів проникати через неушкоджені шкірні покриви; 3) здатність до спороутворення та термостійкість (спорові форми); 4) стійкість мікроорганізмів до дії кислот та лугів (мікобактерії); 5) рухливість бактерій (протей); 6) чутливість лабораторних тварин до збудників інфекційних захворювань (пневмококи); 7) чутливість бактерій до дії антибіотиків, хімічних

	речовин та інших протимікробних засобів (менінгококи, бордетели)
Умови культивування бактерій	1. Оптимальне поживне середовище. 2. Оптимальна температура. 3. Аеробні або анаеробні умови 4. Термін культивування. 5. Оптимальна вологість. 6. Відсутність світла
Типи поживних середовищ	1. Прості (основні). 2. Елективні. 3. Селективні. 4. Диференціально-діагностичні. 5. Спеціальні. 6. Середовища накопичення. 7. Консервувальні
Прості поживні середовища	Такі середовища ще називають універсальними. До них відносять м'ясопептонний агар, м'ясопептонний бульон, пептонну воду. На таких середовищах росте більшість мікроорганізмів
Спеціальні поживні середовища	Використовують для культивування певних видів мікроорганізмів, які на інших середовищах ростуть погано або зовсім не ростуть. Приклади: ЖСА, лужна пептонна вода
Елективні поживні середовища	Застосовують для виділення та накопичення певних бактерій. Наприклад, середовище Рапопорт – елективне для сальмонел
Селективні поживні середовища	Склад таких середовищ сприяє росту одних бактерій і пригніченню інших. Приклади: агар Плоскірева, Левіна, ВСА
Середовища накопичення	Рідкі поживні середовища, що використовуються для накопичення бактеріальної маси
Диференціально-діагностичні поживні середовища	Використовують для того, щоб відрізнити один вид бактерій від іншого. Наприклад: середовища Хісса, цитратний агар Симонса, агар Ендо
Індикаторні поживні середовища	Використовують для виявлення культур бактерій, ріст яких спричинює добре видиму зміну середовища. Наприклад, середовище Вільсона-Блера
Консервувальні середовища	Основне призначення цих середовищ – первинний посів й транспортування патологічного матеріалу.
Чиста культура (визначення)	Популяція мікроорганізмів, що складається з одного виду

Значення бактеріологічного методу дослідження	Бактеріологічний (культуральний) метод дослідження полягає в тому, що патологічний матеріал висівають на поживні середовища, виділяють чисту культуру збудника та ідентифікують його. Бактеріологічне дослідження проводять для діагностики інфекційних хвороб, виявлення мікроорганізмів у навколишньому середовищі, визначення виду мікробів
Принципи виділення чистих культур	1. Механічне розбавлення дослідного матеріалу при посіві. 2. Використання біологічних властивостей бактерій
Етапи бактеріологічного методу діагностики	1. Виділення чистої культури. 2. Ідентифікація чистої культури

4.4. ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ

1. Вставте пропущене слово в визначення:

Ріст бактерій на штучних рідких та щільних живильних середовищах називається _____ властивостями.

А. Біологічними

Б. Фізіологічними

В. Культуральними

Г. Протеолітичними

2. По наявності яких продуктів у пробірці визначають ступінь протеолізу білка живильного середовища?

А. Нітрат Б. Кислота. В. Метан Г. Люголь Д. Аміак.

3. На якому живильному середовищі визначають редукційні властивості?

А. Молоко з синькою

Б. ЖС Гісса

В. МПЖ

Г. Жовтково-сольовий агар

4. На якому живильному середовищі визначають протеолітичні властивості?

А. Молоко з синькою

Б. ЖС Гісса

В. МПЖ

Г. Жовтково-сольовий агар

5. Редукційні властивості – це здатність бактерій:

А. Руйнувати еритроцити

Б. Гідролізувати цукри

В. Гідролізувати білки

Г. Знебарвлювати органічні

барвники

6. Вставте пропущене слово в визначення: Дихання – це окисно-

відновлювальний процес в результаті якого утворюється _____

А. кисень

Б. водень

В. енергія

Г. аміак

7. Розташуйте ознаки росту мікроорганізмів на щільному живильному середовищі:

А. S і R форми

Б. форма колонії

В. колір

Г. осад

8. Розташуйте ознаки росту мікроорганізмів на рідкому живильному середовищі:

А. плівка

Б. форма колонії

В. колір

Г. осад

9. Живильне середовище для вибагливих бактерій називається:

А. МПБ

Б. Елективне

В. МПЖ

Г.

Селективне

10. До універсальних поживних середовищ належить::

А. МПА

Б. Ендо

В. ЖСА

Г. агар Цейслера

ТЕМА 5. ГЕНЕТИКА І СЕЛЕКЦІЯ МІКРООРГАНІЗМІВ

5.1. ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА

5.1.1. Генетика бактерій

Генетичний апарат, мутації, генетична карта.

Генетика – наука про спадковість та мінливість організмів – одна з найважливіших біологічних наук. На основі застосування законів генетики виводять нові сорти рослин і породи тварин з вищою продуктивністю. Велике значення має і генетика мікробів.

Основні закони сучасної молекулярної генетики вивчають на мікробних об'єктах (наприклад, кишковій паличці і бактеріофагах), що пояснюється їх більшою доступністю для застосування електронної мікроскопії і рентгеноструктурного аналізу, коротким часом зміни поколінь, наявністю лише однієї хромосоми, в якій порівняно легко виникають індуковані мутації і рекомбінації.

Велике практичне значення має вивчення мінливості мікробів у використанні нових штамів і варіантів, які активно продукують антибіотики, вітаміни, амінокислоти, органічні кислоти й інші цінні продукти. Із штамів хвороботворних мікробів, які значно або зовсім втратили свою силу хвороботворності, виготовляють вакцини – препарати для профілактики інфекційних хвороб людини, сільськогосподарських тварин і птиці. Дуже небезпечним є те, що в природі виникають варіанти мікробів з більшою силою хвороботворності і резистентні щодо лікарських препаратів.

Мінливість морфологічних, фізіологічних і біологічних властивостей у бактерій

Питання про мінливість морфологічних, фізіологічних і біологічних властивостей у бактерій у другій половині XIX століття викликало наукову дискусію між плеоморфістами і мономорфістами.

Засновник теорії плеоморфізму К. Негелі вважав, що бактерії легко й постійно змінюють свою форму (коки набувають форми паличок, спірил, ниток), сапрофіти можуть ставати паразитами і, навпаки, види бактерій непостійні і переходять один у другий. На думку Більрота, окремих видів бактерій взагалі не існує і бактерії одного виду, залежно від зовнішніх умов, можуть викликати гниття, різні бродіння або інфекційні хвороби.

Опоненти плеоморфістів – основоположники теорії мономорфізму Ф. Кон і Р. Кох, навпаки, визнавали абсолютну постійність бактерійних видів. На їх думку, деякі зміни морфологічних ознак мікробів мають тимчасовий характер. Боротьба між плеоморфістами і мономорфістами мала позитивне значення; оскільки стимулювала дослідження мікробів різних видів у чистих культурах. У цій боротьбі перемогли мономорфісти, особливо завдяки удосконаленню культивування мікробів на твердих живильних середовищах (Кох) та ізоляції чистих культур.

Однак з часом мікробіологи спостерігали явища мінливості мікробів, які неможливо було пояснити з позиції мономорфізму. Так, було показано, що бактерії одного виду можуть набувати форми сферичних і колбоподібних утворень, ниток тощо. Наприклад, оцтовокислу бактерії при температурі 41°C утворюють довгі набухнелі нитки. При старінні культур з'являються нові клітини бактерій різноманітної форми. Ці морфологічні зміни М.Ф. Гамалея назвав *гетероморфізмом*.

П. Де Крюї, Дж. Аркрайт (1921 р.) встановили явище розщеплення культур, або культуральної дисоціації (лат. *dissociation* – розподіл) при їх вирощуванні на твердих живильних середовищах. Як правило, бактерії одного виду на твердому середовищі утворюють колонії двох типів: гладенькі, або S-форми; шорсткі, або R-форми. При цьому S- і R- форми різняться між собою і за іншими властивостями – морфологічними, біохімічними, вірулентними.

Між S- і R- формами колоній у деяких бактерій утворюються перехідні M-форма – мукоїдна, або слизова, та G-форма – дрібна гонідіальна. Більшість хвороботворних бактерій, виділених з організму в гострий період хвороби, мають S-форму, а збільшення при дисоціації кількості R форм супроводжується зниженням їх вірулентності.

Дуже часто у бактерій змінюються біохімічні властивості: втрачається здатність гідролізувати той чи інший вуглевод або, навпаки, з'являються нові адаптивні ферменти, втрачається здатність синтезувати ті чи інші амінокислоти та вітаміни. Культури, дефектні щодо синтезу окремих амінокислот і вітамінів, називають *ауксотрофами* на відміну від вихідних культур – *прототрофів*. Так, кишкова паличка, яка може рости в мінімальному за поживністю середовищі без амінокислот і вітамінів, після дії на неї рентгенівськими променями

потребує для свого росту наявності в середовищі гідролізату казеїну та екстракту з дріжджів як джерел амінокислот і вітамінів.

Особливе значення в медичній та ветеринарній мікробіології мають здатність хвороботворних мікробів змінювати свою вірулентність, що використовується для отримання вакцин.

Велике значення у лікуванні інфекційних хвороб людини та тварин із застосуванням фагів, сульфаніламідних препаратів, антибіотиків має поява у мікробів – збудників хвороб лікарської стійкості, в зв'язку з чим ці засоби лікування стають неефективними. Так, часто відбувається зараження людей, особливо дітей, стафілококами, резистентними проти антибіотиків та інших лікарських препаратів, що супроводжується високою смертністю хворих. В основі появи фаго- і лікарської стійкості у бактерій лежать генетичні процеси.

В історії розробки теорії молекулярної генетики велику роль відіграли відкриття у мікробіології, що стосуються перетворення різних варіантів бактерій. У 1928 р. Грифітс у досліджах *in vivo* виявив можливість перетворення пневмокока II типу (нехвороботворного, безкапсульного) у пневмокок III типу (хвороботворний, капсульний). Якщо миші ввести культуру пневмокока III типу, вона гине від інфекції, а після введення пневмокока II типу миша залишається живою. Якщо ж миші ввести одночасно вбиту нагріванням культуру III типу та живу культуру II типу, вона гине і з її трупа можна виділити живу хвороботворну культуру пневмокока III типу. Це явище Грифітс пояснити не зміг. Однак було зрозуміло, що не хвороботворний пневмокок II типу засвоїв хвороботворні властивості.

У 1931 р. Даусон і Сіа відтворили явище перетворення нехвороботворного пневмокока у хвороботворний *in vitro*; зменшуючи в пробірці культуру вбитих нагріванням хвороботворних пневмококів і живу культуру нехвороботворного пневмокока. Цей феномен назвали *трансформацією*. Залишилось нез'ясованим, яка біологічно активна речовина убитої культури хвороботворного пневмокока є носієм або фактором передачі властивості утворення капсули й хвороботворності.

У 1944 р. Евері, Мак Леод і Мак Карті, діючи на вбиту культуру пневмокока різними ферментами, встановили, що лиш під впливом дезоксирибонуклеази властивість передачі вірулентності зникає, тобто носієм спадковості у пневмококів є ДНК. Це стало історичним відкриттям, на основі якого в подальшому була побудована сучасна молекулярна теорія генетики.

Нуклеїнові кислоти стали відомі ще у 1869 р., а їх хімічний склад – на початку XX століття. Методом рентгеноструктурного аналізу американська дослідниця Франклін встановила, що ДНК утворена двома спіральними нитками, закрученими навколо загальної осі в протилежних напрямках. Англійські вчені мікробіолог Уотсон та фізик Крік (1953) остаточно розшифрували модель будови ДНК. ДНК бактерій, що містить всю генетичну інформацію, локалізована в нуклеоїді, а також у плазмідах. Останні регулюють лише деякі властивості.

Форми мінливості мікробів

Відомі два типи мінливості мікробів: фенотипова, що не успадковується,

і генотипова, яка успадковується.

Фенотипова мінливість, або модифікація – це тимчасова зміна властивостей культури мікроба, що виникає під впливом зовнішніх факторів, якщо останні не відповідають звичайним умовам існування. У даному разі генотип мікроба не змінюється і нова властивість не передається за спадковістю. Модифікація супроводжується втратою або набуттям мікробною культурою деяких ферментів. Після створення для мікробів з ознаками модифікації оптимальних умов існування вони повертаються до вихідної форми, тобто у них відновлюються ознаки та властивості, характерні для даного виду.

При введенні у живильне середовище хлориду кальцію клітини кишкової палички стають коротшими, а при додаванні солей літію вони стають сферичними, утворюють нитки з колбоподібними потовщеннями. Утворення пігментів фотобактеріями спостерігається при доступі кисню і світла, а в темноті і без атмосферного кисню культура стає ахромогенною. При наявності у живильному середовищі незначної кількості пеніциліну чи лізоциму з'являються L-форми бактерій, позбавлені клітинної стінки.

Всі ці модифікаційні зміни зникають при подальшому вирощуванні даних культур у нормальних умовах, тобто вони не залежать від генотипу.

Внаслідок тривалої дії на мікробну культуру незвичайного чинника модифікації можуть ставати стабільнішими. Це явище називають *адаптацією* (лат. *adaptatio* – пристосування). Так, при додаванні до живильного середовища пеніциліну або стрептоміцину пеніциліно-незалежні і стрептоміцинонезалежні штами бактерій стають залежними, тобто потребують наявності цих антибіотиків. При тривалому вирощуванні хвороботворних бактерій у штучних живильних середовищах вони можуть більш стабільно втрачати хвороботворні властивості. В такий спосіб Л. Пастером були одержані вакцини проти сибірки. Л. Пастер вирощував культуру збудника сибірки при температурі 42,5 °С, коли спори не утворювалися, а вегетативні клітини розмножувалися і поступово втрачали хвороботворність. Потім при зниженні температури до оптимальної (37 °С) бацили сибірки утворили спори, в яких закріпилися знижені хвороботворні властивості.

Генотипова мінливість мікробів проявляється у двох формах – *мутацій* та генетичних *рекомбінацій*.

Мутації – це стійкі спадкові зміни властивостей мікробів, викликані змінами в структурі ДНК. Вони можуть бути нуклеоїдними, коли змінюється структура хромосоми, і цитоплазматичними, якщо змінюється структура плазмід.

Нові варіанти мікробів, що утворюються внаслідок мутацій, називають мутантами. Мутанти спадково зберігають змінені морфологічні, культуральні, біохімічні та біологічні властивості, оскільки у них змінюється генотип.

Одиницею мутації є мутон – ділянка ДНК, утворена однією парою нуклеотидів. Мутації можуть утворюватися внаслідок:

- делеції (випадання із ланцюга ДНК окремих мутонів);

- дуплікації (повторення мутонів);
- інверсії (обернення мутонів на 180°).

Якщо зміни відбуваються лише в одній парі нуклеотидів, такі мутації називають крапковими, якщо ж зміни охоплюють великі ділянки ДНК – це хромосомні мутації. Мікробні мутації можуть бути індукованими або спонтанними.

Індуковані (лат. *inductio* – збудження) *мутації* виникають внаслідок дії на мікробну популяцію певних фізичних та хімічних агентів, які називають мутагенними. До фізичних мутагенних факторів належать УФ-, рентгенові та гамма-промені, до хімічних – отруйні речовини – іприт, колхіцин, азотисті сполуки, що вступають у хімічний зв'язок з ДНК і в такий спосіб змінюють структуру останньої. Мутагенні фактори використовують для одержання мутантів з новими, корисними властивостями (вакцин, більш активних продуцентів органічних кислот, незамінних амінокислот, вітамінів, антибіотиків тощо). Так, із застосуванням опромінювання збудників хвороб певними дозами УФ-променів виготовлені вакцини проти лістеріозу (АУФ-вакцина, тобто атенуйована ультрафіолетом, бруцельозу).

Спонтанні (лат. *spontaneus* – мимовільний) мутації можуть виникати під впливом нагромадження у живильному середовищі продуктів метаболізму мікробів, без втручання експериментатора. В природних умовах спонтанні мутації, можливо, виникають у процесі подвоєння хромосоми при поділі клітини, коли на кожному ланцюжку ДНК, як на шаблоні, синтезується відповідний другий ланцюжок. Цей процес відбувається дуже швидко й тому ферменти, що беруть участь у синтезі нового ланцюжка ДНК, можуть допускати «помилки», внаслідок чого в дочірніх молекулах ДНК виникають структурні зміни і дочірні клітини стають мутантами з новими властивостями, відмінними від властивостей материнської клітини. Спонтанні мутації є основним фактором еволюції мікробів.

Для виявлення мутантів у мікробних популяціях застосовують різні методи, з яких найбільш демонстративним є метод відбитків, або реплік, запропонований подружжям Ледербергів. На поверхні дерев'яної печатки, діаметром, трохи меншої від діаметра бактеріологічної чашки, закріплюють ворсисту тканину. Якщо ворсистую тканиною злегка доторкнутися до колоній, які ростуть на агаровій пластинці в бактеріологічній чашці, а потім цією ж тканиною – до поверхні стерильної агарової пластинки, то таким способом можна пересіяти всі колонії. Такий пересів можна провести на агарові пластинки по чергово у ряд чашок.

Культуру бактерій у чашці, з якої роблять пересіви називають матричною (лат. *matrix* – матка), а культуру, що виростає на засіяній пластинці, – реплікою (фр. *reptique* – відповідь). Місце розміщення колоній у репліках при такому пересіві точно відповідає місцю їх в матриці. Культуру прототрофа здатного рости на неповноцінному середовищі за рахунок аутотрофного синтезу, дезамінних амінокислот, наприклад триптофану, висівають на повноцінне середовище (яке містить триптофан) у чашці з таким розрахунком, щоб виростало близько 100 колоній. З цієї матричної чашки роблять репліки на

неповноцінне середовище, яке не містить триптофану (перша репліка), і на повноцінне середовище (друга репліка). При цьому точно фіксують місце розміщення усіх колоній. Колонії, що вирости на повноцінному середовищі, але не вирости на неповноцінному, ізолюють (пересівають) бактеріологічною петлею на стерильне повноцінне середовище. Це й буде мутант, ауксотрофний щодо триптофану, тобто неспроможний синтезувати цю амінокислоту

Використовуючи метод реплік, можна виділити, антибіотико- та фагорезистентні мутанти, не піддаючи їх селективній дії. Такий метод виділення резистентних культур названий методом непрямого добору.

Генетичні рекомбінації – це обмін генетичним матеріалом (ділянками ДНК) між клітинами бактерій різних варіантів в межах одного виду. При цьому в хромосому або плазміді клітини реципієнта (лат. *recipiens* – той, що приймає) вбудовують фрагменти ДНК клітини донора, в результаті чого утворюються рекомбінанти, що мають властивості обох клітин. Рекомбінанти головним чином зберігають генотип клітини реципієнта, але й набувають деяких властивостей клітини донора. Рекомбінації виникають внаслідок трансформації, трансдукції та кон'югації.

Трансформації, про які уже йшла мова, – це перенесення фрагмента ДНК з хромосоми донора в хромосому реципієнта. Трансформуюча активність ДНК донора дуже висока. В процесі трансформації у бактерій можна відтворити хвороботворність, резистентність щодо антибіотика або, навпаки, резистентний штам перетворити на чутливий.

Трансдукція у бактерій встановлена у 1952 р. Ціндером і Ледербергом, які показали, що генетичний матеріал можна переносити з клітини донора до клітини реципієнта за допомогою помірної фага. Автори вирощували паратифозні бактерії в U-подібній трубці, розділеній в основі скляним фільтром, що не пропускає бактерії, але пропускає фаг. В одному коліні трубки вирощували триптофанезалежний штам бактерій, в другому – триптофанезалежний. Через деякий час було встановлено, що триптофанезалежний штам теж став триптофанезалежним. Здатність синтезувати триптофан була перенесена за допомогою помірної фага, що приєднав до себе контролюючий синтез триптофану фрагмент ДНК триптофанезалежного штаму, пройшов через скляний фільтр, прижився у клітині триптофанезалежного штаму і передав останньому цю властивість.

Трансдукція за своїм механізмом подібна до трансформації, тобто є перенесення репліконів ДНК донора в ДНК реципієнта. Різниця полягає у тому, що трансформацію можна загальмувати і навіть затримати дією дезоксирибонуклеази, а на трансдукцію цей фермент не впливає. Мабуть, генетичний матеріал, що переноситься фагом, захищений від дії ферменту оболонкою фага.

Кон'югація бактерій – це перенесення генетичного матеріалу з клітини донора в клітину реципієнта при їх безпосередньому контакті. Це явище встановлене у 1946 р. Ледербергом і Тейтумом при спільному вирощуванні прото- та ауксотрофного штамів кишкової палички, коли останній теж став прототрофним. Процес кон'югації здійснюється через спеціальні ворсинки –

трубочки (секс-пілі) з діаметром каналу близько 25 Å, що дає змогу проходити через них фрагментам ДНК донора в клітину реципієнта. В процесі кон'югації переноситься генетичний матеріал, що знаходиться в цитоплазматичній ДНК, у кон'югативних плазмідах.

Найбільше вивчене перенесення генетичного матеріалу способом кон'югації F-плазмід, або фактора плодючості (англ. *fertility* – плодючий). У бактерійній популяції є клітини, що швидко діляться (вони мають F-фактор і позначаються як P⁺-клітини) та клітини, що діляться повільно (у них відсутній F-фактор, тому їх позначають F⁻-клітини). Після перенесення F-плазмиди P⁺-клітини (донора) в F⁻-клітину (реципієнта) остання теж стає P⁺-клітиною, здатною до швидкого поділу й передачі F-фактора іншим клітинам-реципієнтам.

Крім F-фактора знайдений фактор Hfr (англ. High frequency recombination), що міститься у хромосомі. Хромосоми у клітин з F-плазмідами мають кільцеву структуру, а клітин з Hfr-фактором – лінійну. Клітини з F- і Hfr-факторами мають також гени перенесення, що контролюють утворення секс-пілі.

Надзвичайно небезпечним є поширення способом кон'югації фактора резистентності щодо антибіотиків та інших лікарських препаратів або R-фактора (англ. *resistance* – стійкість). R-фактор може бути зв'язаним з R-плазмідами або з хромосомою і виникає внаслідок мутацій.

Японські дослідники Ватанабе і Фукасава виділили штами дизентерійних бактерій, які були стійкими проти дії стрептоміцину, хлороміцетину, тетрацикліну й сульфідину, тобто лікарських речовин різного хімічного складу та механізму антимікробної дії (мали множинну резистентність). Автори встановили, що множинна резистентність передавалася і поширювалися серед клітин бактерійної популяції за допомогою плазмід у процесі кон'югації як у дослідах *in vitro*, так і в організмі людини й тварин. Множинна резистентність може поширюватися у популяції бактерій також шляхом трансдукції. Виникнення множинної резистентності бактерій щодо лікарських препаратів внаслідок мутацій і можливість її поширення способами – кон'югації й трансдукції дають змогу одержувати резистентні культури як могутній засіб бактеріологічної зброї.

Досягнення генетики останнього часу відкрили перспективу створення генів штучним шляхом *in vitro*. Синтезовані гени гемоглобіну, альбуміну, інсуліну та інші, які можна імплантувати у відповідні клітини організму. Ці методи названо генною інженерією. Вони найбільш детально вивчені й реалізовані за допомогою плазмід кишкової палички. Спочатку клітини кишкової палички під дією спеціальних ферментів звільняються від оболонки. Потім ізолюють ДНК плазмід, які за допомогою ферменту рестриктази розщеплюються, з утворенням липких кінців. З'єднують ці плазмиди з ДНК тварин і, додаючи фермент полінуклеотидлігазу, утворюють нові гібридні плазмиди кишкової палички, що містять гени тварини. Ці плазмиди методом трансформації імплантують у клітини кишкової палички, які набувають нових властивостей, детермінованих у генах тварин. Культура кишкової палички, що

має такі гібридні плазмиди, може синтезувати цінні для тварин і людини речовини, наприклад інтерферон, гормони. Методом генної інженерії можна створювати клітини-гібридами, здатні синтезувати антитіла проти інфекційних хвороб людини й тварин.

5.2. ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ

У наш час загальноновизнаним є твердження, що кожний структурний ген кодує певний поліпептидний ланцюг. В бактеріальній хромосомі всі гени розташовані в лінійній послідовності в певних ділянках ДНК, що називаються локусами. Відсутні інтрони.

Реплікація ДНК

Яким чином зберігається спадкова інформація у процесі росту та розмноження клітин? Перед поділом клітин відбувається ідентична редуплікація, або реплікація генів за напівконсервативним механізмом – батьківська подвійна спіраль розкручується, і на кожному полінуклеотидному ланцюгу утворюється новий комплементарний ланцюг. Отже, нова подвійна спіраль є "гібридом" старого та нового синтезованого ланцюга.

Транскрипція ДНК

Яким чином інформація, що міститься в генах перетворюється на амінокислотну послідовність білка? ДНК як носій спадкової інформації не є матрицею для синтезу поліпептидів. Біосинтез білків відбувається на рибосомах, які безпосередньо з ДНК не стикаються. Передавання записаної в ДНК інформації до місць синтезу білка здійснюють матричні (інформаційні) РНК. Ці РНК є одноланцюговими, синтезується на одному з ланцюгів ДНК, причому механізм цього процесу є схожим на механізм реплікації ДНК. Таким чином, під час синтезу мРНК просто копіюється нуклеотидна послідовність ДНК. Цей процес називається транскрипцією.

Генетичний код

Кожний ген представлений певною ділянкою молекули ДНК. Специфічна інформація, яка міститься в гені, визначається послідовністю азотистих основ у ланцюгу ДНК. "Алфавіт", за допомогою якого записана ця інформація ДНК, включає чотири "букви" – основи: А – аденін, Г – гуанін, Т – тимін і Ц – цитозин. У мРНК тимін замінений на урацил – У. Для переведення нуклеотидної послідовності в амінокислотну служить специфічний код. Кожна амінокислота визначається групою з трьох сусідніх нуклеотидів – триплетом (кодоном). Чому саме три нуклеотиди кодують одну амінокислоту? У ДНК є чотири види основ, білки складаються з 20 амінокислот. Трибуквеним кодом ($4^3 = 64$) можна закодувати всі 20 амінокислот, та ще й з надлишком. Генетичний код виявився виродженим: один і той самий амінокислотний залишок міг кодуватися різними кодонами. Причому код вироджений нерівномірно: аргінін, наприклад, кодується шістьма кодонами, а метіонін – лише одним.

Деяким кодонам притаманні певні специфічні функції – вони означають "початок" або "кінець" поліпептидного ланцюга. Генетичний код виявився

універсальним для всієї живої природи: бактерія, тигр і гвоздика використовують однакові кодони для певних амінокислотних залишків.

Трансляція мРНК: синтез білка

Амінокислоти з'єднуються в поліпептидний ланцюг за порядком, який визначається триплетами мРНК. У цьому процесі беруть участь мРНК, тРНК, рибосоми, ряд ферментів, АТФ.

У молекулі тРНК є ділянка, комплементарна кодону мРНК (анти-кодон). Амінокислоти з'єднуються на рибосомах. Рибосома переміщується вздовж мРНК, починаючи з 5'-кінця, і з кожним її переміщенням на один триплет наступна амінокислота встановлюється транспортною РНК у потрібне положення і приєднується своєю аміногрупою до карбоксильної групи попередньої амінокислоти (утворюється поліпептидний зв'язок).

На кінці мРНК міститься кодон, від якого залежить відділення сформованого поліпептидного ланцюга від рибосоми (УАА, УАГ, УГА).

Передавання інформації від ДНК через РНК на білок називають "центральною догмою" молекулярної біології. Так відбувається перенесення інформації у всіх організмів, у яких генетичним матеріалом служить ДНК (еукаріоти, прокаріоти, ДНК-віруси).

Серед РНК-вірусів є такі, у яких РНК реплікується безпосередньо на матриці РНК. Проте у деяких РНК-онковірусів спочатку відбувається синтез ДНК, тобто РНК є матрицею для синтезу ДНК. Інформація, що міститься у вірусній РНК, передається на ДНК зворотною транскрипцією (за участю ферменту зворотної транскриптази). У прокаріотів зворотна транскрипція не виявлена.

Питання для самоконтролю:

1. Що стверджували плеоморфісти і мономорфісти у своїх теоріях?
2. Що таке «культуральна дисоціація»?
3. Що таке модифікація мікроорганізмів?
4. Які є генотипові мінливості?
5. Що таке мутації?
6. Що таке рекомбінації?
7. Що таке індуковані мутації?
8. Що таке спонтанні мутації?
9. Чим представлений геном у бактерій?
10. Які особливості генома бактерій?
11. З яких частин складається бактеріальний ген?
12. Що таке цитрон?
13. Що таке оперон?
14. Скільки молекул ДНК у бактерій?
15. Який розмір молекули ДНК у бактерій?
16. Чому бактеріальна хромосома сильно спіралізована?
17. Що таке плазмід?
18. Яка роль плазмід у бактерій?
19. Які види мінливості є у бактерій?

20. Що таке модифікація?
21. Що таке адаптація?
22. Види мутацій у бактерій.
23. Назвіть одиницю мутації у бактерій.
24. Що таке реплікація?
25. Що таке кон'югація у бактерій?
26. Що таке трансдукція у бактерій?
27. Що таке генна інженерія?
28. Що таке генетична карта у бактерій?
29. Який геном у вірусів?
30. Який геном у еукаріотів?
31. Наведіть приклади селекції корисних форм мікроорганізмів.

5.3. ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ

1. Позахромосомним генетичним матеріалом являються:

А. транспозони; Б. мутони; В. геноми; Г. іони;

2. В процесі дисоціації разом із зміною морфології колонії змінюються:

А. біохімічні властивості;
Б. патогенність;
В. антигенна будова;
Г. усе разом.

3. Летальні мутації характеризуються:

А. повною втратою синтезувати ферменти бактеріальної клітини;
Б зміною генома;
В. зміною фенотипу;
Г. втратою джгутиків;

4. Чому прокаріоти (бактерії) є найбільш частою моделлю для вирішення проблем молекулярної генетики?

А. висока швидкість розмноження;
Б. гаплоїдність;
В. простота дослідження;
Г. усе разом.

5. Який тип мінливості спостерігається при мутаціях бактерій?

А. генотиповий;
Б. рекомбінаційний;
В. модифікуючий;
Г. популяційний

6. Вкажіть структуру бактеріальної клітини, яка контролює вірулентні властивості багатьох видів:

- А. плазмід патогенності;
- Б. мітохондрії;
- В. мезосоми;
- Г. джгутики.

7. Плазмід вірулентності можуть кодувати:

- А. синтез ентеротоксину;
- Б. утворення адгезинів;
- В. інвазивність;
- Г. усе вказане.

8. В ході трансдукції ДНК переноситься із однієї клітини до іншої з допомогою бактеріофагів. Є три типи трансдукції:

- А. неспецифічна, специфічна, абортівна;
- Б. неспецифічна, інтегральна, абортівна;
- В. специфічна, абортівна, вірулентна;
- Г. вірулентна, неспецифічна, специфічна;

9. Загально відомий дослід Гріффіта щодо трансформації мікроорганізмів. З якими мікроорганізмами проведено дослідження:

- А. *E. coli* Б *S. pneumoniae* В. *S. typhi* Г. *S. saprophyticus*

10. Вкажіть найбільш частий механізм переносу ДНК від антибіотикорезистентних бактерій до близьких за структурою мікроорганізмів.

- А. кон'югація; Б. дисоціація; В. рекомбінація; Г. репродукція;

ТЕМА 6. РОЛЬ МІКРООРГАНІЗМІВ У ПЕРЕТВОРЕННІ РЕЧОВИН У ПРИРОДІ

6.1. ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА

6.1.1. Перетворення мікроорганізмами сполук азоту. Розкладання сечовини, сечової та гіпюрової кислот

Азот – важливий біогенний елемент, який входить до складу білкової молекули. Запаси азоту в атмосфері дуже великі. Стовп повітря над 1 га ґрунту містить до 80 тис. тон азоту. Але ні рослинам, ні тваринам він не доступний: рослини здатні використовувати для свого живлення лише азот мінеральних сполук, а тварини споживають азот у вигляді готових органічних сполук. Лише специфічна група мікроорганізмів здатна фіксувати атмосферний азот і будувати з нього різноманітні азотвмістимі сполуки своєї клітини.

Деяку частину атмосферного азоту зв'язують вільноживучі мікроорганізми, або ті, що знаходяться в симбіозі з рослинами. Цей процес збагачує азотом і ґрунт і рослини.

Біологічна фіксація азоту здійснюється двома групами мікроорганізмів:

1) вільно існуючі азотофіксатори – *Azotobacter chroococcum*, *Clostridium pasteurianum*, *Pseudomonas fluorescens*.

Azotobacter – суворий аероб, великі палички 4–6 мкм, рухливі, грампозитивні. *Azotobacter* на протязі року на 1 га площі фіксують 20–50 кг азоту повітря.

Clostridium pasteurianum – поліморфні палички 1,5–8 мкм довжиною, грампозитивні, рухливі, анаероби, спори утворюють. Рисові поля збагачуються азотом завдяки *Clostridium pasteurianum*.

Pseudomonas fluorescens – аероб, рухливий, грамнегативний, 2–5 мкм. Широко розповсюджений на півночі.

2) бульбашкові мікроорганізми роду *Rizobium*. Палички 1,2–3 мкм, грамнегативні, рухливі. При достатній аерації ці бактерії здатні за рік на 1 га фіксувати до 200 кг атмосферного азоту.

Органічні азотовмісні сполуки в тканинах рослин і тварин, потрапляючи в ґрунт, піддаються мінералізації і перетворюються на амоній і його сполуки. Частина рослинних залишків трансформується в темнозabarвлену, що містить азот речовину - гумус.

Амоніфікація білків (мінералізація азоту).

Значна частина білків потрапляє в ґрунт із залишками відмерлих рослин, тварин і мікроорганізмів. При розкладанні білків мікроорганізмами азот вивільнюється у вигляді аміаку. Цей процес називають амоніфікацією, або мінералізацією азоту.

Білки можуть розкладатися і анаеробних бактеріями аеробів, актиноміцетами, грибами. Особливо активні в цьому відношенні представники сімейства : *Pseudomonadaceae* (*Pseudomonas fluorescens*, *Ps. aeruginosa*), *Bacillaceae* (*B. mycoides*, *B. cereus*, *b. subtilis*), *Clostridium sporogenes*, *Cl. Putrificus*, *Enterob.* (*Prqteus vulgares*).

Молекули білків і більшості пептидів розщеплюються ферментами цих бактерій зовні кліток мікроорганізмів, оскільки білки не можуть проходити через їх цитоплазматичну мембрану. Протеолітичні ферменти (протеази), що виділяються клітинами мікроорганізмів в зовнішнє середовище, здійснюють гідроліз ряду пептидних зв'язків в молекулах білків. Частинок білкової молекули (поліпептиди і олігопептиди), що утворюються при цьому, можуть використовуватися клітинами мікробів, в яких вони руйнуються внутрішньоклітинними протеолітичними ферментами, - пептидазами до вільних амінокислот. Ці амінокислоти йдуть на синтез білків клітини бактерійної або піддаються подальшому розщеплюванню.

Шляхи внутріклітинного або позаклітинного розщеплювання амінокислот різні.

Амінокислоти мінералізуються з різною швидкістю. Деякі з них (треонін, метіонін) більш стійкі, інші, навпаки, досить легко розкладаються (аргінін,

триптофан).

Після дезамінування вуглецевий залишок піддається дії мікробів в аеробних або в анаеробних умовах з утворенням CO_2 і різних органічних сполук.

При аеробному розпаді білка основні кінцеві продукти цього процесу: CO_2 , аміак, сульфати і вода.

В анаеробних умовах при розпаді білка утворюються аміак, аміни, CO_2 , органічні кислоти (жирні і ароматичні - бензойна), меркаптани, а також індол, скатол і сірководень, що мають неприємний запах. При анаеробному руйнуванні білків можуть утворитися токсичні сполуки, зокрема діаміни, до числа яких відноситься кадаверин.

При руйнуванні складних білків, тобто з'єднань білка з речовинами небілкової природи (ліпопротеїдами, високомолекулярними вуглеводами, нуклеїновими кислотами і тощо), спочатку розкладаються основні компоненти - білок і пов'язана з ним простетична група. Надалі ці сполуки піддаються більш глибокій трансформації.

Розщеплення нуклеїнових кислот.

Нуклеїнові кислоти входять до складу нуклеопротейдів - складних білків, що відіграють першорядну роль в життєдіяльності організмів, і зокрема у спадковості. Особливо багато нуклеопротейдів міститься в клітинних ядрах. Нуклеїнові кислоти - органічні речовини з великою молекулярною масою, що є полімерами. Рослинні і тваринні тканини містять два типи нуклеїнових кислот - РНК і ДНК. При їх гідролізі утворюються пуринові і піримідинові основи, цукор і фосфорна кислота.

При розщепленні нуклеїнових кислот довгі молекули деполімерізуються. Спочатку вони перетворюються на невеликі фрагменти і врешті-решт в окремі мононуклеотиди. Процес розщеплювання нуклеїнових кислот відбувається за участю ферментів рибонуклеази і дезоксирибонуклеази, які синтезуються деякими видами грибів, актиноміцетами і рядом бактерій.

Залежно від типу обміну речовин мікроорганізмів цукор може окислюватися киснем до CO_2 і H_2O або піддаватися бродінню з утворенням органічних кислот і спиртів.

Азотовмісні основи розкладаються до сечовини і амінокислот і врешті-решт до аміаку і органічних кислот.

Розкладання сечовини.

До азотовмісних сполук відносяться сечовина, сечова і гіппурова кислоти, які містяться в сечі людини і тварин. Сечовина може синтезуватися рослинами. Так, в шампінйонах до 13% сухої маси грибів складає сечовина. Сечовина утворюється і при гідролітичному розпаді аргініну під дією ферменту аргінази. За рік на земній кулі організмами синтезується до 30 млн. т сечовини. Це істотні ресурси азоту, оскільки сечовина містить 46% цього елемента і використовується як добриво. Сечовина під дією мікроорганізмів, що містять фермент уреазу, перетворюється на аміак і вуглекислий газ:

Багато бактерій і гриби мають уреазу і можуть використовувати сечовину як джерело азоту для синтезу білків. Звичайно бактерії, розкладаючи сечовину,

називаються уробактеріями. Ці бактерії можуть розвиватися при високій лужності середовища (рН 9 - 10), що дозволяє їм викликати розпад значних кількостей сечовини до аміаку. Із специфічних уробактерій відзначимо : *Micrococcus urea*, *Bacillus pasteurii*, *Sporosarcina*. Фізіологічне значення розпаду сечовини, мабуть, зводиться до переводу аміної форми азоту в більш легкозасвоювану аміачну

Нітрифікація.

Аміак, що утворюється в ґрунті, гної і воді при розкладанні органічних речовин, досить швидко окислюється до азотистої, а потім азотної кислоти. Цей процес одержав назву нітрифікація.

До середини ХІХ в., точніше до робіт Л Пастера явище утворення нітратів пояснювалося як хімічна реакція окислення аміаку атмосферним киснем, причому передбачалося, що ґрунт грає роль хімічного каталізатора. Л. Пастер припустив, що утворення нітратів - мікробіологічний процес. Перші експериментальні докази цього припущення були одержані Т. Шлезингом і А. Мюнцем у 1879 р. Ці дослідники пропускали стічні води через довгу колонку з піском і CaCO_3 . При фільтрації аміак поступово зникав і з'являлися нітрати. Нагрівання колонки або внесення антисептику припиняло окислення аміаку.

Проте виділити культури збудників нітрифікації не вдалося ні згаданим дослідникам, ні мікробіологам, що продовжували вивчення нітрифікації. Лише в 1890-1892 рр. З. Н. Віноградській, застосувавши особливу методику, ізолював чисті культури нітрифікаторів. З. Н. Віноградський зробив припущення, що нітрифікуючі бактерії не ростуть на звичайних живильних середовищах, які містять органічні речовини. Це було цілком правильним і пояснило невдачі його попередників. Нітрифікатори виявилися хемолітоавтотрофами, дуже чутливими до наявності в середовищі органічних сполук. Ці мікроорганізми вдалося виділити, використовуючи мінеральні живильні середовища.

З. Н. Віноградский встановив, що існують дві групи нітрифікаторів - одна група здійснює окислення аміаку до азотистої кислоти – перша фаза нітрифікації, інша окисляє азотисту кислоту до азотної – друга фаза нітрифікації

Бактерії обох груп в даний час відносять до родини *Nitrobacteriaceae*. Це одноклітинні грамнегативні бактерії. Серед нітрифікуючих бактерій є - паличкоподібні, еліпсоїдні, сферичні, звивисті і дольчасті, плеоморфні. Є рухомі і нерухомі форми. Майже у всіх нітрифікаторів є добре розвинена система внутрішньоцитоплазматичних мембран. Ці мембрани подібні мембранам фотосинтезуючих пурпурних бактерій.

Бактерії першої фази нітрифікації представлені п'ятьма родами: *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrosospira*, *Nitrosolobus*, *Nitrosovibrio*.

Другу фазу нітрифікації здійснюють представники родів *Nitrobacter*, *Nitrospira*, *Nitrococcus*.

Нітрифікуючі бактерії культивують на простих мінеральних середовищах, що містять аміак або нітрит (субстрати, що окислюються) і вуглекислоту (основне джерело вуглецю). Як джерела азоту ці організми

використовують аміак, гідроксіамін і нітрит. Нітрифікуючі бактерії розвиваються при рН 6 - 8,6, оптимум рН складає 7,5 - 8. При рН нижче 6 і вище 9,2 ці бактерії не розвиваються. Оптимальна температура розвитку нітрифікаторів - 25 - 30°C.

Імобілізація азоту.

За певних умов мінеральні форми азоту в наслідок бурхливого розвитку мікроорганізмів, що є в ґрунті, споживаються ними і переводяться в білок цитоплазми. Подібний процес, званий імобілізацією азоту, спостерігається, наприклад, при внесенні в ґрунт значної маси соломи або солом'яних добрив. В результаті імобілізації азоту використання його рослинами помітно знижується, що призводить до зменшення урожаю. Таким чином, імобілізація є процесом зворотним мінералізації.

Денітрифікація.

В ґрунті відбувається ряд процесів, в результаті яких окислені форми азоту (нітрати, нітрит) відновлюються до оксидів азоту або молекулярного азоту. Це призводить до істотних втрат з ґрунту цінних для рослин сполук. Відновлення нітратів і нітриту до газоподібних азотних сполук відбувається в результаті процесів прямої і непрямой денітрифікації. Під прямою денітрифікацією мають на увазі біологічне відновлення нітратів, а під непрямую - хімічне відновлення нітратів. Пряма, або біологічна, денітрифікація, у свою чергу, поділяється на асимільуючу і дисимільаторну денітрифікацію.

При асимільуючій денітрифікації нітрати відновлюються до аміаку, який служить джерелом азоту для побудови клітинних речовин. До вказаної денітрифікації здатні рослини і багато мікроорганізмів. В процесах дисимільаторної денітрифікації нітрати використовуються як окислювач органічних речовин замість молекулярного кисню, що забезпечує мікроорганізми необхідною енергією. Ці енергетичні процеси називаються нітратним диханням.

Здатністю дисимільаторної денітрифікації володіють тільки специфічні факультативно-анаеробні бактерії. В ґрунті переважають роди денітрифікаторів *Pseudomonas* та *Paracoccus*.

Мікробіологічна денітрифікація в ґрунті викликає втрату мінерального азоту. Це достатньо широко поширений в природі процес, в результаті якого в атмосферу щорічно поступає з ґрунтів і водоймищ 270 - 330 млн. т азоту. Особливо істотну роль може відігравати цей процес в перезволожених ґрунтах, а також у випадках, коли мінеральні азотні добрива вносять у формі нітратів спільно з гноєм або іншими органічними добривами.

Кругообіг вуглецю

Вуглець (CO₂) входить до складу органічних сполук, які є продуктами фотосинтезу. В повітрі його міститься не більше ніж 0,03 % (за об'ємом). Така концентрація вуглекислоти в атмосфері підтримується в результаті динамічної рівноваги між фотосинтезом і мінералізацією. Весь вуглець атмосфери у разі відсутності поповнення був би повністю вичерпаний при сучасній швидкості фотосинтезу менш ніж за 20 років. Велика роль в підтримці рівноваги і

кругообігу CO_2 на нашій планеті мікроорганізмів. При мінералізації органічних речовин вони утворюють майже стільки ж вуглецю, скільки використовується рослинами в процесі фотосинтезу.

Роль мікробів в розкладанні клітковини.

До складу клітковини (целюлоза) входить більше 50 % всього органічного вуглецю біосфери. Клітковина - найпоширеніший полісахарид рослинного

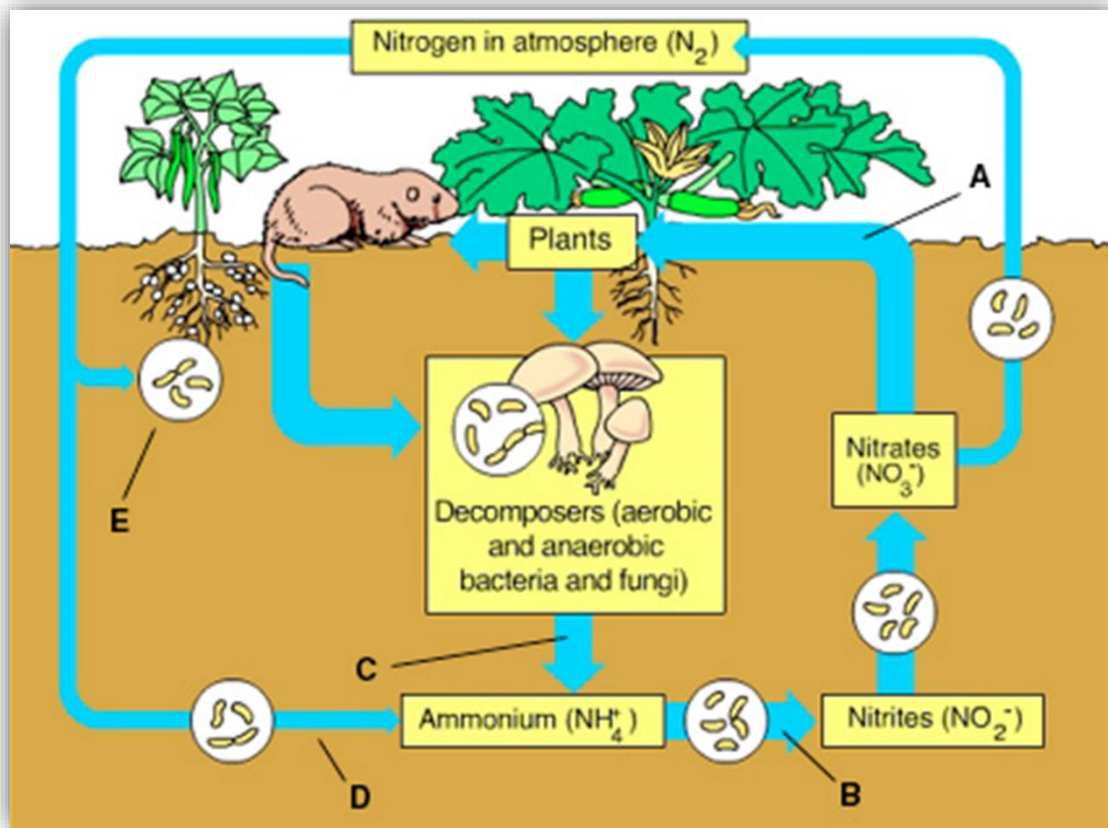


Рис.6.1. Кругообіг нітрогену

світу; вищі рослини на 15-50 % складаються з целюлози. Після загибелі рослин вона піддається розкладанню, внаслідок чого вивільнюється вуглець. Розкладання клітковини відбувається в аеробних та анаеробних умовах. В природі розпад клітковини відбувається повсякденно в ґрунті, водоймищах, гної, травному тракті травоядних завдяки ферментам, які виділяють різні мікроорганізми.

Аеробне розкладання (бродиння) клітковини найбільш інтенсивно відбувається під впливом трьох широко поширених в природі родів мікроорганізмів *Cytophaga*, *Cefacicula*, *Seivirio*. Крім того в аеробному розкладанні целюлози приймають участь актиноміцети та мікроскопічні гриби.

Анаеробне бродіння клітковини відбувається в два етапи. На першому етапі клітковина оцукрюється, а потім цукор розкладається залежно від типу бродіння на спирти, молочну, масляну кислоти, вуглекислоту, водень, метан і ін. Відомо, що в природі є два типи анаеробного бродіння клітковини - водневе і метанове, які здійснюються двома анаеробними бактеріями –

целюлозоруйнівниками: *Cl. omelianskii* *Cl. cellobioparum*. Обидва мікроби є великі грампозитивні палички, рухливі, утворюють спори, існують в ґрунті і гної. Водневе і метанове бродіння клітковини відбувається в передшлунках великої рогатої худоби при поїданні великої кількості зеленої маси бобів, особливо вологого, що обумовлює розвиток гострої тимпанії рубця.

Слід особливо відзначити, що в рубці жуйних тварин є специфічні облигатні целюлозоруйнівні бактерії. Вони розкладають целюлозу кормів до глюкози, яка потім зброджується з утворенням органічних кислот (оцтової, пропіонової, масляної, молочної, мурашиної, янтарної і ін.), спиртів і газів (CO_2 і H_2). Розкладання целюлози в рубці тварин здійснюють кулясті і паличкоподібні бактерії: *Ruminococcus albus*, *Ruminobacter parvum*.

Спиртове бродіння.

При спиртовому бродінні мікроорганізми перетворюють вуглеводи (цукри) з утворенням етилового спирту як основного продукту і вуглекислоти. До збудників спиртного бродіння відносяться деякі дріжджі, головним чином з родів *Saccharomyces*. По структурі накопичуваної дріжджової маси їх ділять на пілоподібні і пластівцеподібні. Пілоподібні дріжджі використовують для виробництва спирту, пластівцеподібні - у виноробстві і пивоварінні. Дріжджі краще розвиваються в кислому середовищі (рН 4-6) і витримують до 15 % спирту в розчині. Залежно від того, в яких умовах відбувається процес (аероб або анаеробний), дріжджі ділять на дріжджі верхового і низового бродіння. Дріжджі верхового бродіння (*S. cerevisiae*) знаходяться у верхніх шарах сусла, куди вони підіймаються вуглекислотою і піною, що утворюється. Бродіння йде з незначним підвищенням температури (20-28 °С). Через 5-7 днів верхове бродіння закінчується, а дріжджі за 1-2 дні до закінчення бродіння утворюють пластівці і осідають на дно бродильних ємностей. Дріжджі низового бродіння (*S. vini*) розвиваються в анаеробних умовах і при більш низькій температурі (6-12°С), тому процес протікає поволі (8-10 днів). Дріжджі також осідають на дно і утворюють осад у вигляді пластівців. Значення спиртного бродіння дуже велике. Цей процес лежить в основі виноробства, пивоваріння, виробництва спирту, хлібопечення. Дріжджі використовують і для приготування кормового білка.

Молочнокисле бродіння.

При молочнокислому бродінні відбувається розпад вуглеводів, а також багатоатомних спиртів і білків до молочної кислоти. Залежно від того, які продукти утворюються при зброджуванні глюкози - тільки молочна кислота або також інші органічні продукти і CO_2 . Молочнокислі бактерії прийнято підрозділяти на гомоферментативні і гетероферментативні. Цей розподіл відображає відмінності в шляхах катаболізму вуглеводів.

Гомоферментативне молочнокисле бродіння. Гомоферментативні молочнокислі бактерії утворюють практично тільки одну молочну кислоту, що обумовлено коковими і паличкоподібними молочнокислими бактеріями. Кокові форми включені в рід *Streptococcus* (*S. lactis*, *Str. cremoris*, *Str. termophilus*).

S. lactis (молочнокислий стрептокок) - клітини овальної форми,

розташовані у вигляді ланцюжків, нерухомі, грампозитивні. Окрім моносахаридів, зброджують лактозу і мальтозу. Оптимальна температура для розвитку 30-35 °С.

Str. cremoris (вершковий стрептокок) - клітини овальної форми, розташовані у вигляді довгих ланцюжків. Утворює летючі кислоти. Використовують при виробництві кисломолочних продуктів.

Паличкоподібні бактерії включені у рід *Lactobacillus*, які характеризуються значною різноманітністю форм - від короткої кулястої до довгої ниткоподібної. Розташовуються у вигляді поодиноких клітин, парами або ланцюжками. Бактерії цього роду розділені на дві групи. Перша представлена організмами, які добре ростуть при 45 °С, слабо розвиваються при 20°С і не ростуть при 15°С. До них відносяться види *Lactobacillus lactis*, *L. bulgaricus*, *L. acidophilus* та ін. Представники другої групи при розвитку в молоці утворюють короткі ланцюжки. Це група менш активних молочнокислих паличок. Добре розвивається при температурі 15-38°С, оптимум 30°С. До них відносяться види *L. casei*, *L. plantarum*.

Гетероферментативне молочнокисле бродіння. Його здійснюють представники родів *Leuconostoc*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*.

Бактерії роду *Leuconostoc* мають вид сферичних клітин, розташованих поодинокі, парами або короткими ланцюжками. Факультативні анаероби, нерухомі, грампозитивні, оптимум температури 20-30 °С.

Рід *Lactobacillus* звичайно зустрічається на рослинах, виявляється в хлібних заквасках. Це невеликі палички, грампозитивні, температурний максимум близько 45°С.

До роду *Bifidobacterium* віднесені бактерії, що мають прямі або розгалужені палички, нерухомі, грампозитивні, анаероби, температурний оптимум для них 36-38°С. Біфідобактерії - мешканці кишечника людини і тварин.

Антагонізм молочнокислих бактерій по відношенню до умовно-патогенних і патогенних мікробів обумовлюється дією молочної кислоти, яку вони продукують, а також утворенням антибіотиків.

Пропіоновокисле бродіння.

Пропіоновокисле бродіння здійснюється бактеріями роду *Propionobacterium*. Вони є нерухомими паличками, поліморфними, булавоподібної форми з одним заокруглюючим кінцем, іншим - конусоподібним, розташовуються поодинокі, парами, ланцюжками. Грампозитивні, спор не утворюють. Анаероби, оптимальна температура культивування 30-37°С, рН 7,0. Ці бактерії зустрічаються на рослинах, в ґрунті, в шлунково-кишковому тракті жуйних тварин. Джерелами енергії для них служать вуглеводи, органічні кислоти, спирти і інші речовини. Пропіоновокислі бактерії здатні зброджувати молочну кислоту, що утворилася в результаті бродіння, викликаного молочнокислими бактеріями.

Кінцеві продукти пропіоновокислого бродіння - пропіон і оцтова кислоти, CO₂ і вода. Пропіоновокислі бактерії використовують для отримання вітаміну В₁₂, який вони утворюють в значних кількостях.

Маслянокисле бродіння.

Маслянокисле бродіння обумовлюють деякі бактерії з роду *Clostridium*. Типовий представник *Cl. butyricum*. Це велика паличка від 2 до 10 мкм довжини, рухома, грампозитивна, утворює спори, анаероб.

Маслянокисле бродіння починається з розкладання цукрів до піровиноградної кислоти. Кінцеві продукти з піровиноградної кислоти утворюються в результаті ланцюга реакцій, що каталізуються декількома ферментними системами.

Маслянокисле бродіння іноді буває небажаним. Наприклад, при його розвитку в заквашуваних кормах білкова частина корму розкладається, масляна кислота, що утворилась, погіршує якість корму, відбувається його згіркнення. Тварини погано поїдають такий корм. Маслянокисле бродіння часто є причиною згіркнення рослинних масел і жирів тваринного походження, а також насіння сої і соняшнику.

Оцтовокисле окислення.

Оцтовокисле окислення – мікробіологічний процес, при якому етиловий спирт окислюється до оцтової кислоти під впливом оцтовокислих бактерій. Бактерійна природа цього процесу була встановлена в 1868 р. Л. Пастером.

Оцтовокислі бактерії - короткі палички, рухомі і нерухомі, грамнегативні, не утворюють спори, строгі аероби. Всі види (25) оцтових бактерій об'єднані в рід *Acetobacter*. Типовими представниками є *A. aceti*, *A. pasteurianum* ін.

Acetobacter aceti – коротка паличка, нерухома, грамнегативна, розташовані у вигляді ланцюжків. На поверхні середовища (пиво, сухі вина) утворює плівку. Оптимальна температура росту 34 °С. Фарбується йодом у жовтий колір.

A. pasteurianum формою нагадує *A. aceti*. На поверхні середовища утворює суху складчасту плівку. При з'єднанні з йодом набуває синє забарвлення.

Оцтовокислі бактерії використовують для виробництва харчового оцту з вина і спирту в промислових умовах. Оцтовокисле бродіння має важливе значення при силосуванні кормів.

6.2. ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ

1. Які бактерії обумовлюють амоніфікацію?

A. <i>Pseudomonas fluorescens</i>	Б. <i>Nitrosomonas</i>
В. <i>Bacillus subtilis</i>	Г. <i>Clostridium putrificum</i>

2. Які бактерії обумовлюють нітрифікацію?

A. <i>Pseudomonas fluorescens</i>	Б. <i>Nitrosomonas</i>
В. <i>Bacillus subtilis</i>	Г. <i>Clostridium putrificum</i>

3. Які бактерії обумовлюють денітрифікацію?

A. <i>Pseudomonas fluorescens</i>	Б. <i>Nitrosomonas</i>
В. <i>Bacillus subtilis</i>	Г. <i>Clostridium putrificum</i>

4. Розпад білків до аміаку під впливом ферментів мікроорганізмів називається:

А. Гниття	Б. Амоніфікація
В. Нітрифікація	Г. Денітрифікація

5. Живуть в умовах повної відсутності атмосферного кисню:

А. Аероби	Б. Факультативні анаероби
В. Мікроаерофіли	Г. Облігатні анаероби

6. Як називається розпад амінокислот, білків через проміжні речовини до аміаку під впливом ферментів мікроорганізмів?

А. Амоніфікація	Б. Нітрифікація	В. Денітрифікація	Г. Гниття

7. Які бактерії обумовлюють гомоферментативне молочнокисле бродіння?

А. <i>Lactobacterium bulgaricum</i>	Б. <i>Escherichia coli</i>
В. <i>Streptococcus lactis</i>	Г. <i>Saccharomyces cerevisia</i>

8. Які бактерії обумовлюють гетероферментативне молочнокисле бродіння?

А. <i>Lactobacterium bulgaricum</i>	Б. <i>Escherichia coli</i>
В. <i>Streptococcus lactis</i>	Г. <i>Saccharomyces cerevisia</i>

9. Спиртове бродіння здійснюється завдяки:

А. <i>E. coli</i>	Б. <i>Acetobacter</i>	В. <i>Saccharomyces</i>	Г. <i>Clostridium</i>

10. Маслянокисле бродіння здійснюється завдяки:

А. <i>E. coli</i>	Б. <i>Acetobacter</i>	В. <i>Saccharomyces</i>	Г. <i>Clostridium</i>

ТЕМА 7. ЕКОЛОГІЯ МІКРООРГАНІЗМІВ

7.1. ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА

7.1.1. Поширення мікробів в об'єктах зовнішнього середовища Мікрофлора ґрунту

Мікроорганізми поширені в будь-якій екологічній системі біосфери Землі. Вони знаходяться у повітрі, воді, ґрунті, на поверхні рослин і тварин, в організмі тварин і людини (особливо в кишечнику), на харчових продуктах і на всіх предметах, що оточують нас. Завдяки надзвичайно високій

пристосованості мікроорганізми можуть жити в досить сурових умовах: в снігах і льодах Арктики і Антарктиди, в пісках пустель, на глибині морів і океанів, в стратосфері на висоті декількох десятків кілометрів, в гарячих водах гейзерів, в умовах де немає кисню і світла. Особливо багато мікроорганізмів у ґрунті і воді.

В яких би умовах не існували мікроорганізми вони можуть бути як корисними так і шкідливими для людини. Основна шкода мікроорганізмів для людини, зумовлена, тим, що мікроби можуть спричинити інфекційні захворювання, викликати отруєння і псування харчових продуктів. Разом з тим мікроорганізми надзвичайно необхідні для кругообігу речовин в природі. На відміну від тварин і рослин вони здатні використовувати метан, водень, молекулярний азот та ін. речовини в процесах метаболізму. З цих речовин утворюються сполуки, які засвоюються рослинами і тваринами. Мікроорганізми ґрунту підвищують його родючість

Такі мікроорганізми, як сіркобактерії і залізобактерії, здійснюють кругообіг сірки, фосфору і заліза. У кругообігу азоту беруть участь азотфіксуючі бактерії, синьо-зелені водорості і деякі актиноміцети. Завдяки ферментативній активності мікроорганізмів поверхня Землі звільняється від екскрементів і загиблих рослин і тварин. В останні роки мікроорганізми знайшли широке використання у промисловості, народному господарстві і медицині.

Мікроорганізмам ґрунту належить надзвичайно велика роль у його формуванні. З ґрунту мікроорганізми поступають у повітря і воду. В 1 г орного шару ґрунту знаходиться до 10 мільярдів мікробів, а їх загальна біомаса в 1 га досягає 3-5 тон. Завдяки мікроорганізмам ґрунт набуває властивостей живої системи.

Наявність великої кількості мікроорганізмів у ґрунті зумовлена тим, що у ньому є всі необхідні умови для їх розвитку: поживні органічні і мінеральні речовини, волога, захист від ультрафіолетових променів та ін.

Кількість мікроорганізмів не однакова у всіх ґрунтах, їх найбільше у верхніх шарах на глибині 5-20 см та біля рослин, а саме в зоні кореневої системи. На самій поверхні ґрунту їх небагато, так як вони гинуть від дії прямого сонячного світла; чим глибше у ґрунт тим їх менше. На глибині 4-5 м мікроорганізми зустрічаються досить рідко.

Мікрофлора ґрунту в значній мірі залежить від реакції середовища, його складу і вологості, періоду року, кліматичних умов, складу органічних речовин та ін. Мікроорганізмів більше у чорноземах багатих перегноєм і значно менше у глинистих і піщаних ґрунтах (табл. 1). На кількісний склад мікроорганізмів впливає і обробка ґрунту. Так, в орному шарі ґрунту їх в 2,5 рази більше ніж у лісовому.

Мікрофлора ґрунту представлена найрізноманітнішими представниками мікроорганізмів: водоростями, грибами, бактеріями (целюлозо розкладаючими, нітрифікуючими, денітрифікуючими, азотофіксуючими, сіркобактеріями), пігментними мікроорганізмами і найпростішими.

Водорості розміщуються у верхніх шарах ґрунту, де є достатня

кількість світла і вологи. Завдяки пігментам і енергії сонця вони засвоюють вуглець із повітря, а азот і мінеральні речовини – із ґрунту. Синтезуючи органічні речовини і фіксуючи азот із повітря водорості тим самим підвищують родючість ґрунту. Загальна кількість водоростей в ґрунті досить значна; за масою вони майже не поступаються бактеріям.

Гриби в основному аероби, а тому переважно знаходяться в поверхневих шарах ґрунту, значно рідше – на глибині 50 – 80 см. В глибоких горизонтах розміщуються ті гриби, які здатні існувати в анаеробних умовах. На вид грибів, що заселяють ґрунт, впливає його склад. Наприклад, плісняві гриби в найбільшій кількості знаходяться в добре аерованих, кислих ґрунтах з великою кількістю органічних речовин, а базидіоміцети найчастіше зустрічаються в лісових ґрунтах. Найменша кількість у ґрунті дріжджових грибів.

Біомаса грибів складає 1500 кг з 1 га. Вони розщеплюють близько половини клітковини і, беручи активну участь в утворенні гумусу, відіграють важливу роль у підвищенні родючості ґрунтів.

Таблиця 7.1

Загальна кількість мікроорганізмів і спор у різних ґрунтах (за К.Д. Пяткіним і Ю.С. Кривошеїним, 1992)

Вид ґрунту	Кількість мікроорганізмів в 1 г ґрунту	Кількість спор в 1 г ґрунту
Підзол глинястий	801 млн.	4 тис.
Лісний	1,219 млрд.	12 тис.
Чорнозем	4,771 млрд.	100-180 тис.
Піщаний	2,854 млрд.	200-400 тис.
Світлозем	2,661 млрд.	700 тис.
Сипкі піски	904 млн.	60 0тис.-1,2 млн.
	896 млн.	1 – 1,5 млн.

Актиноміцети. Фізіологічно вони нагадують бактерій, а морфологічно більш подібні до грибів. Знаходяться в добре аерованих, нейтральних або лужних ґрунтах з невеликою кількістю вологи. Актиноміцети досить стійкі до відсутності вологи. Вони можуть десятками років зберігатися у висушеному ґрунті. Значення актиноміцетів полягає, перш за все, у розщепленні органічних речовин, які стають таким чином доступними для засвоєння рослинами.

Бактерії. За кількістю і різноманіттям вони переважають всі інші групи мікроорганізмів ґрунту. Постійними і найбільш поширеними видами ґрунтових бактерій є анаероби (*Bac. sporogenes*, *Bac. perfringens*, *Bac. putrificus* та ін.), аероби (*Bac. megatherium*, *Bac. subtilis*, *Bac. mycoides* та ін.), кокові форми (*Micrococcus albus*, *Micrococcus flavus*, *Micrococcus roseus*), термофільні бактерії, азотфіксуючі бактерії, нітрифікуючі, денітрифікуючі, сіркобактерії та ін.

Бактерії відіграють важливу роль у формуванні гумусу. Азотобактерії,

мікобактерії, гриби і актиноміцети виробляють вітаміни (тіамін, рибофлавін, нікотинову кислоту, вітаміни С, К, В₆, В₁₂ та ін. Чимало бактерій (бактерії-активатори) продуктами своєї життєдіяльності (фітогормонами) прискорюють ріст рослин. Поряд із ними існують бактерії-антагоністи, які пригнічують розмноження або знищують інші види мікроорганізмів, в тому числі, хвороботворні.

Кількісний і якісний склад мікрофлори ґрунтів, багатих органічними речовинами, стимулюють мінеральні добрива.

Слід пам'ятати, що ґрунт є не тільки середовищем існування мікроорганізмів, необхідних для його формування. У ньому можуть знаходитися і хвороботворні мікроорганізми, які попадають туди з трупами тварин, що загинули від інфекційних хвороб, а також з виділеннями (фекаліями і сечею) хворих людей і тварин.

Між патогенними мікроорганізмами і автохтонною (постійною) мікрофлорою існують антагоністичні взаємовідношення. Цей антагонізм зумовлений виділенням автохтонною мікрофлорою антибіотиків, які згубно впливають на патогенні і умовно-патогенні мікроорганізми. До того ж у ґрунті для них відсутні необхідні поживні речовини, а також несприятливі фізичні і хімічні умови. Таким чином, у ґрунті постійно проходять процеси самоочищення. Неспорові форми бактерій у ґрунті гинуть протягом декількох днів, до декількох місяців. Спорів форми значно витриваліші і можуть залишатися життєздатними на протязі багатьох років.

Так, збудник чуми зберігається в середньому біля 3 днів, вірус чуми свиней – 5 днів, збудник туляремії – 10 днів, холерний вібріон – 2 тижні, сальмонели черевного тифу – 2-3 тижні, бруцели – 1-3 тижні, шигели – 3-5 тижнів, мікобактерії туберкульозу – 3 місяці, спори збудника сибірської виразки і правця – на протязі багатьох років.

Проте, ряд збудників захворювань можуть перебувати в ґрунті і як постійна (аутохтонна) мікрофлора. До таких мікроорганізмів належать збудники ботулізму, мікотоксикозів і глибоких мікозів, а також гелікобактер і актиноміцети.

Випадкова (заносна) мікрофлора ґрунтів представлена збудниками таких захворювань як сибірська виразка, правець, газова гангрена, спори яких зберігаються роками.

Значна кількість патогенних мікроорганізмів може попадати у ґрунт на полях зрошування куди випускаються стічні води. Таким чином можуть потрапляти у ґрунт, а відповідно на овочі ентеровіруси, які здатні там зберігатися від одного тижня до трьох місяців.

У зв'язку із небезпекою виникнення інфекційних захворювань в передачі яких велике значення відіграє ґрунт, надзвичайно важливо проводити його санітарний контроль. Але оскільки безпосередньо визначити кількість патогенних мікроорганізмів у ґрунті важко, тому користуються визначенням санітарно-показових бактерій, якими є представники нормальної мікрофлори кишечника.

Для оцінки санітарного стану ґрунту важливим показником є загальна

кількість сапрофітів, ентеробактерій, термофільних мікроорганізмів і анаеробів. І все ж, основне значення має наявність *Escherichia coli*. При колі-титрі (кількість кишкових паличок в 1г ґрунту) 1,0 і більше ґрунт вважається чистим. Але більш точно це можна сказати при детальнішому вивченні мікрофлори ґрунту. Так, у чистому ґрунті титр *Clostridium perfringens* має дорівнювати 0,01 і вище, а кількість термофільних бактерій в 1 г ґрунту – 100-1000.

На свіже фекальне забруднення ґрунту вказує наявність у ньому *E. coli* і *Str. faecalis*, а на давнє наявність бактерій роду *Clostridium perfringens*. Таким чином ці дані дозволяють зробити висновок про давність забруднення ґрунту фекаліями. В окремих випадках, за епідеміологічними показаннями, проводять дослідження ґрунту на наявність у ньому патогенних мікроорганізмів: збудників ботулізму, сибірки, сальмонельозу, правця та ін.

Мікрофлора води.

Для багатьох мікроорганізмів вода відкритих водойм, так же як і ґрунт, є природним середовищем їх існування. Найбільше їх зустрічається у водах озер, річок, морів, і значно менше в ґрунтових водах. Наявність мікроорганізмів у воді залежить від вмісту у ній органічних і розчинених мінеральних речовин, які служать їм поживними речовинами. Саме тому у воді із високим вмістом таких речовин мікроорганізмів значно більше.

Мікроорганізми попадають у відкриті водойми із стоками нечистот і промисловими відходами, випорожненнями тварин, із ґрунту під час дощів, в результаті випадання порохів тощо. Кількісний і якісний склад мікрофлори води у річці суттєво відрізняється за її течією в залежності від того де знаходиться населений пункт. У воді річок біля населених пунктів може нараховуватись до сотень тисяч і навіть мільйонів бактерій в 1 мл води, в той час вище населеного пункту тієї ж річки їх буде декілька сотень, або тисяч.

Вода річок не тільки забруднюється, в ній одночасно із цим ідуть процеси самоочищення. Самоочищення відбувається завдяки осіданню на дно нерозчинних органічних речовин і з ними мікроорганізмів, механічному руйнуванню мікробів рухом води, розбавленням її чистими притоками тощо.

Кількість мікроорганізмів у воді залежить від багатьох чинників: випуском стічних і промислових вод, флорою і фауною, глибиною водойми, швидкістю течії, температурою, порою року, рН води, вмістом органічних речовин, солей, проникнення сонячних променів, аерації і т.п. Оскільки поживні речовини у водоймах в основному знаходяться біля берега і на дні, то більшість мікроорганізмів знаходиться саме там. Особливо багате на органічні речовини, завдяки залишкам рослин і тварин, дно, що створює там сприятливу зону розвитку мікроорганізмів.

Мікроорганізми, що населяють водойми умовно поділяють на *постійні* (автохтонні) і *випадкові* (алохтонні), які поступили ззовні, а також на *сапрофіти* (азотобактерії, нітробактерії, мікрококи та ін.) і *патогенні* (збудники лептоспірозу, сальмонельозу, холери, черевного тифу, сибірської виразки, амєбіазу, туляремії, бруцельозу та ін.).

Забруднення води мікроорганізмами оцінюють **сапробністю**. Під сапробністю розуміють сукупність живих істот у воді, яка містить тваринні і рослинні залишки. Сапробність поділяють на чотири зони.

Полісапробна зона – сильно забруднена вода з великою кількістю речовин, які розпадаються і малою кількістю кисню. Переважають мікроорганізми, що спричиняють гниття і бродіння. Внаслідок розпаду і утворення метану та сірководню з'являється неприємний запах. В 1 мл такої води знаходиться декілька мільйонів мікробів.

Мезосапробна зона – характеризується помірною забрудненістю (в 1 мл води знаходиться близько 100 тисяч мікробів). Процеси мінералізації, окислення і нітрифікації відбуваються інтенсивніше.

Мікробоценози **олігосапробної зони** незначні. Кишкова паличка у воді відсутня, а інших життєздатних бактерій десятки або сотні в 1 мл. Ця зона характерна для чистої води.

Четверта (**катаробна**) зона – розташована далеко від населених пунктів і характерна для дуже чистої води.

Мікробоценоз складається з різноманітних мікроорганізмів: бактерій, фагів, пліснявих грибів, найпростіших, водоростей. Завдяки складним взаємовідносинам між ними підтримується рівновага в гідросфері. Так, наприклад, інфузорія поглинає за одну годину декілька десятків тисяч мікробів, а водорості є антагоністами бактерій.

За походженням вода буває атмосферна (дощова і снігова), поверхнева (річкова, ставкова, озерна, морська) і підземна (грунтова, колодезна, джерельна, артезіанська).

Атмосферна вода вміщує небагато мікроорганізмів і вони попадають у неї із повітря разом з порохами. В 1 мл дощової води може нараховуватися від декількох десятків до декількох сотень мікробів. А у дощовій воді, яка випадає над чистими територіями (лісами, морями), в 1 мл їх може бути всього декілька десятків. Але після тривалого знаходження дощової води на відкритих поверхнях в ній значно збільшується кількість мікроорганізмів. У воді, зібраній з безлюдних льодовиків, мікроорганізмів практично немає.

Річкова вода може містити в собі окрім сапрофітів збудників інфекційних захворювань. Найбільшого мікробного забруднення річкова вода зазнає весною і восени, коли у ній накопичується велика кількість органічних речовин, які надходять в річки з дощовою водою.

Кількість мікроорганізмів у **воді озер**, залежить від багатьох чинників. Так, після дощів їх кількість значно зростає, а в сонячні дні зменшується; в біля береговій зоні мікроорганізмів більше, ніж в середній частині озера.

У **воді морів** можуть бути як звичайні мікроорганізми так і такі, які добре переносять підвищену концентрацію солей. В цілому у ній мікробів менше, ніж у річковій або озерній воді.

Підземні води завдяки фільтрації вміщують менше мікробів, ніж вода відкритих водойм. Практично вільна від мікроорганізмів джерельна і артезіанська вода (не більше десяти мікробів в 1 мл). Така вода є найпридатнішою до вживання. Що ж до води у колодезях, то вона значно

чистіша від води відкритих водойм, але не настільки, як артезіанська і джерельна. Її забруднення виникає внаслідок проникнення мікроорганізмів із повітря з порохами або дощем, а також через відра.

Водопровідна вода вміщує невелику кількість мікроорганізмів, що зумовлено використанням для цього артезіанської води, або річкової (озерної) очищеної відстоюванням, фільтрацією, і знешкодженою хлоруванням.

Наявність у воді, що використовується в харчовій промисловості, значної кількості навіть сапрофітних мікроорганізмів небажане, оскільки вони призводять до псування продуктів, а присутність там патогенної мікрофлори є взагалі небезпечним, так як може бути причиною різних інфекційних захворювань. Значна кількість патогенних мікроорганізмів може тривалий час виживати у воді.

Через воду можуть передаватися в основному кишкові інфекції: черевний тиф, паратифи А і Б, дизентерії, холера, вірусний гепатит (хворобу Боткіна), водяна лихоманка, туляремія та ін.

З метою попередження виникнення хвороб, пов'язаних з вживанням води, проводиться контроль її якості. Найоптимальнішим було б визначити в пробах води збудників захворювань, але це зробити часто буває надзвичайно важко, оскільки вони там знаходяться в малих концентраціях. Тому для виявлення патогенних мікроорганізмів у воді користуються непрямими показниками. Для цього визначають характерні для кишечника тварин і людини фекальні мікроорганізми (кишкову паличку). Наявність їх у воді вказує на те, що там можуть бути і патогенні мікроби, які виділяються з випорожненнями. Інтенсивність фекального забруднення визначається мікробним числом, колітитром і колі-індексом.

Мікробне число – загальна кількість всіх мікроорганізмів, що виявляються в 1 мл води. Даний показник вказує на загальне мікробне обсіменіння води. Для водопровідної води мікробне число не має бути більшим 100, а для колодязної води – 300 - 400.

Колі-титр – найменший об'єм води в мілілітрах, в якому виявляється хоча б одна кишкова паличка. Колі-титр водопровідної, питної води має бути не меншим 300, а для колодязної води – не менше 100.

Колі-індекс – кількість кишкових паличок в 1 л води. Колі-індекс водопровідної питної води має бути не більше 3, а для колодязної води – не більше 10.

Мікрофлора повітря.

Мікрофлора повітря залежить від багатьох чинників: вологості, температури, мікрофлори ґрунту і води, пори року, вмісту у повітрі пилу і газів, характеру місцевості і т.п. В повітря мікроорганізми попадають в основному із ґрунту разом і порохами, тіла тварин, транспорту, з краплями слини при кашлі, чханні та виділеннями людини і тварин.

Поширеність мікроорганізмів в повітрі нерівномірна. Так, в повітрі великих міст їх значно більше, ніж на околицях і ще менше їх в повітрі над лісами, озерами, морями, високо в горах. Велика кількість мікроорганізмів у

повітрі над великими містами пояснюється тим, що там інтенсивний рух, внаслідок чого піднімається багато пилу, а отже і мікробів. Так, в 1 г пилу знаходиться до 1 мільйона мікроорганізмів.

Мікроорганізмів дуже мало в повітрі лісів. Тут порохи затримуються деревами, а мікроорганізми знищуються фітонцидами. В деяких лісах, особливо хвойних, повітря практично стерильне. Саме тому, важливу роль у затримці пилу і зменшенні відповідно кількості мікроорганізмів у повітрі міст, відіграють зелені насадження. Чисельність мікроорганізмів в повітрі (в 1 м³) міських скверів і парків значно менша ніж, у повітрі міст де відсутні зелені насадження (за Войткевичем): двір для худоби – 1000000 – 2000000; житлове приміщення – близько 2000; міська вулиця – 5000; міський парк – 200; морське повітря – 1-2; повітря в Арктиці (80° північної широти) – 0.

Кількість мікробів у повітрі залежить і від пори року. Найбільше їх влітку і найменше взимку, що зумовлено тим, що земля покрита снігом і в повітря не попадають мікроби з ґрунту. Після опадів відбувається тимчасове очищення повітря від мікроорганізмів. Що ж до повітря закритих приміщень, то у ньому, навпаки, більше мікроорганізмів взимку, ніж влітку.

На мікрофлору повітря впливає також і висота. Найбільше мікроорганізмів над поверхнею землі, в міру віддалення від землі їх кількість зменшується. Поодинокі мікроорганізми виявлені на висоті майже 80 км. Стійкість мікроорганізмів на великих висотах пояснюється наявністю у них ферменту, що захищає їх від дії ультрафіолетового випромінювання. Ультрафіолетове випромінювання практично не впливає згубно і на ті мікроорганізми, які адсорбовані на частинках пилу.

Вміст мікроорганізмів в повітрі приміщень залежить від частоти вологого прибирання, вентиляції (провітрювання), попадання у приміщення сонячного світла, скупчення людей та ін.

Не дивлячись на те, що повітря не є сприятливим середовищем для мікроорганізмів (відсутність поживних речовин, вологи, немає постійної температури і дію ультрафіолетового випромінювання), у ньому все ж таки можуть зберігатися тривалий час сапрофіти, умовно-патогенні і патогенні мікроорганізми. Найчастіше у повітрі зустрічаються спори бактерій, пігментні бактерії, актиноміцети, плісень, дріжджові гриби та ін. В поширенні мікроорганізмів у повітрі велику роль відіграють аерозолі – колоїдні частини, що складаються з повітря і розпиленіх у ньому крапель рідини або твердих речовин.

Через повітря можуть передаватися патогенні мікроорганізми. Існує повітряно-краплинний і повітряно-пиловий шлях поширення мікроорганізмів. Повітряним шляхом поширюються збудники таких захворювань як грип, туберкульоз, віспа, дифтерія, скарлатина, коклюш, епідемічний паротит, сибірка та ін. Вдихаючи повітря, яке вміщує патогенні мікроорганізми, людина і тварини можуть заразитися тією чи іншою хворобою. Найбільше бактерій виділяє людина при чханні (від 4500 до 150000), дещо менше – при кашлі і ще менше – при розмові. Найдрібніші із частин, аерозолі величиною від 1 до 10 мкм можуть годинами, зависати у

повітрі і повітряними потоками розноситись на великі віддалі; крупні краплини швидко осідають. Мікроорганізми, які осіли на різні предмети можуть зберігати свою життєдіяльність до 80 діб і бути причиною інфекційних захворювань.

Санітарними показовими мікроорганізмами закритих приміщень є зеленячі стрептококи і стафілококи. Епідемічна небезпека повітря оцінюється за наявністю у ньому α - і β - гемолітичного стрептокока і гемолітичного стафілокока. Санітарно-гігієнічний стан атмосферного повітря оцінюється за мікробним числом – кількість мікроорганізмів в 1 м³ повітря (табл. 7.2).

Таблиця 7.2

Допустимі санітарно-бактеріологічні показники для повітря

Досліджувані проби	Мікробне число	Вміст α - і β - гемолітичного стрептококу в 1 м ³ повітря
Атмосферне повітря зеленої зони	до 350	—
Повітря житлових приміщень:		
влітку	до 1500	до 16
взимку	до 4500	до 36

Для знезараження повітря приміщень використовують різні методи: вентиляцію, ультрафіолетові лампи, аерозолі дезінфікуючих речовин.

7.2. ПРАКТИЧНА ЧАСТИНА

7.2.1. Визначення мікрофлори води, повітря, ґрунту

Мета: ознайомитися з правилами відбору ґрунту, води та молока для бактеріологічного дослідження, вивчити методи бактеріологічного дослідження води, молока, повітря, ґрунту.

Матеріальне забезпечення.

Для дослідження води: водопровідна вода у колбі, стерильні пробірки, стерильні градуйовані піпетки, стерильні чашки Петрі, МПА, агар Ендо, таблиці.

Для дослідження ґрунту: наважка ґрунту 10 грам, стерильна вода у колбі, марлева салфетка, стерильні: колби для приготування суспензії, мірні циліндри, піпетки на 1 мл, чашки Петрі, пробірки з середовищем Кеслера, МПА, агар Ендо, Левіна.

Для дослідження повітря: чашки Петрі з МПА, ЖСА.

Зміст заняття.

Повітря несприятливе середовище для існування мікроорганізмів.

Мікроби потрапляють у повітря з ґрунту, з поверхні рослин, з води. Кількість та склад мікрофлори у повітрі не постійні. Для санітарної оцінки повітря враховують кількість мікробів у 1 м³.

Седиментаційний - засіб Коха полягає у тому, що чашки Петрі з МПА залишають відкритими на 5-10 хв. в приміщенні. Для визначення цим способом санітарно-показових мікроорганізмів (гемолітичних, стафілококів, стрептококів) чашки Петрі з кров'яним агаром залишають відкритими на протязі 40 хв. Після цього чашки закривають, ставлять у термостат на 24 год., підраховують колонії мікробів.

Щоб визначити мікробне число у повітрі (кількість бактерій, що містяться в 1 м³), його підраховують по формулі Омелянського. Правилom Омелянського передбачається, що на поверхні агару у чашці Петрі з площею 100 см² за 5хв. з повітря осідає така кількість мікробів, що міститься в 10 л повітря.

При санітарно-бактеріологічній оцінці повітря по наявності патогенних мікроорганізмів (мікобактерій туберкульозу, збудників пастерельозу, бруцельозу та ін.) використовують спеціальні (елективні) середовища. Після інкубації в термостаті проглядають колонії, що вирости, виділяють характерну для цього виду мікроба колонію і вивчають її; з неї готують мазки, фарбують за Грамом, мікроскопують. Колонію пересівають для одержання чистої культури з наступною її ідентифікацією.

Методика визначення забрудненості повітря в аудиторії мікробіології седиментаційним методом.

Чашки Петрі з МПА залишають відкритими на 5-10 хв. в приміщенні. Після цього чашки закривають, ставлять у термостат на 24 год., підраховують колонії мікробів.

Для визначення мікробного числа використовують правило Омелянського, за яким передбачається, що на поверхні агару у чашці Петрі з площею 100 см² за 5хв. з повітря осідає така кількість мікробів, що міститься в 10 л повітря.

Санітарно-бактеріологічне дослідження води.

З відкритих водосховищ проби води відбирають з глибини 10-15 см від поверхні і, на відстані 10 – 15 см від дна. Із водопроводу воду беруть в стерильні флакони з притертим корком ємністю 0,5 л, а з глибини водосховища – прив'язаним до жердини батометром або скляною посудиною з притертим корком, до якої прикріплений шнур. Водопровідну воду наливають після попереднього пропалювання крану і витікання перших порцій води з нього на протязі 10-15 хв. Воду з колодязя необхідно брати до початку користування ним або через 10-12 год. після припинення користування. Проміжок часу з моменту взяття проби до бактеріологічного дослідження не повинен перевищувати 2 год. (при температурі 1-5⁰С можна зберігати до 6 год.).

Визначення загальної кількості бактерій у воді.

Загальна кількість бактерій у воді показує кількість бактерій у 1 мл води. Воду перед посівом розводять стерильною водопровідною водою 1:10, 1:100 і

далі в залежності від забруднення. З кожної проби беруть для посіву не менше двох різних розведень. Воду з артезіанських свердловин та водопроводів можна засівати не розводячи, в кількості 0,5-1 мл. Воду що досліджують добре перемішують і проводять посів у чашки Петрі: 1 мл води градуйованою піпеткою переносять в стерильну чашку, злегка піднявши її кришку. Після цього в чашку наливають 10-12 мл розплавленого та прохолодженого до 45⁰С МПА, чашку закривають і коловими рухами ретельно перемішують МПА з водою.

Чашки ставлять в термостат на добу. По кількості колоній, що вирости судять про кількість мікробів у воді. Загальна кількість бактерій в 1 мл водопровідної води не повинна перевищувати 100 (від 100 до 1000 колоній - вода сумнівна, від 1000 і більше - не придатною до споживання), а відкритих водосховищ – не більш 1000.

Визначення колі-титру води.

Наявність у воді кишкової палички є наслідком фекального забруднення і вказує на можливість обсіменіння води патогенними мікроорганізмами. Ступінь забрудненості води кишковою паличкою характеризують колі-титром, що є найменшою кількістю води, в якій виявляють кишкову паличку, або колі-індексом (кількістю кишкової палички, що міститься в 1000 мл води). Для визначення колі-титру використовують бродильну пробу і засіб мембранних фільтрів.

Суть бродильної проби полягає в тому, що воду, яка досліджується в певній кількості висівають на середовище накопичення, після цього за наявності зростання, характерного для кишкової палички, пересівають на диференціально-діагностичні середовища. Беруть три обсяги водопровідної води по 100 мл, три – по 10 мл і три – по 1 мл. Воду в цій кількості висівають в колби і пробірки з глюкозо-пептонним або лактозо-пептонним середовищем з індикатором і “поплавцем”. Усі посіви ставлять в термостат на 24 год. За відсутності зростання мікробів, утворення кислоти і газу – результат негативний (вода доброякісна). З пробірок, в яких є зростання бактерій (помутніння і зміна кольору середовища), проводять посів штрихом на поверхню середовища Ендо або Левіна і ставлять в термостат на 16-18 год. З колоній, характерних для бактерій групи кишкової палички, готують мазки, фарбують, мікроскопують. Культуру вивчають за оксидазним тестом – фільтрувальний папір змочують розчином нафтол-диетіл-п-фенілендіаміна. Після цього 2-3 ізольовані колонії кожного типу з агару Ендо знімають петлею і переносять штрихом на змочений реактивом папір. Відсутність зміни в забарвленні паперу (негативний результат оксидазної проби) а наявність грам-негативних паличок в препараті (мазку) свідчать про зростання кишкової палички.

Титр кишкової палички для водопровідної води допускається не менше 333 мл, для води відкритих водосховищ – орієнтовно не менше 111 мл.

Засіб мембранних фільтрів частіше застосовують в лабораторній практиці. Полягає він у тому, що певний обсяг води пропускають під тиском через фільтри, виготовлені з нітроцелюлози, з наступним накладенням їх

матовою стороною на поверхню агару Ендо. їх витримують у термостаті 18-24 год. Після цього підраховують кількість колоній, визначають колі-титр і колі-індекс.

Методика визначення мікробного числа водопровідної води.

Відкрити водопровідний кран на 5-10 хвилин, закрити і пропалити кран полум'ям спиртівки. Відібрати воду у стерильну колбу ємністю 500 мл.

У пробірку мірною піпеткою внести 9 мл стерильної води (весь посуд стерильний). В цю ж пробірку внести 1 мл водопровідної води, перемішати, відібрати піпеткою 1 мл і внести у стерильні чашки Петрі.

Залити у чашку розплавлене і охолоджене до 45°C стерильне поживне середовище (МПА) та обережно нахилити і обертати чашки для перемішування суміші.

Чашки помістити у термостаті (після застигання середовища) при температурі 37°C на 2-3 доби; за цей час виростають колонії, які добре видно при збільшенні в 2-5 разів.

Підраховують кількість колоній і помножують кількість колоній на відповідне розведення.

Санітарно-бактеріологічне дослідження ґрунту.

Гуманну та ветеринарну медицину цікавить виявлення патогенних мікроорганізмів, що потрапляють в ґрунт з трупами тварин, які загинули від інфекційних хвороб, з виділеннями хворих тварин, з незнезараженими стічними водами. В таких випадках ґрунт може виявитися чинником інфікування (сибірка, правець, злоякісний набряк та ін.) людей та виникнення інфекційних хвороб.

Бактеріологічний аналіз ґрунту потрібний при виборі території під пасовище, господарські будівлі – гідростанції, дитячі, спортивні майданчики, сади, лікарні. Дослідження зводяться до визначення: мікробного числа (кількість бактерій, що містяться в 1 г ґрунту), колі-титру, перфрінгенс-титру, та в окремих випадках проби ґрунту досліджують на наявність певних патогенних мікробів.

Відбір проб ґрунту.

На території що обстежується площею до 1000 м², виділяють дві ділянки по 25 м² (одну – поблизу джерела забруднення, іншу у віддалені від нього). На кожній з двох ділянок (з дотриманням стерильності) беруть проби з 5 місць (4 – по кутам ділянки, одну – по центру на глибині 10-20 см стерильним совком. Відбирають по 200-300 г ґрунту в стерильні банки з ватними корками (можна усі проби з однієї ділянки перемішати і на дослідження направити 1 кг). На банки наклеюють етикетки, відправляють з супровідним листом. Проби ґрунту потрібно досліджувати одразу ж або на протязі 6-18 год., зберігаючи їх при температурі не вище 1-5°C. В лабораторії пробу ґрунту подрібнюють, відокремлюють від каменів, коренів рослин, просівають через сито, ретельно перемішують і відважують 30 г.

В колбу ємністю 500 мл наливають 270 мл стерильної водопровідної води і вносять в неї відважену пробу ґрунту, усе інтенсивно струшують 10 хв. і, не даючи відстоятися часткам суспензії, готують серію десятиразових

послідовних розведень. Для відносно чистих ґрунтів достатньо 4 міри розведення, для забруднених – 6-9 розведень. З цією метою в штатив ставлять пробірки з 9 мл стерильної води, нумерують. В першу вносять 1 мл суспензії проби ґрунту, змішують, після цього 1 мл з першої пробірки переносять в другу, змішують, з неї 1мл– в третю і т. і. У результаті в пробірці №1 одержують розведення ґрунту 1: 100, № 2 – 1: 1000 і т. і. Підготовлені таким чином проби ґрунту досліджують.

Визначення загального мікробного числа.

З останніх 3-4 пробірок з розведеною суспензією окремими стерильними піпетками вносять по 1 мл в стерильні чашки Петрі (кожне розведення окремо). В кожну чашку додають ще по 15-20 мл розплавленого (і охолодженого) до 45°C МПА. Рівномірними обережними обертливими рухами вміст чашок перемішують, залишають на столі для ущільнення агару. Далі чашки перевертають і ставлять у термостат на 24 години. Підраховують колонії що виросли в кожній чашці, множать на ступінь розведення, отримані числа складають і обчислюють середньоарифметичне число, що складе кількість мікробів, які містяться в 1 г ґрунту.

Визначення колі-титру ґрунту.

Різноразмірні розведення суспензії проби ґрунту окремою стерильною піпеткою засівають у пробірки із середовищем Кеслера. Посіви витримують в термостаті при 43°C на протязі 48 годин. Після цього пробірки з посівами проглядають. З тих пробірок, де є газоутворення, висівають штрихом на агар Ендо в чашки Петрі, культивують при 37°C 24 год. Червоні колонії, що виросли на агарі, типові для бактерій роду ешерихія, досліджують: мазки фарбують за Грамом, мікроскопують. При наявності у мазках поліморфних коротких грамнегативних паличок червоні колонії знов пересівають у середовище Кеслера для підтвердження газоутворення в чистій культурі *E. coli*. Найбільше розведення ґрунтової суспензії, в якій відзначена ферментація лактози (з газоутворенням), відповідає колі-титру ґрунту.

Визначення перфрінгенс - титру в ґрунті.

Різноразмірні розведення проби ґрунту засівають в пробірки з розплавленим та охолодженим середовищем Вільсона-Блера, інкубують в термостаті 24 -48 год. при 43°C.

C. perfringens росте в глибині середовища, утворюючи чорні колонії, внаслідок відновлення сульфату натрію до сульфіду натрію, що реагує з хлористим залізом, і утворює сірчисте залізо (чорного кольору). Гази, що накопичуються в середовищі в результаті ферментації глюкози, розривають агар, де розміщені колонії *C. perfringens*. Найбільше розведення ґрунту або найменша її кількість, яка викликала почорніння і розривання щільного середовища Вільсона-Блера в перші 12 год. зростання, відповідає (або прийнято вважати) її перфрінгенс-титру.

Показники санітарно-бактеріологічної оцінки ґрунту

Оцінка ґрунту	Загальне число бактерій в 1 г ґрунту	Колі-титр	Перфрінгенс-титр
Чиста	10000	Вище 1	Вище 0,1
Слабо забруднена	не більше 10000	1-0,01	0,01-0,001
Помірно забруднена	100000-900000	0,01-0,001	0,001-0,0001
Сильно забруднена	1000000 і вище	Нижче 0,001	Нижче 0,0001

Виявлення інших патогенних видів мікробів здійснюють посівом суспензії проби ґрунту на спеціальні елективні живильні середовища з наступною ідентифікацією виділених чистих культур збудників хвороб, включаючи біопробу і інші засоби.

Методика визначення мікробного числа ґрунту.

Із зразка досліджуваного ґрунту відважують 1 г і роблять серію розведень у стерильній воді для одержання ґрунтової витяжки. Розведення готують так: у стерильну мірну колбу об'ємом 100 мл вносять 1 г ґрунту, додають 99 мл стерильної води і збовтують впродовж 3 хв. Потім відстоюють 15 хв. і роблять розведення 1:100 000.

Для виготовлення кожного наступного розведення беруть окрему стерильну піпетку. У стерильні чашки Петрі стерильною піпеткою вносять 1 мл ґрунтової суспензії (наприклад, 1:100 000) і розподіляють рівномірно по дну. Розплавлене стерильне середовище МПА із пробірки виливають у чашку і, обережно похитуючи її, перемішують поживне середовище з ґрунтовою суспензією. Після застигання середовища чашки Петрі ставлять у термостат при температурі 28-30°C на 3-5 діб. Потім підраховують (без відкривання кришки чашки) кількість колоній, що вирости на агарових пластинках і множать на розведення, взяті для аналізу.

Диференційоване виділення з ґрунту різних фізіологічних груп мікроорганізмів та їхній аналіз можливі при використанні різних диференціально-діагностичних поживних середовищ (ЖСА, МПА, Ендо).

Контрольні питання.

1. Санітарно-бактеріологічне дослідження повітря.
2. Назвіть тест-мікроби повітря.
3. Поясніть правило Омелянського.
4. Що таке сапробність?
5. Що показує колі-титрі колі-індекс?
6. В якому обсязі повітря визначають мікробне число?
7. Що показує Перфрінгенс-титр?

8. Як правильно відібрати проби ґрунту для дослідження?
9. Які інфекційні захворювання передаються через ґрунт?

7.3. ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ

7.3.1. Мікрофлора молока та молочних продуктів

Молоко – чудовий харчовий продукт, у якому містяться усі необхідні для життя людини і тварин речовини: повноцінні білки (казеїн, альбумін, глобулін), цукор (лактоза), жир, вітаміни, мінеральні солі, макро- та мікроелементи. Тому молоко є універсальним живильним середовищем для мікробів, у ньому швидко розмножуються не лише сапрофіти, а й факультативні паразити / збудники інфекційних хвороб людини та тварин.

У молочній залозі здорових тварин молоко не містить мікробів, вони потрапляють у нього з різних зовнішніх джерел. При доїнні перші цівки молока контамінуються (лат. contamination – змішування) мікробами у дійковому каналі і містять у 1 мл до 160 тис. мікробів, тому кілька перших цівок молока слід здоювати в окремий посуд і не змішувати із загальною масою молока. В подальшому внаслідок промивання молоком дійкових каналів у них контамінація молока мікробами різко знижується. Далі мікроби потрапляють у молоко з шкіри дійок і вим'я, з краплинками і шматочками гною, яким забруднені задні кінцівки та хвіст тварини, з рук доярки, з посуду (відер, бідонів), з повітря, а при машинному способі доїння – із стаканів і шлангів доїльного апарата. Залежно від забрудненості цих джерел, кількість мікробів у молоці зразу після доїння коливається від кількох тисяч до кількох мільйонів у 1 мл.

В розвитку мікробів у свіжому молоці при його зберіганні спостерігається кілька фаз.

1. *Антимікробна фаза* – це фаза, протягом якої кількість мікробів у молоці не збільшується або навіть зменшується завдяки мікробоцидній і мікробостатичній дії лізоциму та лактеніну. Її ще називають бактерицидною, хоча слід мати на увазі, що в ній затримується розмноження не лише бактерій, а й грибів. Тривалість антимікробної фази коливається від 3 до 24 год, вона обернена пропорційна температурі молока та кількості мікробів, що потрапили в нього. Для збільшення тривалості антимікробної фази молока його слід охолоджувати до температури +6–10°C і дотримувати вимог зоогієни та особистої гігієни доярки: мити теплою водою дійки та шкіру вим'я й руки доярки, посуд, доїльні апарати, чистити від гною шкіру та волоссяний покрив тварин, стійла тощо.

2. *Фаза змішаної мікрофлори* починається після антимікробної фази, коли всі антимікробні речовини молока витрачаються. В цій фазі починають розмножуватися майже всі мікроби, що потрапили в молоко, в більшості гнильні та молочнокислі бактерії. Тривалість фази змішаної мікрофлори теж залежить від температури і становить кілька годин.

3. *Фаза молочнокислих стрептококів*. У ній переважає розмноження *Str.*

lactis, оскільки зменшується показник рН молока. Молочнокислі стрептококи викликають бродіння лактози до молочної кислоти,

кількість якої досягає 1 % або 100–120° Тернера. Тривалість фази -5–6 год, під кінець її молоко зсідається.

4. *Фаза молочнокислих паличок.* У ній переважає розмноження *Lactobacteriuni bulgaricum*, відбувається повне бродіння лактози, кількість молочної кислоти становить 3–3, 5%, або 400° Тернера. Фаз молочнокислих паличок триває кілька діб, протягом яких молочне кислі стрептококи й палички поступово відмирають

5. *Фаза розмноження дріжджових і плісневих грибів,* які можуть жити в кислому середовищі, використовуючи молочну кислоту як поживну речовину. Фаза триває кілька діб, поки вся молочна кислот. не буде використана і реакція середовища стане нейтральною.

6. *Фаза загнивання* молока характеризується розмноженням гнильних мікробів, які викликають гниття казеїну з утворенням аміаку сірководню та інших продуктів розпаду.

Мікрофлору молока за її значенням поділяють на нормальну аномальну і патогенну.

До *нормальної, або облігатної,* мікрофлори молока належать молочнокислі бактерії, розмноження яких викликає нагромадження у молоці молочної кислоти і його зсідання. Молочна кислота не псує, а консервує молоко, кисломолочні продукти зберігають калорійність, мають добрий смак.

Аномальна мікрофлора при розмноженні в молоці призводить до появи вад, або пороків. Пороки молока – це зміни його кольору, запаху, смаку, консистенції, коли воно стає непридатним як харчовий продукт.

Пороки кольору молока виникають при розмноженні в ньому пігментних мікробів: *Serraha marcescens* (рожевий колір), *Pseudomonas aeruginosa* (синій колір), *Rumtoccocus flavofaciens*, *Muxococcus xanthus* (жовтий колір).

Затхлий запах молока буває при бурхливому розмноженні у свіжому молоці гнільних бактерій, коли вони потрапляють в нього у великій кількості з крапельками або пилинками гною. Затхлий запах посилюється, якщо молоко не охолоджують і зберігають у закритому бідоні.

Гіркий смак молока буває при поїданні тваринами гірких трав, зокрема полину. Аномальна мікрофлора може призводити до згіркнення молока, якщо його довго зберігають при низькій температурі. При цьому розвиток молочнокислих бактерій гальмується, а холодолюбні мікроби, зокрема *Рь. fluorescens*, розмножуються і розкладають жир з утворенням масляної кислоти. Пастеризоване молоко з часом гіркне внаслідок розмноження маслянокислих кластридій які не гинуть при пастеризації.

Бродильне молоко характеризується нагромадженням великої кількості газів (метану, аміаку, сірководню) внаслідок потрапляння і надмірного розмноження кишкової палички, гнільних або маслянокислих бактерій.

Мильна консистенція молока зумовлена розмноженням *Bact. saponacei*, яка продукує лути і обмилює жир. Мильне молоко не зсідається, а на дні посуду з таким молоком утворюється слизовий осад.

Тягуче молоко має слизову тягучу консистенцію внаслідок розмноження стрептококів *Leuconostoc lactis*, що утворюють слизові капсули.

Патогенна мікрофлора потрапляє у молоко ендо- та екзогенно. Ендогенний шлях проникнення патогенних мікробів у молоко характерний для гострих (сибірка, емкар, пастерельоз, лістеріоз), а також деяких хронічних інфекцій (бруцельоз, туберкульоз), коли мікроби заносяться у молочну залозу з кров'ю хворої тварини. Ще більше патогенних мікробів виділяється з молоком при хронічних інфекціях з локалізацією процесу в молочній залозі (стрептококовий, стафілококовий, туберкульозний мастити).

Екзогенний шлях занесення патогенних мікробів у молоко спостерігається при захворюванні тварин і людей, які мають контакт з молоком, на кишкові інфекції, збудники яких виділяються назовні разом з екскрементами. До таких інфекцій належать дизентерія, паратифи, черевний тиф, холера та ін. Вони можуть поширюватися через молоко й викликати не лише поодинокі, а й масові захворювання людей і молодняку сільськогосподарських тварин. Велику небезпеку становлять люди з відкритою формою туберкульозу, якщо вони мають доступ до молока (доярки, працівники пунктів приймання молока та молочних заводів, продавці). Від людей, які мають нагноєння шкіри, спричинені стафілококами, останні потрапляють у молоко, де швидко розмножуються й утворюють токсини. Споживання кондитерських продуктів, при виготовленні яких використовують контаміноване стафілококами молоко, призводить до харчових отруєнь.

Мікрофлора кисломолочних продуктів.

Кисломолочні продукти можна виготовляти в домашніх умовах і заводським способом. Вони можуть зберігатися кілька діб при кімнатній температурі, майже не втрачаючи калорійності, вітамінів, мають приємний слабокислий смак, дієтичне і лікувальне значення.

Звичайну простоквашу готують у домашніх умовах, коли свіже молоко зберігають протягом 1–2 діб при кімнатній температурі й воно скисає і зсїдається завдяки дії «диких» штамів *Str. lactis* та молочнокислих паличок. Смакові якості і консистенція такого молока непостійні. В заводських умовах молоко пастеризують при температурі 95°C протягом 10 хв, а після - охолодження до 30°C в нього вносять 5% закваски *Str. lactis* і 0,5 % – *Lact. bulgaricum*. Таку простоквашу називають Мечниковою.

Ряжанку готують із суміші молока та вершків. Жирність її 6%. Пастеризують при 95°C 2–3 год і заквашують термофільною расою

Str. thermophilus. Ряжанка має кремовий колір і більш щільну консистенцію.

Ацидофільну простоквашу готують аналогічно мечниковій. У пастеризоване молоко вносять закваску *Str. lactis*, а замість болгарської палички – *Lact. acidophilus*, здатну приживлятися у кишечнику. Культуру ацидофільної палички спочатку виділяють з меконіуму (калу новонароджених), а потім з неї готують закваску в пастеризованому молоці.

Ацидофільне молоко відрізняється від простокваші тим, що не утворює

згустку і має рідку консистенцію. Закваска для виготовлення ацидофільного молока містить лише ацидофільну паличку без молочнокислого стрептокока.

Ацидофільні постоквашу та молоко застосовують з лікувальною метою при розладах шлунково-кишкового тракту. Ацидофільна паличка нормалізує мікрофлору кишечника.

Кефір – продукт змішаного бродіння (молочнокислого та спиртового) у молоці. Для виготовлення кефіру в пастеризоване молоко вносять кефірну закваску, яка має вигляд кефірних зерен світло жовтого кольору, неправильної форми. Сухі зерна перед застосуванням розмочують у теплій стерильній воді, а потім у пастеризованому молоці. Кефірна закваска містить молочнокислі стрептокок, паличку та молочні дріжджі *Torula kephir*. Останні можуть утворювати від 0,2 до 0,6% етилового спирту – залежно від часу дозрівання продукту (з часом кількість спирту збільшується).

Кумис – теж продукт змішаного бродіння. Для виготовлення натурального кумису використовують молоко кобил, яке містить менше жиру і більше лактози (до 7%), ніж коров'яче. В кумисній заквасці, крім молочнокислих бактерій, є дріжджеподібні гриби *Torula kumyss*, здатні нагромаджувати в продукті до 3–4% етилового спирту. Штучний кумис готують з коров'ячого молока після знежирювання і додавання цукру.

Кумис має дієтичне та лікувальне значення, його рекомендують для лікування хворих на туберкульоз.

Сметана – висококалорійний кисломолочний продукт різної консистенції, яка залежить від концентрації жиру. Готують з вершків, у які вносять кисломолочну закваску

Мікрофлора сиру.

Виготовлення сиру складається з чотирьох технологічних процесів, у яких беруть участь мікроорганізми

1. Молоко пастеризують у котлах, у нього вносять сичужний фермент і закваску з молочнокислих та пропіоновокислих бактерій. Казеїн зсідается у щільний згусток, до складу якого входять також жир і частина лактози. У цій масі починається розмноження бактерій.

2. Згусток пресують. На цьому етапі кількість бактерій зростає до 1 млрд. у 1 г.

3. Засолювання сиру в 24 % розчині кухонної солі протягом 6-8 діб.

4. Дозрівання сиру – від кількох діб до кількох місяців (наприклад, при виготовленні швейцарського сиру – 10 міс). На цьому етапі повністю розщеплюється лактоза, дід дією пропіоновокислих бактерій утворюється вуглекислий газ. Залежно від кількості газу й величини газових пухирців рисунок на розрізі характерний для кожного виду сиру.

Мікробний склад заквасок характерний для окремих видів сирів. При виготовленні швейцарського сиру використовують культуру ароматичних бактерій *Str. citrovorus* і *Str. paracitrovorus*, а ігри виготовленні сиру рокфору – спори плісневих грибів *Penicillin*.

Порушення технології виготовлення сиру призводить до виникнення пороків – розпухання, прогрікання, пліснявіння тощо.

Розпухання сиру спричиняється утворенням великої кількості газів внаслідок бурхливого розмноження кишкової палички або *Vac. polymyxa*, здатних існувати при низьких показниках рН середовища. Нагромадження газів утворює щілини й може навіть розривати головку сиру на шматки. Цей порок сиру виникає при виготовленні його з молока, забрудненого гноєм, і при недостатній пастеризації.

Прогіркання сиру виникає внаслідок розмноження у ньому маслянокислих клостридій та маммококів.

Пліснявіння сиру – ріст на його поверхні плісневих грибів *Penicillium*, *Aspergillus*, *Oospora* при дозріванні сирних головок у вологих приміщеннях, руйнуванні поверхневого парафінового шару. Пліснявіння поверхневого шару сиру супроводжується його загниванням, сир стає м'яким, смердючим і непридатним для споживання.

Мікрофлора масла. В маслі дуже мало лактози та білків, тому кількість мікробів у сто - тисячу разів менша, ніж у сирі. Мікрофлора масла представлена в основному молочнокислими стрептококами, а при низьких температурах – флуоресцентними бактеріями. При тривалому зберіганні масла навіть у холодильнику його поверхневий шар псується, у ньому розмножуються плісневі гриби *Penicillium*, *Aspergillus*, *Endomyces lactis*, флуоресцентні бактерії, які викликають згіркнення масла.

7.3.2. Мікрофлора тваринного організму

Тваринний організм відразу після народження перебуває в безпосередньому контакті з найрізноманітнішими мікробами. При вдиханні повітря, споживанні корму, контакті з оточуючими предметами, мікроби різними шляхами заселяють шкіру, слизові оболонки верхніх дихальних шляхів, шлунково-кишкового тракту і сечостатевої системи. Порожнини організму і шкіряний покрив безпосередньо стикаються із навколишнім середовищем, крім мікроорганізмів, які випадково потрапляють на них, мають ще свою характерну мікрофлору, яка називається *нормальною*. Окремі види мікробів, що належать до групи нормальної мікрофлори, у процесі тривалої еволюції пристосовувались до певних умов існування і, розвиваючись на слизових оболонках та шкірі, зазнають постійного впливу організму і, у свою чергу, справляють на нього різнобічну дію. Роль нормальної мікрофлори надзвичайно важлива, а тому заслуговує на постійну увагу при аналізі явищ інфекції та імунітету.

Значення мікрофлори організму для створення імунних механізмів доведено експериментально на безмікробних тваринах – гнотобіотах, у яких недорозвинені лімфоїдна система і селезінка, знижена кількість лейкоцитів та імуноглобулінів.

Встановлено, що представники нормальної мікрофлори активізують захисний апарат тваринного організму. Наприклад, кишкова паличка у безмікробних тварин сприяє підвищенню бактерицидної активності кров'яної сироватки до *Salmonella typhi*. Введення мишам-гнотобіотам культури

фекального стрептокока спричинює збільшення лімфатичних вузлів до звичайного розміру.

Багато представників нормальної мікрофлори тварин є симбіонтами. В даному випадку йдеться про співіснування, при якому мікроби, хоча й ростуть за рахунок поживних речовин, призначених для тваринного організму, однак своєю життєдіяльністю приносять йому користь. Наприклад, молочнокислі бактерії шлунково-кишкового тракту ферментують вуглеводи, утворюють молочну кислоту, яка нагромаджуючись в середовищі при розмноженні цих мікробів, впливає бактеріостатичне на гнильні та умовно патогенні бактерії. Аналогічну роль виконує вагінальна паличка, яка завжди зустрічається на здоровій слизовій оболонці піхви.

Окремі види нормальної мікрофлори відомі як антагоністи ряду патогенних мікроорганізмів. Так, встановлено антагоністичну дію кишкової палички, що утворює лабільні ендоеантибіотики, активні щодо грампозитивних бактерій.

Мікрофлора слизових оболонок і шкіри надзвичайно різноманітна. Поряд з мікробами-симбіонтами до її складу входять умовно патогенні мікроорганізми, які за певних умов можуть посилювати свою вірулентність і є причиною інфекційного захворювання.

На шкірі і слизових оболонках тварин живуть і розмножуються різні види стафілококів, стрептококів, спороутворюючі палички, гриби-сапрофіти та дерматофіти тощо. Вони потрапляють сюди з повітря, води, ґрунту, живих істот. Цілісність шкіри і наявність шерстного покриву запобігають проникненню мікробів крізь шкіру. Незначні пошкодження її відкривають доступ для попадання збудників інфекційних хвороб в організм тварини.

Мікроорганізми виявлено не тільки на поверхні шкіри, а й у волосяних мішечках, протоках сальних і потових залоз. На шерстному покриві часто зустрічаються мікроби, що мешкають у шлунково-кишковому тракті і ротовій порожнині, які потрапляють на нього з екскрементами й слиною.

На слизових оболонках ротової порожнини і носоглотки зустрічаються молочнокислі стрептококи, ацидофільні та целюлозоруйнівні бактерії, стафілококи, спірохети, нитчасті бактерії, амеби, псевдотуберкульозні і грампозитивні палички, дріжджі, актиноміцети, плісеневі гриби. Ряд представників цієї мікрофлори бере активну участь у захисті організму від хвороботворних мікробів, крім того, вони синтезують вітаміни В_а і К. При зміні умов деякі з них можуть стати причиною ангін, пневмоній та інших хвороб.

Мікрофлора травного каналу надзвичайно численна і різноманітна. Склад її змінюється залежно від віку тварини, кормового раціону та хімічного складу його. З кормом і водою в травний канал може потрапляти різна мікрофлора, в тому числі і патогенна. Наявність у слині лізоциму перешкоджає розмноженню мікроорганізмів, а непошкоджена слизова оболонка не дає їм можливості потрапити у тканини та органи тваринного організму. В шлунку мікрофлори здебільшого немає завдяки значним бактерицидним властивостям його соку. Мікроорганізми, що з'являються в кишечнику новонароджених

тварин, протягом 2 діб мають строкатий і несталий видовий склад. Молочнокислих, бактерій у цей період ще мало, а іноді їх немає зовсім. Нормальна мікрофлора кишечника у молодняка, що характерна для молочного періоду, стабілізується на 3–6-у добу життя тварин. На цей час вона представлена молочнокислими бактеріями типу *Vac. acidophilum*, молочнокислими стрептококами і біфідобактеріями, кількість кишкової палички по відношенню до молочнокислих мікробів не перевищує 5–10 %.

При переведенні молодняка на годівлю кормами рослинного походження видовий склад мікрофлори кишечника змінюється: в ньому з'являються грампозитивні спороутворюючі палички, коки, кишкова паличка, мікроби, що викликають бродіння пектинових речовин і руйнують целюлозу, переводячи її в легкозасвоювані гексози, а також гнильні та в незначній кількості молочнокислі мікроорганізми.

При нормальному стані шлунково-кишкового тракту в шлунку (сичузі) і дванадцятипалій кишці багато мікробів відмирає, що зумовлюється бактерицидним впливом шлункового соку. Важливе значення для жуйних тварин має мікрофлора передшлунків і особливо рубця, оскільки важко-перетравні грубі корми, багаті на клітковину і пектинові сполуки, піддаються в ньому дії різноманітних ферментів бактеріального походження і таким чином готуються до наступного перетравлення і засвоєння організмом. Різні порушення ферментативної активності мікрофлори рубця неминуче призводять до патологічних змін в організмі.

У новонароджених телят і ягнят рубець не функціонує. Засвоєння молока матері в цей час подібне до засвоєння його в шлунково-кишковому тракті тварин з однокамерним шлунком.

У телят віком кілька тижнів у рубці починається перетравлювання складових частин корму за-допомогою ферментів, що продукуються бактеріями і найпростішими, які потрапляють сюди з кормом і водою. В цей період загальна кількість мікроорганізмів у вмісті рубця така ж, як і у дорослої великої рогатої худоби. Мікроби перетворюють грубі корми в засвоювану для організму форму, продукують органічні кислоти, синтезують амінокислоти, повноцінні білки, вітаміни й біологічно активні речовини, які засвоюються жуйними. Із вмісту рубця дослідниками виділено близько 40 видів уреазоактивних мікроорганізмів, молочнокислі бактерії, ентерококи, гнильні, маслянокислі, а також мікроби кишкової групи. Кількість анаеробних мікроорганізмів в рубці значно більша, ніж аеробних, і змінюється залежно від часу після прийому корму. При прямому підрахунку загальна кількість мікробних клітин в 1 г, вмісту рубця сягає 4–5 млрд.

Близько 70 % клітковини розщеплюється в рубці, 17 % – в сліпій та 13 % – ободочній кишках. В сичузі і тонкому відділі кишечника розщеплення клітковини не відбувається, тому що там немає умов для розвитку целюлозоруйнівних бактерій.

Бактерії, що перетворюють в рубці азотисті речовини кормів на білок клітини. Факультативно-анаеробні бактерії рубця здатні розщеплювати сечовину і інші речовини до аміаку, який використовується на будову тіла

мікробної клітини. В рубці об'ємом 75 л за добу утворюється до 450 г білка. В ньому також синтезується 10 незамінних амінокислот: аргінін, гістидин, ізолейцин, лейцин, лізин, метіонін, фенілаланін, триптофан і валін. В зв'язку з цим жуйні не потребують зазначених амінокислот з кормами в такій кількості, як тварини з однокамерним шлунком.

Мікроби рубця здатні синтезувати білок із простих сполук азоту, що дозволило використовувати в годівлі жуйних речовини, що містять азот: амонійні солі і сечовину. При гідролізі цих сполук утворюється аміак, який засвоюється мікробами. Мікроорганізми рубця з аміаку, вуглецю, сірки, мінеральних речовин і органічних кислот синтезують амінокислоти і будують білок власного тіла. Разом з вмістом рубця мікроби переходять до сичуга та кишечника, де мінералізуються і переходять у засвоювану для макроорганізму форму. Високу ферментативну активність у рубцевому травленні мають мікроскопічні гриби, які розщеплюють крохмаль і клітковину.

У випадку розладу роботи шлунково-кишкового тракту змінюються умови існування для мікрофлори, що спричиняє різку зміну її складу. Це явище носить назву дисбактеріозу. Мікробіологічні дослідження показали, що при цьому порушується звичайне співвідношення фізіологічних груп мікробів: різко зменшується кількість кишкової палички, вульгарного протея, коків і бацил. Якісні зміни кишкової мікрофлори відбуваються також при ентеритах. З'являються штами кишкової палички, які неспроможні ферментувати молочний цукор і аглютинуються паратифозними сироватками. Такі культури токсичні, можуть гемолізувати еритроцити і виробляти фермент гіалуронідазу. Це співпадає з вираженою патогенністю таких мікроорганізмів у молодняку сільськогосподарських тварин.

7.4. ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ

1. Колі-титр водопровідної води повинен бути не менше:

A. 111 Б. 222 В. 333 Г. 444

2. Мікробне число повітря показує загальну кількість бактерій в:

A. 10 л Б. 100 л В. 1000 Г. 10000 л

3. Мертвими органічними речовинами живляться бактерії:

A. Паратрофи Б. Паразити В. Сапрофіти Г.

Клостридії

4. Живуть в умовах повної відсутності атмосферного кисню:

A. Аероби Б. Факультативні анаероби
В. Мікроаерофіли Г. Облігатні анаероби

5. З якої зони відкритого водоймища відбирають проби для бакдослідження?

A. Олігосапробної Б. Мезосапробної

6. До тест-мікробів повітря належить:

- А. Золотистий стафілокок
В. Пневмонійний стафілокок
Б. Сапрофітний стафілокок
Г. Усі

7. Метод Шукевича використовують для визначення:

- А. Рухливості
В. Наявності капсули
Б. Наявності спори
Г. Чутливості до антибіотиків

8. Постійно позбавлені клітинної стінки:

- А. L - форми мікроорганізмів
В. Актиноміцети
Б. Мікоплазми
Г. Рикетсії

9. Як називається перша фаза зміни мікрофлори молока?

- А. Бактеріцидна
В. Молочно-кислих коків
Б. Змішаної мікрофлори
Г. Молочно-кислих паличок

10. Як називається друга фаза зміни мікрофлори молока?

- А. Бактеріцидна
В. Молочно-кислих коків
Б. Змішаної мікрофлори
Г. Молочно-кислих паличок

ТЕМА 8. ВЧЕННЯ ПРО ІНФЕКЦІЮ. ПАТОГЕННІСТЬ І ВІРУЛЕНТНІСТЬ МІКРООРГАНІЗМІВ

8.1. ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА

8.1.1. Загальні відомості про інфекцію та інфекційний процес

Інфекційні хвороби відомі людству з найдавніших часів. Устародавніх 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, патологоанатомічними, 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.

8.1.2. 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 прийнятною в лабораторних дослідженнях є LD50 (*Dosis letalis* 50) - 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, термолабільні, вибірково ушкоджують деякі тканини й органи, при дії формаліну і температури 38-40 °С 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 життєва 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, ліпотейхоєві 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 здатність 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 вівців та ін.)

На сприйнятливість 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 молодяку –колібактеріоз, вірусні пнеумоніти 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 сприйнятливість 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.

8.1.3. 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, синьо-гнійної 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), трансмісивний (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 *трансмисивного 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 мікроорганізми 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 тощо).

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 гангрени).

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, парогрип 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 тощо).

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 - лізісом (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 формуватися 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 несприйнятливість (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 захворювань. Одним із головних факторів є температура, дію якої вивчав ще Л. Пастер у дослідах 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 знизила 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.

8.2. ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ

1. Сила (міра) патогенності мікроорганізмів називається:

А. Вірулентність	Б. Патогенність
В. Агресивність	Г. Токсичність

2. До клітинних факторів резистентності належать:

- А. Комплемент Б. Лізоцим В. Макрофаг Г. Інтерферон

3. До гуморальних факторів резистентності належать:

- А. Комплемент Б. Нейтрофіл В. Макрофаг Г. Інтерферон

4. До центральних органів імунної системи належать:

А. Лімфатичний вузол	Б. Пейєрові бляшки
В. Кістковий мозок	Г. Селезінка

5. До периферичних органів імунної системи належать:

А. Печінка	Б. Тимус
В. Кістковий мозок	Г. Селезінка

6. Трикомпонентний механізм імунної відповіді відбувається за схемою:

- А. Макрофаг----Т-хелпер---- В-лімфоцит
Б. Т-хелпер---Макрофаг---В-лімфоцит
В. В-лімфоцит---Макрофаг---Т-хелпер
Г. Макрофаг---В-лімфоцит---Т-хелпер

7. Змінена чутливість організму щодо повторної дії антигену називається:

А. Алергія	Б. Інфекція
В. Толерантність	Г. Інфекційне захворювання

8. За клітинний механізм набутого імунітету відповідає:

А. Т-кілер	Б. В-лімфоцит	В. Т-хелпер	Г. Т-ефектор

9. Взаємодія між якими речовинами лежить в основі усіх серологічних реакцій?

А. Антигеном і антитілом	Б. Білком і вуглеводом
В. Антигеном і гаптеном	Г. Антигеном і алергеном

10. Що визначають методом дифузії в агар з використанням стандартних дисків?

- А. Вірулентність мікроорганізмів
Б. Рухливість мікроорганізмів
В. Патогенність мікроорганізмів
Г. Чутливість мікроорганізмів до антибіотиків

ТЕМА 9. ЗБУДНИКИ КОКОВИХ ІНФЕКЦІЙ

9.1. ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА

9.1.1. Патогенні стафілококи

Коки – широко поширена в природі група кулеподібних сапрофітних і рідше патогенних бактерій. Вони відносяться до сімейств *Micrococcaceae* і

Deinococcaceae.

Патогенними для тварин є головним чином бактерії родів *Staphylococcus* і *Streptococcus*. Живуть вони на шкірі і слизових оболонках дихальних, харчотравних і сечостатевого шляхів. Багато коків - представники нормальної мікрофлори організму.

Стафілококи – сферичні грампозитивні нерухомі аспорогенні бактерії роду *Staphylococcus* із сімейства *Micrococcaceae*. Відкриті в 1880 р. незалежно один від одного Л. Пастером і А. Огстоном і більш детально вивчені Ф. Розенбахом у 1884 р.

У 1976 р. міжнародним комітетом по таксономії стафілококів офіційно затверджені такі три види: *S. aureus*, *S. epidermidis* і *S. saprophyticus*. До теперішнього часу описано 19 видів стафілококів, ізолюваних від тварин і людини.

Стафілококи мають важливе значення в інфекційній патології тварин: практично будь-який орган і будь-яка тканина можуть бути уражені цими мікробами. Вони викликають фурункули, абсцеси, флегмони, остеомієліти, мастити, ендометрити, бронхіти, пневмонії, менінгіт, піємії і септицемії, ентероколіти, харчові токсикози, стафілококоз птиць.

Морфологія. Стафілококи - сферичні клітини діаметром 0.5-1.5 мкм. У препаратах із гною і молодих бульйонних культур розташовуються поодинокі, парами, короткими ланцюжками або невеличкими купками; у мазках з агарових культур - у виді окремих скупчень неправильної форми, що нагадують гроно винограду. Джгутиків і капсул не мають, спори не утворюють. Добре фарбуються аніліновими барвниками, грампозитивні, у старих культурах окремі клітини фарбуються грамнегативно.

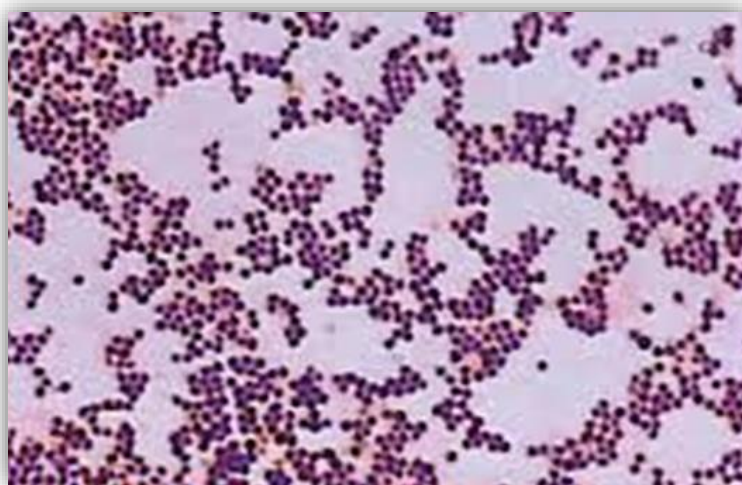


Рис.9.1. *Staphylococcus aureus* (Фарбування за Грамом)

Культивування. Факультативні анаероби. Добре ростуть на універсальних живильних середовищах при температурі 35-40°C оптимум рН 7.0-7.5. Додавання до живильного середовища глюкози або крові прискорює ріст

стафілококів. Характерна властивість більшості штамів - спроможність рости при 15% хлориду натрію або 40% жовчі. На МПА утворюють круглі, що злегка піднімаються над поверхнею агару колонії з рівними краями діаметром 2-5 мм. Колонії можуть бути пофарбованими, тому що стафілококи виробляють нерозчинні у воді пігменти. Найбільше інтенсивно пігменти утворюються на агарі з 10% знежиреного молока після 24-годинної інкубації при 37°C і на картоплі при температурі 20-25°C в аеробних умовах на світлі.

- *S. aureus* синтезує золотистий або жовтогарячий пігмент, зустрічаються і безпігментні штами;

- *S. epidermidis*, як правило, синтезує пігмент білого або жовтого цвіту;

- у більшості штамів *S. saprophyticus* пігмент відсутній.

При рості в МПБ стафілококи спочатку викликають дифузійне помутніння з наступним випаданням пухкого пластівчастого осаду. Характерно ростуть у стовпчику желатину. Через 24-26 год. поряд із багатим ростом по уколу намічається початкове розрідження середовища, що потім збільшується, і до 4-5го дня по ходу уколу утворюється лійка, наповнена рідиною.

На кров'яному агарі патогенні штами стафілококів утворюють значну зону гемолізу.

Біохімічні властивості:

1) Цукролітичні: Стафілококи ферментують з утворенням кислоти без газу глюкозу, мальтозу, фруктозу, сахарозу, ксилозу, гліцерин, і не гідролізують дульцин, саліцин, інулін, рафінозу.

2) Протеолітичні: Виділяють аміак і сірководень, не утворюють індол, відновлюють нітрати в нітриті; продукують каталазу, фосфатазу, уреазу; патогенні штами - аргіназу. Згортають і пептонізують молоко, розріджують желатин. Проте протеолітична активність у стафілококів може варіювати в значній мірі.

Токсиноутворення. Патогенні стафілококи синтезують і секретують високоактивні екзотоксини і ферменти. Серед екзотоксинів виділяють чотири типи гемотоксинів, лейкоцидін і ентеротоксини.

До гемотоксинів відносяться альфа-, бета-, гама- гемолізени.

Альфа-гемолізін викликає лізис еритроцитів вівців, свиней, собак, має летальну і дерматонекротичну дію, руйнує лейкоцити. Бета-гемолізін лізує еритроцити людини, летальний для кролів.

Гамма-гемолізін виявляється в штамів, виділених від людини, його біологічна активність низька.

Лейкоцидін - негемолітичний екзотоксин, викликає дегрануляцію і руйнування лейкоцитів.

Ентеротоксини - термостабільні поліпептиди, утворюються при розмноженні ентеротоксигених стафілококів у живильних середовищах, продуктах харчування (молоко, вершки і ін.), кишкового. Стійкі до дії харчових ферментів. Ентеротоксини викликають харчові токсикози людини, до них чутливі кішка, особливо котенята, і щенята собак.

До факторів патогенності стафілококів також відносяться ферменти

коагулаза, гіалуронідаза. Коагулаза - бактеріальна протеїназа, що згортає плазму крові тварин. Наявність коагулази є одним із найбільше важливих і постійних критеріїв патогенності стафілококів.

Антигенна структура. У стафілококів найкраще вивчені антигени клітинної стінки: пептидоглікан. Пептидоглікан - загальний видовий для стафілококів антиген.

Стійкість. Стафілококи стійкі мікроорганізми. Прямі сонячні промені вбивають їх тільки через кілька годин. У пилюці зберігаються 50-100 днів, у висушеному гною – більш 200 днів, у бульйонній культурі – 3-4 міс., на напівщільному агарі – 6 міс. У рідкому середовищі при 70°C гинуть через 1 год., при 85°C – через 30 хв., при 100°C – за декілька секунд. З дезінфектантів 1%-вий розчин формаліну вбиває їх протягом 1 год., 1% розчин хлораміну – через 2-5 хв. Стафілококи мають високу чутливість до діамантового зеленого.

Багато штамів чутливі до бензилпеніциліну, стрептоміцину, левоміцетину, тетрацикліну а також нітрофурановим препаратами. Проте чимало і резистентних до антибіотиків штамів. Вони, як правило, характеризуються множинною лікарською стійкістю, що контролюється R-плазмідой і може поширюватися шляхом трансдукції.

Патогенність. Основна роль в інфекційній патології тварин і людини належить *S. aureus*. Збудниками стафілококових інфекцій можуть бути також *S. epidermidis* і *S. saprophyticus*. Пігментоутворення і розщеплення вуглеводів не можуть служити критерієм патогенності стафілококів. Найголовнішими чинниками, що визначають патогенність цих бактерій, є спроможність продукувати екзотоксини і ферменти коагулазу, фібринолізин і гіалуронідазу.

До стафілококів чутливі коні, велика і дрібна рогата худоба, свині, качки, гусаки, індички, курки. З лабораторних тварин – кролі, білі миші, котенята. При внутрішкірному введенні кроликам культури патогенних стафілококів розвивається запалення, і потім некроз шкіри, при внутрішньовенній ін'єкції фільтрату культур у кролів настає гостре отруєння і загибель через кілька хвилин.

Патогенез. У організм стафілококи проникають через ушкоджену шкіру і слизові оболонки, ентеротоксини – із їжею.

Стафілококові інфекції частіше розвиваються і тяжче протікають в умовах зниження природної резистентності організму і при імунodefіцитних станах. У патогенезі стафілококових процесів головна роль належить екзотоксинам і ферментам патогенності. Важливе значення може мати й алергія. Всі ці чинники разом і визначають, чи виникнуть локальні гнійно-запальні осередки, системні захворювання внутрішніх органів, сепсис або харчові токсикози.

Лабораторна діагностика. Досліджують гній абсцесів, ран, молоко при маститах, виділення зі статевих органів при ендометриті, кров із яремної вени при септицемії.

З патологічного матеріалу готують мазки, фарбують за Грамом, мікроскопують. Пряма мікроскопія дозволяє дати тільки попередню відповідь. Одночасно проводять посів матеріалу у чашки з кров'яним, молочно-сольовим

і жовтоково-сольовим агаром.

Патогенні штами на кров'яному агарі утворюють навколо колоній зону гемолізу. На чашках із молочно-сольовим агаром враховують утворення пігменту. Для одержання чистої культури і подальшого вивчення матеріал із характерної колонії відсівають на МПА. Чисту культуру мікроскопують, після чого ставлять реакцію плазмокоагуляції з цитратною плазмою крові кролика. При наявності ферменту коагулази плазма згортається. Додатково визначають ДНК-азу і розщеплення маніту в анаеробних умовах.

Виявляють летальні властивості культури на крілях і проводять дерматонекротичну пробу. З цією ціллю у виголену ділянку шкіри кроля вводять внутрішкірно 0,2 мл 2-мільярдної суспензії культури. У позитивному випадку в місці введення утворюється інфільтрат і настає некроз.

S. aureus на відміну від інших видів ферментує маніт навіть в анаеробних умовах. Загибель же кролю свідчить про наявність летальної дії токсину.

При необхідності встановлення джерела виникнення стафілококової інфекції і шляхів її поширення виділені культури піддаються фаготипуванню. Міжнародний набір стафілококових фагів складається з 22 типів, розділених на 4 групи. Ентеротоксини в харчових продуктах і культурах визначають у РДП із стафілококовими антисироватками до ентеротоксинів А, У, С, D, Е, F.

У зв'язку із широким поширенням штамів стафілококів, резистентних до лікарських препаратів, проводять визначення чутливості виділених культур до антибіотиків на щільному середовищі методом паперових дисків. Це дуже важливо для вибору раціональної хіміотерапії.

Імунітет. У здорових тварин є природна резистентність до стафілококової інфекції. Вона обумовлена бар'єрною функцією шкіри, слизових оболонок, фагоцитозом і наявністю специфічних антитіл, синтезованих у результаті схованої імунізації. Також перешкоджає поширенню мікробів в організмі запальна реакція в місці впровадження збудника.

Мит – контагіозне захворювання коней, переважно молодняку (до двох років), що характеризується катарально - гнійним запаленням слизової оболонки верхніх дихальних шляхів, підщелепних і заглоткових лімфатичних вузлів.

Морфологія. Мазки фарбують за Грамом і Романовським-Гімзою. Для *Str. equi* з гною (митний абсцес, носове витікання) характерно розташування довгими ланцюжками сплюснених у поперечнику коків, у мазках з агарової і бульйонної культур збудник має вид коротких ланцюжків, іноді по двох. Капсул і спор не утворюють. Нерухомий. Розмір коків 0,6-1,0 мкм. Грампозитивний.

Культивування. Для виділення чистої культури проводять посів на сироватко-глюкозний агар (на звичайних середовищах не росте).

Через 24 год. на агарі митний стрептокок утворює дрібні, ослизлі, схожі на крапельки роси колонії. Характерно злиття колоній між собою.

На кров'яному агарі ріст у виді дрібних колоній із зоною бета гемолізу.

На середовищі Кітт -Тароцці відзначається ріст дрібними крупинками, що вистилають стінки і дно пробірки, бульйон залишається прозорим.

Біохімічні властивості. Митний стрептокок не згортає просте молоко, лакмусове і метиленове молоко не знебарвлює (не редукує), не ферментує лактозу, сорбіт.

Відсутність ферментації названих вуглеводів дозволяє диференціювати митний стрептокок від гноєродного (*Str. pyogenes*), що зброджує лактозу, згортає молоко, редукує метиленову синь.

Патогенність. Митом хворіє молодняк цілюнокопитних тварин, кішки і миші. Стрептококи, що потрапили на слизову оболонку носа, лімфогенним шляхом досягають підщелепних лімфатичних вузлів. Під впливом коків і їхніх токсинів виникає запалення слизової оболонки, спочатку серозне, а потім слизувате-гнійне.

Митний стрептокок, виділений безпосередньо з гною, вірулентний для жереб'ят, але культури даного стрептокока, отримані з сироваткового або кров'яного агару, авірулентні. *Токсиноутворення* виражене слабо. Причина цього явища не вивчена.

Лабораторна діагностика. Патологічний матеріал (ослизлі витікання з носових отворів, гнійний ексудат або пунктат підщелепних лімфовузлів), відправлений у лабораторію, досліджують по загальній схемі: мікроскопія мазків; посів матеріалу на живильні середовища для виділення чистої культури стрептококів і їхньої ідентифікації. Біологічна проба - на білих мишах, кішках. Останні гинуть від однієї десятимільйонної дози бульйонної культури при підшкірному зараженні протягом 3-10 днів.

Диференціація. Виділену культуру можна ідентифікувати за допомогою митного антивірусу. У даному фільтраті *Str. equi* не ростуть а інші види стрептококів ростуть.

Митний стрептокок на відміну від гнійного стрептокока не ферментує молоко, лактозу, сорбіт.

Імунітет і біопрепарати. Тварини, що перехворіли митом, набувають стійкого імунітету (частіше усього довічний). Вакцини з убитих культур стрептококів не викликають імунітету. Не одержала застосування і противомитна сироватка через її дорожнечу.

Збудник маститу.

Мастит у великої рогатої худоби викликають різноманітні мікроорганізми, але найбільше частим збудником є *Streptococcus agalactiae* (*Streptococcus mastitidis*).

Морфологія. *Str. agalactiae* - дрібні, діаметром 0,5-1 мкм, ледве сплюснені або овальні коки, що розташовуються довгими ланцюжками (декількома десятками коків).

Спор і капсул не утворює. Грампозитивний.

Культивування. Маститний стрептокок аероб. На звичайних живильних середовищах росте слабо. Добре культивується на середовищах із додаванням дефібрінованої крові або кров'яної сироватки.

У сироватковому МПБ росте у виді дрібнозернистого осаду. При цьому середовище залишається прозорим.

На кров'яному МПА утворює дрібні (крапкові) блискучі сіруваті колонії,

оточені зоною гемолізу (гемоліз в-типу).

Біохімічні властивості. Маститний стрептокок не розріджує МПЖ, не знебарвлює метиленове молоко, лакмусове молоко змінює частково.

Ферментує з утворенням кислоти глюкозу, лактозу, сахарозу, мальтозу. Не ферментує сорбіт і дульцин.

Токсиноутворення. Маститний стрептокок продукує токсини: ерітротоксин, гемолізін, некротоксин, лейкоцидін - і ферменти: фібринолізін і гіалуронідазу.

Стійкість. У висушеному гнійному ексудаті зберігається 2-3 міс. При нагріванні до 85°C гине за 30 хв. Заморожування консервує його. Чутливий до окситетрацикліну, поліміксину в сполученні із сульфадимезином. 1% розчин формаліну знешкоджує маститний стрептокок через 10-15 хв.

Патогенність. Найбільше вірулентні стрептококи виявляють у корів, хворих гострим маститом. Гнійний ексудат із вим'я таких тварин у дозі 0,1-0,2 мл убиває мишей при внутрічеревному зараженні протягом доби.

Лабораторна діагностика і диференціація. Матеріалом для дослідження служить молоко маститних корів, що висівають на МПА, МППА і на кров'яний агар.

Отриману культуру ідентифікують з урахуванням морфологічних, культуральних, гемолітичних властивостей і за антигенною структурою, що з'ясовують у реакції дифузійної преципітації в агаровому гелі або методом флюоресцюючих антитіл із специфічними сироватками.

Імунітет. Обумовлений антитоксичними й антибактеріальними чинниками.

Біопрепарати. Їх немає. Для лікування використовують антибіотики і сульфаніламід, що вводять через канал соска в молочну цистерну.

Гнійний стрептокок.

Streptococcus pyogenes викликає у тварин абсцеси, артрити, флегмони, ендометрити, а також септицемію. Виникненню гнійних процесів сприяють знижена опірність організму, невчасна хірургічне опрацювання ран, недотримання правил асептики й антисептики, зайве травмування тканин при дослідженні ран, гіповітамінози й авітамінози.

Морфологія. У мазках *Str. pyogenes* являють собою короткі ланцюжки, що складаються з 3-5 клітин. Грампозитивний. Спор і капсул не утворює.

Культивування. Добре росте на середовищах із глюкозою або сироваткою.

На МПА росте у виді дрібних круглих колоній; на кров'яному агарі навколо колоній *Str. pyogenes* утворюється незначна зона бета-гемолізу.

Біохімічні властивості. Згортає молоко, викликає редукцію лакмусового молока, знебарвлює метиленове молоко. Ферментує лактозу, сорбіт.

Лабораторна діагностика. При бактеріологічному дослідженні матеріалу (гнійний ексудат ран, абсцесів, кров - при підозрі на септицемію) готують мазки. Для виділення чистої культури *Str. pyogenes* проводять посів на живильні середовища.

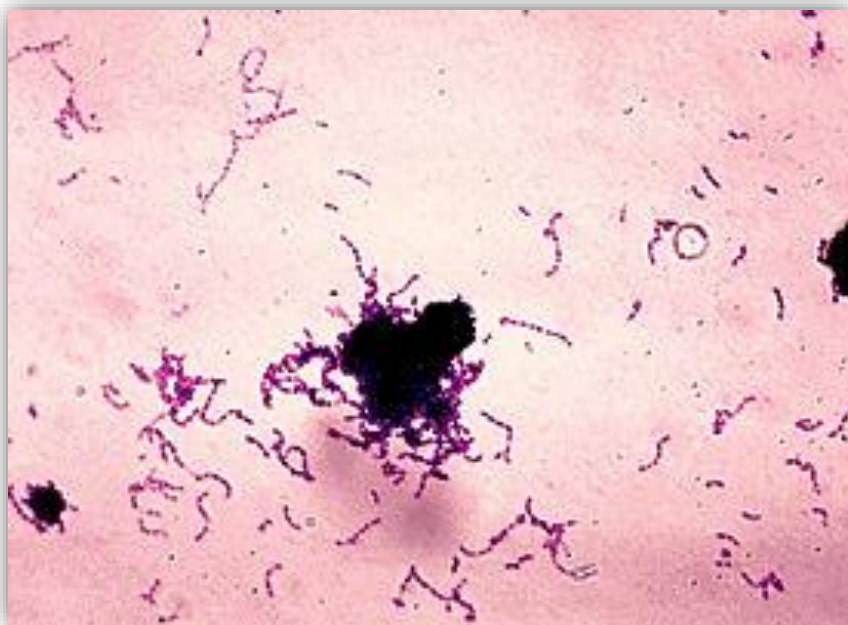


Рис.9.2. *Streptococcus pyogenes* (фарбування за Грамом)

При рості в МПБ утворюється помутніння.

Біопрепарати. Методи активної імунізації не розроблені. Лікування здійснюється за допомогою антибіотиків, частіше в комбінації із сульфаніламидами, за допомогою ферментів, стрептококового бактеріофага й ін.

Збудник диплококової інфекції.

Str. pneumoniae був виділений у 1871 р. Л. Пастером із слини дитини, що загинула від сказу. У чистій культурі пневмококи виділили в 1886 р. Френкель і Вексельбаум, що встановили роль пневмокока в етіології крупозної пневмонії.

Пневмококи широко поширені в природі. У здорових тварин виявляються на слизових оболонках дихальних шляхів, харчотравного тракту, статевих органів. У корів, вівців, свиней, кіз, коней унаслідок порушення зоотехнічних норм утримання і неповноцінної годівлі в період вагітності після родів сховане носіння пневмококів переходить у клінічно виражене захворювання, розвиваються мастити і ендометрити.

Телята, ягнята, поросята, що заразилися від матерів, стають джерелом збудника інфекції для іншого молодняку, що призводить до розвитку ензоотії. Зараження відбувається через шлунково-кишковий тракт і дихальні шляхи. Хвороба характеризується септицемією, ураженням легень (лобулярна пневмонія) і шлунково-кишкового тракту.

Морфологія. У мазках із патологічного матеріалу стрептококи овальної форми і розташовуються попарно або короткими ланцюжками. При хронічних процесах клітини мають форму диплострептококу. Розміри клітин 0.8-1.25 мкм. У мазках із свіжих культур переважає диплококова форма. Нерухомі. Спор не утворюють.

У організмі пневмококи утворюють добре виражену капсулу, що втрачається при культивуванні на штучних живильних середовищах, але

зберігається на середовищах із сироваткою або кров'ю.

Культивування. Пневмококи розмножуються в аеробних і анаеробних умовах при 36–38°C і рН 7,2–7,6. Для їхнього вирощування застосовують середовище, що містять 0,5% глюкози і 5% крові тварин.

На МПА утворюють дрібні прозорі колонії з блакитним відтінком;

- у МПБ - помутніння;

- на сироватковому агарі з'являються дрібні прозорі колонії, що нагадують крапельки роси.

Колонії культур диплококу на кров'яному агарі дрібні, круглі, прозоріше, оточені зоною альфа-гемолізу (зелена зона),

- у напівщільному агарі – пластівчастий ріст,

- у желатині – ріст по уколу без розрідження.

Біохімічні властивості. Ферментують з утворенням кислоти глюкозу, лактозу, сахарозу,

- не ферментують арабінозу і дульцит;

- не утворюють пігменти і індолу.

Токсиноутворення. На напівщільному агарі з кров'ю і мальтозою продукують токсин, що викликає смертельне отруєння котенят при пероральному введенні.

Стійкість. Диплокок мало стійкий. Нагрівання при 55°C викликає загибель культури через 10 хв. В зовнішньому середовищі гине протягом 3–4 тижнів. У якості дезінфектантів використовують формалін, вапно.

Патогенність. Найбільше чутливі до пневмококів білі миші і кролі. Підшкірне введення невеличких доз культури викликає загибель мишей від септицемії протягом 12–36 год.. Патогенними пневмококи є також для великої і дрібної рогатої худоби, собак, пацюків і інших тварин.

Лабораторна діагностика. У лабораторію відправляють трупи молодняку або паренхіматозні органи, трубчасті кістки, суглоби, кров серця в запаєних піпетках, головний мозок. При підозрі на диплококовий ендометрит або мастит у дорослих тварин досліджують виділення зі статевих органів і молоко.

Діагноз ставлять на підставі мікроскопічного дослідження виділення чистої культури і результатів біопроб.

Біопробу ставлять на білих мишах, що після внутрічеревного або підшкірного зараження гинуть через 16–48 годин.

Серологічний метод. Стрептококові антигени в крові виявляють у реакції зв'язування комплекменту з імунними кролячими сироватками; у сечі – у реакції преципітації.

Біопрепарати. Для специфічної профілактики диплококової інфекції використовують напіврідку формолвакцину противодиплококову сироватку, полівалентну формолвакцину проти сальмонельозу, пастерельозу і диплококозу поросят. Застосовують пеніцилін, біоміцин, тетрациклін, окситетрациклін, поліміксін, що є ефективними засобами проти диплококів як при гострих септичних випадках, так і при підгострих, хронічних і ускладнених пневмонією.

9.2. ПРАКТИЧНА ЧАСТИНА

9.2.1. Лабораторна діагностика стафілококозів та стрептококозів

Мета заняття. Засвоїти відбір патологічного матеріалу при гнійно-запальних процесах для направлення на дослідження в лабораторію. Ознайомитися з живильними середовищами, методами виділення і культивування стафілококів та стрептококів.

Матеріальне забезпечення: Проби молока від хворої на мастит корови, гнійний ексудат, культури стафілококів на МПА, пробірки з МПБ, МПЖ, чашки Петрі з МПА, ЖСА, кров'яний МПА, середовища Гіса з манітом, набір для фарбування за Грамом, предметні скельця, пастерівські піпетки. Для демонстрації: таблиці – морфологія стафілококів та стрептококів, таблиці–схеми – порядок бактеріологічного дослідження стафілококів та стрептококів.

Зміст заняття:

Мастит - у великої рогатої худоби викликають різноманітні мікроорганізми, але найбільш частим збудником є *Streptococcus agalactiae* (*Streptococcus mastitidis*) та *Staphylococcus aureus*.

Мит - контагіозне захворювання коней, переважно молодняку (до двох років), що характеризується катарально - гнійним запаленням слизової оболонки верхніх дихальних шляхів, підщелепних і заглоткових лімфатичних вузлів. Збудник - *Streptococcus equi*.

Гнійний стрептокок. *Str. pyogenes* викликає у тварин абсцеси, артрити, флегмони, ендометрити, а також септицемію. Виникненню гнійних процесів сприяють знижена опірність організму, невчасна хірургічна обробка ран, недотримання правил асептики й антисептики, зайве травмування тканин при дослідженні ран, гіповітамінози й авітамінози.

Стрептококоз птахів – захворювання з гострим перебігом, для якого характерним є депресія, ураження нервової системи, виснаження, у птиці – втрата несучості. Збудники: *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus equi subsp. zooepidermicus*.

Диплококова септицемія (пневмококова інфекція, септицемія молодняка) перебігає у легеневій або кишковій формах. Телята хворіють у віці 2- 4 тижні або в перші дні після народження а також у віці декількох місяців.

Патологічним матеріалом при стафілококових та стрептококових інфекціях є ексудат з рани, гній, при маститі – проби молока.

Ексудат з рани беруть стерильним ватним тампоном, який скручений на кінці палички; другий кінець палички вмонтований в ватний корок і вставлений у пробірку. При взятті проби матеріалу пробірку відкривають, тампон виймають (за паличку), пропитують гноєм і знову вставляють у пробірку, запаковують для відправки у лабораторію. Якщо абсцес невідкритий, гній беруть асептично: поверхню абсцесу дезінфікують, далі проводять прокол стерильною товстою гострою голкою на шприці і вміст виливають у стерильну пробірку, закривають корком і відправляють у лабораторію.

На МПА через 24 - 48 год. утворюються випуклі, непрозорі, з золотистим пігментом колонії S – форми, діаметром 2 - 4 мм (рис.9.3).



176

На ЖСА *S. aureus* на відміну від *S. epidermidis* і *S. saprophyticus* завдяки лецитинази утворює зону лізису (рис.9.4).



Рис.9.4. *Staphylococcus aureus* на ЖСА

На Байрд - Паркер агарі колонії *S. aureus* мають чорне забарвлення і оточені прозорою зоною (рис.9.5).



Рис. 9.5. *Staphylococcus aureus* на Байрд - Паркер агарі

На кров'яному агарі патогенні штами стафілококів утворюють значну зону гемолізу (рис.9.6).

Патогенність виділених культур стафілокока підтверджують:

- 1) шляхом визначення гемолітичної активності при культивуванні штамів на кров'яному МПА;
- 2) постановкою реакції плазмокоагуляції;
- 3) виявленням в фільтратах бульйонних культур летального й некротизуючого токсинів;



Рис. 9.6.. *Staphylococcus aureus* на кров'яному агарі

4) визначенням ДНК-азної активності;

5) гідроліз маніту на середовищі Гісса в анаеробних умовах.

Реакцію плазмокоагуляції ставлять у двох преципітатних пробірках, що містять по 0,5 мл цитратної плазми крові кролів, розведеної фізіологічним розчином у співвідношенні 1:4. В першу пробірку висівають досліджувану культуру стафілокока, другу залишають контрольною. Пробірки поміщають у термостат при температурі 37°C. Патогенні стафілококи через 2–10 год. коагулюють плазму. Якщо пробірки залишити в термостаті довше, то під дією фібринолітичного ферменту згусток плавиться (рис.9.7).

Біологічну пробу ставлять на кролях або кошенятах. Для виявлення дермонекротоксину культуру стафілокока, вирощену на МПБ з концентрацією 2 млрд. клітин в 1 мл, вводять у товщу шкіри кролю в дозі 0,2 мл. В позитивних випадках через 24-48 год. спостерігається некроз шкіри.

Наявність летального токсину можна доказати шляхом внутрішньовенного введення фільтрату бульйонної культури стафілокока кролям в дозі 0,75 мл на 1 кг маси тіла. Під дією названого токсину тварини гинуть через 15 хв.

Кошенята досить чутливі до орального введення стафілококового ентеротоксину.

Завдання 4. Вивчити культуральні та біохімічні властивості стрептококів.

З патологічного матеріалу посіви здійснюють на глюкозо – сироватковий



Рис. 9.7. Реакція плазмокоагуляції

бульйон та глюкозо – кров'яний МПА. Засіяні пробірки витримують у термостаті при температурі 37 - 38°C протягом 18 - 24 год.

На глюкозо – кров'яному МПА стрептококи утворюють дуже дрібні колонії росин частого типу, S - форми, прозорі, оточені зоною гемолізу. Залежно від типу гемолізу стрептококи поділяють на три групи: α – гемолітичні – колонії оточені зеленуватою зоною, що є ознакою неповного гемолізу; β – гемолітичні - зумовлюють повний гемоліз, у зв'язку з чим навколо колоній утворюється прозора зона; γ - стрептококи – гемолізу не утворюють.

В глюкозо – сироватковому бульйоні більшість стрептококів росте ближче до дна з поступовим підніманням по стінці пробірки та зумовленням незначного помутніння.

Стрептококи диференціюють не лише за гемолітичною активністю, а й з урахуванням їх здатності культивуватись на середовищі з жовчу, підвищеним вмістом хлористого натрію, а також ферментативними властивостями. Митний стрептокок не згортає просте молоко, лакмусове і метиленове молоко не знебарвлює (не редукує), не ферментує лактозу, сорбіт. Відсутність ферментації названих вуглеводів дозволяє диференціювати митний стрептокок від гнійного (*Str. pyogenes*), що зброджує лактозу, згортає молоко, редукує метиленову синь.

Маститний стрептокок не розріджує МПЖ, не знебарвлює метиленове молоко, лакмусове молоко змінює частково. Ферментує з утворенням кислоти глюкозу, лактозу, сахарозу, мальтозу. Не ферментує сорбіт і дульцин.

Для постановки біопроби використовують культури стрептококів, вирощені на глюкозо - сироватковому бульйоні. Трьом білим мишам в черевну порожнину вводять 0,5 мл культури. Виділену культуру стрептокока вважають патогенною, якщо вона спричиняє смерть не менше двох мишей протягом однієї - двох діб. Із внутрішніх органів загиблих тварин повинна виділятися початкова культура.

Питання для самоконтролю:

1. Відбір патологічного матеріалу при стафілококових та стрептококових інфекціях.
2. Морфологічні і тінкторіальні властивості стафілококів та стрептококів.
3. Культуральні і ферментативні властивості стафілококів.
4. Культуральні і ферментативні властивості стрептококів.
5. Методи виявлення патогенних стафілококів.
6. Методи виявлення патогенних стрептококів.
7. Які захворювання у тварин зумовлюють стрептококи?
8. Особливості бактеріологічної діагностики стрептококозів та стафілококозів.
9. Збудник миту і його морфологія.
10. Бактеріологічна діагностика миту.

9.3. ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ

1. Яке живильне середовище використовують для ідентифікації патогенних і непатогенних стафілококів?

А. МПА з кристалвіолетом	Б. Гісса з манітом
В. Кітта – Тароцці	Г. Агар Ендо

2. Грампозитивні коки у вигляді виноградного грона – це:

А. <i>Staphylococcus aureus</i>	Б. <i>Streptococcus agalactiae</i>
В. <i>Streptococcus pneumoniae</i>	Г. <i>Listeria monocytogenes</i>

3. Збудник мити:

А. <i>Streptococcus pneumoniae</i>	Б. <i>Streptococcus equi</i>
В. <i>Streptococcus saprophyticus</i>	Г. <i>Staphylococcus aureus</i>

4. Назвіть диференційно-діагностичне середовище для *Staphylococcus aureus*

А. МПА	Б. ЖСА	В. агар Цейслера	Г. Ендо

5. Назвіть коки, що спроможні рости при 15% хлориду натрію або 40% жовчі

А. <i>Staphylococcus aureus</i>	Б. <i>Staphylococcus epidermidis</i>
В. <i>Staphylococcus pneumoniae</i>	Г. <i>Listeria monocytogenes</i>

6. Синтезує золотистий або жовтогарячий пігмент

А. <i>Staphylococcus aureus</i>	Б. <i>Staphylococcus epidermidis</i>
В. <i>Staphylococcus pneumoniae</i>	Г. <i>Listeria monocytogenes</i>

7. На звичайних середовищах не росте:

А. <i>Streptococcus pneumoniae</i>	Б. <i>Streptococcus equi</i>
В. <i>Streptococcus saprophyticus</i>	Г. <i>Staphylococcus aureus</i>

8. Мастит у великої рогатої худоби викликають найбільше часто:

А. <i>Streptococcus pneumoniae</i>	Б. <i>Streptococcus equi</i>
В. <i>Streptococcus saprophyticus</i>	Г. <i>Streptococcus agalactiae</i>

9. Збудник диплококової інфекції:

А. <i>Streptococcus pneumoniae</i>	Б. <i>Streptococcus equi</i>
В. <i>Streptococcus saprophyticus</i>	Г. <i>Staphylococcus aureus</i>

10. Який токсин продукує *Staphylococcus aureus* у молоці?

А. Екзотоксин	Б. Ентеротоксин
В. Ендотоксин	Г. Гіалуронідаза

ТЕМА 10. ПАТОГЕННІ ПАЛИЧКОПОДІБНІ АСПОРОГЕННІ БАКТЕРІЇ

10.1. ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА

10.1.1. Патогенні ешерихії і сальмонели

Збудник колібактеріозу - *Escherichia coli* уперше виділив у 1885 р. Т. Ешерихом із фекалій хворої дитини. Відповідно до визначника Бергі (1984), рід *Escherichia* внесений у п'яту секцію, сімейство *Enterobacteriaceae*.

E. coli – постійний мешканець товстого кишечника людини, ссавців, птахів і риб.

Колібактеріоз (колієнтерит, колісептицемія, ешерихіоз, коліінфекція) - інфекційна хвороба молодняку сільськогосподарських тварин, включаючи птахів і хутрових звірів. Збудник хвороби – патогенні серологічні варіанти *E. coli*. Хвороба протікає в септичній, ентеротоксимічній та ентеритній формах. У поросят відлучного віку хвороба іноді виявляється у вигляді набрякової форми при 100%-вій летальності. У молодняку птахів колібактеріоз протікає переважно в септичній, а в дорослих – у хронічній формах.

Морфологія. *E. coli* – поліморфні палички з закругленими кінцями довжиною 1-3 і шириною 0,3-0,6 мкм. Розташовуються поодинокі, рідше парно. За Грамом фарбуються негативно, спор не утворюють, окремі серовари (O8, O9, O101) утворюють капсули, рухливі (перитрихи), але зустрічаються і нерухомі.

Культуральні властивості. *E. coli* аероб або факультативний анаероб, оптимальна температура росту 37-38°C, рН середовище 7,0-7,4. Добре росте на звичайних живильних середовищах - МПА, МПБ, середовищах Ендо і Левіна.

На МПА через 24 год. з'являються соковиті, круглі, із рівними краями і гладкою поверхнею (S-форма) сіро-білого кольору колонії.

У МПБ - інтенсивне помутніння середовища і наявність незначного осаду, що легко розбивається при струшуванні.

На середовищі Ендо *E. coli* утворює два типи колоній: темно-вишневого кольору з металевим блиском і малиново-червоні з рожевим ободком, діаметром 2-3 мм.

На середовищі Левіна колонії темно-фіолетові або чорні.

Біохімічні властивості. *E. coli* має високу ферментативну активність.

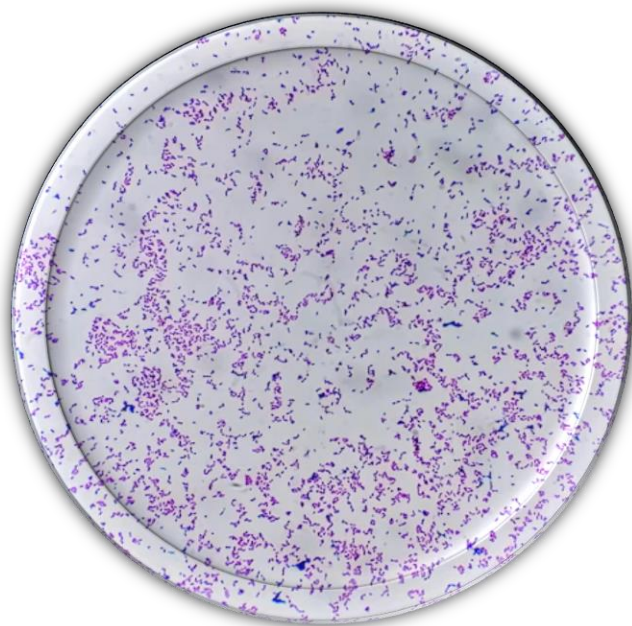


Рис.10.1. *Escherichia coli*
(фарбування за Грамом)

Цукролітичні властивості: ферментує з утворенням кислоти і газу глюкозу, лактозу, маніт. Сахарозу і дульцит ферментує не постійно.

Протеолітичні: Утворює індол, не утворює сірководень, желатинів не розріджує. Сечовину не розщеплює.

На середовищі Сіммонса не росте, дає позитивну реакцію з метиловим червоним (яскраво-рожевого кольору), негативну реакцію Фогеса - Проскауэра (середовище жовтого кольору).

Антигенна структура. У *E. coli* складна антигенна структура. Клітина містить три види антигенів: О-антиген- соматичний, К-антиген - капсульний, і Н-антиген - джгутиковий.

О-антиген являє собою термостабільний ліпополіцукридно-білковий комплекс, що не руйнується при нагріванні до 100⁰С, білковий компонент його обумовлює імуногенні властивості, ліпоїдний - токсичність (ендотоксин), поліцукридний - серологічну специфічність.

К-антиген - поліцукрид.

Н-антигени, або джгутикові, мають білкову природу, характеризуються серологічною відособленістю.

Крім цього, ешерихії мають поверхневі структури, названі фімбріями або ворсинками пілі (pili). Деякі ворсинки (пілі) є чинниками колонізації тонкого кишечника, тобто за рахунок ворсинок відбувається адгезія (прикріплення) до інших клітин. Антигенну будову ешерихій прийнято виражати формулою, за літерним позначенням кожного антигену йдуть цифра, що відокремлюються двокрапкою, наприклад: O55:K59:H6; O111:B5:H10. Відомо біля 170 серогруп ешерихій, що розрізняють за О-антигеном, 100 різноманітних варіантів К-антигенів і біля 60 типів Н-антигенів. Основою антигенно-діагностичної схеми ешерихій є поділ їх по О-антигену. Біопромисловість для ветеринарних цілей випускає аглютинуючі О-колісироватки для визначення серогрупової належності.

Стійкість. Ешерихії – стійкі до впливу чинників зовнішнього середовища. У ґрунті вони зберігають життєдіяльність від 6 до 11 міс., у гної - до 11 міс., у воді – до 300 днів. Чутливі – до впливу високої температури. При нагріванні середовище до 60⁰С гинуть протягом 10хв., при 100⁰С – миттєво. Згубно діють багато дезінфікуючих речовин: 2 %-вий розчин активного хлору, 2,5 %-вий розчин формальдегіду.

Стійкість до антибіотиків. Ешерихії в більшості випадків дуже чутливі до дії гентаміцину, ампіциліну, менше чутливі до тетрацикліну, стрептоміцину, | пеніциліну, нітрофурановими і сульфаніламідним препаратами.

Патогенність. Патогенні властивості в ешерихій обумовлюються наявністю ендотоксину, ентеротоксинів, гемолізину, адгезією і виділенням коліцинів. Ендотоксин являє собою соматичний антиген (О-антиген), викликає: запальні процеси в кишечнику, некроз слизової оболонки, діарею, лейкопенію й ін.

Ешерихії продукують два типи ентеротоксинів (екзотоксинів) – термостабільний (ТС) і термолабільний (ТЛ). Термостабільний токсин низькомолекулярний, не володіє антигенними властивостями. ТЛ- токсин –

речовина білкової природи, імуногенен, володіє нейтротропним і некротизуючими властивостями. Деякі штами ешерихій утворюють обидва токсини одночасно або тільки який-небудь один. Окремі серовари продукують гемолізини, що лізують еритроцити крові.

Багато патогенних і деякі непатогенні штами ешерихій утворюють коліцини – речовини білкової природи, що припиняють ріст і розвиток філогенетично родинних бактерій. Відомо більш 25 різноманітних коліцинів, що позначаються заголовними буквами латинського алфавіту - А, У, С, тощо. вважають, що коліциногенність у патогенних ешерихій сприяє їхньому поширенню в кишечнику і тому може розглядатися як один із чинників патогенності.

Патогенез. Основні шляхи зараження – аліментарний і аерогенний. Основні форми колібактеріозу: септична, ентеротоксемічна, ентеритна.

Септичну форму колібактеріозу обумовлюють штами ешерихій, що не володіють адгезивними антигенами. Вірулентність цих штамів пов'язана з наявністю капсульних антигенів, що забезпечують проникнення цих бактерій у лімфатичну систему, а потім у кров і органи, де вони добре розмножуються. При розмноженні і розвитку ешерихії частково руйнуються, вивільнюються ентеротоксини, що призводить до шоку, який супроводжується швидко наступаючою слабкістю, судинним колапсом. Септична форма характеризується гострим перебігом з високою летальністю.

Ентеротоксемічна форма хвороби обумовлюється ентеротоксигенними ешерихіями, що прикріплюються за допомогою адгезивних антигенів до поверхні ентероцитів тонкого кишечника, розмножуються і продукують ентеротоксини. При накопиченні ентеротоксинів підвищується активність кишкової гуанілциклази, що обумовлює гіперсекрецію рідини й електролітів у просвіток кишечника, виникає діарея, розвивається токсикоз.

Ентеритна форма колібактеріозу пов'язана з впровадженням в організм інвазивних форм ешерихій, що володіють слабкою рухливістю. Вони проникають у слизову оболонку тонких кишок, розмножуються. При руйнації їх утворюються ендотоксини, що викликають діарею.

Лабораторна діагностика. Для бактеріологічного дослідження в лабораторію спрямовують свіжий труп або тяжко хвору тварину. Якщо доставити труп неможливо, те посилають голову (головної мозок), трубчасту кістку, селезінку, частку печінки з жовчним пухирем, в окремому посуді - уражений відрізок тонкого кишечника. Для діагностики колібактеріозу птиць крім свіжих трупів відправляють 5-6 хворих птиць.

Бактеріологічне дослідження. У перший день роблять посіви з патологічного матеріалу в МПБ, на МПА і на чашки із середовищем Ендо або Левіна, готують і мікроскопують мазки.

На другий день переглядають середовища, роблять відвивку колоній у МПБ і після 4 год. інкубування в термостаті роблять посів на середовища із вуглеводами і на МПА для готування антигену і зараження білих мишей.

На третій день готують і досліджують під мікроскопом мазки, попередньо з огляду на ферментативні властивості. Потім заражають білих

мишей, готують антиген і ставлять реакцію для визначення серогрупової належності.

На четвертий день враховують результати біопроби і розгорнутої реакції аглютинації. Визначають чутливість культур до антибіотиків.

На п'ятий день - результати біопроби і чутливості культур до препаратів. На шостий-сьомий день підводять остаточні результати біопроби. Вивчають ферментативні властивості культур. Оформляють експертизу.

Культура ешерихії рахується патогенною у випадку загибелі однієї або більш мишей протягом 2 діб після зараження або при загибелі в перші 4 дня після зараження одного або більш курчати.

Бактеріологічний діагноз на колібактеріоз у ссавців вважають установленим при виділенні культур ешерихій із селезінки, кісткового або головного мозку без визначення їхньої патогенності і серологічної належності. При виділенні не менше чим із двох органів тварини культур ешерихій, патогенних для білих мишей У птиць – при виділенні патогенних для курчат ешерихій з кісткового мозку, крові або печінки.

Імунітет і засоби специфічної профілактики. Відомо, що у новонароджених імунітет не в змозі забезпечити захист від патогенних ешерихій. Тому в неблагополучних господарствах із метою створення колострального імунітету щеплюють тільних корів, супоросних свиноматок, суягних вівців. За 1-2 міс. до розтелу, опоросу, окоту вводять формолтіомерсалову вакцину відповідно до настанови.

У хутрових із метою створення колострального імунітету щеплюють полівалентною вакциною проти сальмонельозу і колібактеріозу. Ця вакцина використовується і для створення активного імунітету у тварин старшого віку.

У птиць для створення імунітету аерозольно щеплюють батьківське поголів'я інактивованою вакциною проти колібактеріозу за 7-10 днів до узяття від курок яєць на інкубацію. Пасивний імунітет у курчат, отриманих із яєць щеплених курок, зберігається до 20 днів. Надалі курчат і дорослу птицю щеплюють із метою одержання активного імунітету аерозольно або перорально відповідно до настанови.

Для профілактики і терапії колібактеріозу використовують полівалентну імунну сироватку відповідно до настанови. З метою профілактики застосовують бактеріофаг проти паратифу і колібактеріозу за схемою протягом декількох днів

Збудник сальмонельозу.

Сальмонели об'єднані у великий рід *Salmonella*, який нараховує кілька сотень сероваріантів. Цей рід названо на честь американського мікробіолога Сальмона, який у 1885 р. виділив з органів свиней, що пали від чуми, мікроб, названий пізніше *Bact. suipestifer*. У 1888 р. Гертнер при з'ясовуванні етіології отруєнь людей виявив той самий мікроб у м'ясі корови і селезінці мертвої людини. Він був названий *Bact. enteritidis*. У 1892 р. Леффлер виділив від полеглих мишей мікроб, що одержав назву *Bact. typhimurium*. На честь Сальмона мікроорганізм, виділений їм, був названий сальмонелою, а харчове отруєння, що викликається мікробом, – сальмонельозом.

В даний час відомо більш 2 тис. сероваріантів сальмонел, об'єднаних в один рід - *Salmonella*. Рід включений у сімейство *Enterobacteriaceae*.

Сальмонельози – група інфекційних хвороб переважно молодняку сільськогосподарських і промислових тварин (телят, поросят, жереб'ят, ягнят, хутрових, птиць).

Морфологія. Сальмонели – дрібні палички з заокругленими кінцями від 1 до 4 мкм довжини і 0,3-0,8 мкм ширини, у мазках розташовуються поодинокі, рухливі (за винятком *S. pullorum-gallinarum*), спор і капсул не утворюють, за Грамом фарбуються негативно.

Культуральні властивості. Сальмонели – аероби і факультативні анаероби, оптимальна температура росту 37°C, рН середовище 7,0-7,2, проте вони можуть рости і при рН нижче 7,0 і до 8,0 і вище. Добре ростуть на звичайних живильних середовищах: МПА, МПБ, середовищах Ендо, Левіна, Плоскірева, вісмут-сульфатному агарі й ін.

На МПА утворюють невеличкі, діаметром від 1 до 4 мм, колонії круглі, із рівними краями, сіро-білого кольору з блакитнуватим відтінком. У деяких видів сальмонел по краю колонії є опуклий ослизлий вал.

На середовищі Ендо – колонії прозорі, рожевого кольору.

На середовищі Левіна – прозорі, з блакитним відтінком.

На середовищі Плоскірева – безбарвні, щільні, злегка мутнуваті.

На вісмут-сульфатному агарі – чорного кольору з металевим блиском.

У МПБ – інтенсивне помутніння, на дні пробірки осад сіро-білого кольору, на поверхні середовища – іноді тонка плівка.

Біохімічні властивості. Сальмонели не ферментують сахарозу, не розкладають лактозу, не розщеплюють саліцин і сечовину, не утворюють індолу, утворюють сірководень, реакція Фогеса - Проскауера негативна, реакція з метиловим червоним позитивна. Глюкозу ферментують усі типи сальмонел з утворенням газу, проте зустрічаються штами *S. typhimurium*, *S. typhisuis*, *S. abortusequi*, *S. dublin*, *S. anatum*, *S-gallinarum*, що розкладають глюкозу без утворення газу. Більшість сальмонел ферментують манніт.

Антигенна структура. Вона представлена соматичним, або О-антигеном, джгутиковим, або Н-антигеном.

На підставі спільності соматичних антигенів сальмонели об'єднані в серологічні групи, що позначені прописними буквами латинського алфавіту: А, У, С, D і ін. Усього 14 основних серологічних груп. У лабораторіях використовується діагностична схема Кауфмана - Уайта, побудована на аналізі О- і Н-антигенів. Відповідно до особливостей структури О-антигенів у цій схемі виділені 50 О-груп. Для визначення серовару сальмонел біофабрики випускають полівалентні О-сироватки, О-моносироватки, а також монорецепторні Н-сироватки. Сироватки використовують у реакції аглютинації на склі.

Стійкість. Сальмонели стійкі до впливів зовнішнього середовища. При температурі 60°C гинуть протягом 1 год., при 100°C – миттєво. У ґрунті й інших об'єктах зовнішнього середовища зберігаються від 30 до 270 днів, у трупах – до 100 днів, у відкритих водоймах і питній воді – від 11 до 120 днів,

у замороженому м'ясі – від 6 до 13 міс., у ковбасних виробках – від 60 до 130 днів. у яйцях – до 13 міс., у яєчному порошку – до 9 міс., на заморожених овочах і фруктах – від 2 тижнів до 2,5 міс. Дезінфікуючі речовини (2% розчин фенолу, натрію, 2%-розчин активного хлору, 2 розчин формальдегіду) вбивають сальмонел протягом 15-20 хв..

Сальмонели чутливі до гентаміцину, неоміцину, тетрацикліну, левоміцетину, стрептоміцину.

Патогенність. Патогенні властивості сальмонел обумовлюються утворенням двох видів токсичних продуктів життєдіяльності – екзотоксину і ендотоксину.

Патогенез. Основні шляхи зараження – аліментарний і аерогенний, можливо внутрішньоутробне зараження. Сальмонели спочатку розмножуються в тонкому кишечнику, потім через кишкові ворсинки проникають у лімфатичну систему, кров, током крові розносяться в паренхіматозні органи, де розмножуються. Відбувається накопичення маси бактерій, при розпаді яких визволяються токсини (ендотоксини), що викликають запальні, дистрофічні, некробіотичні й інші зміни в тканинах органів, крововиливи в них. Хворі тварини виділяють сальмонели в основному з фекаліями і сечею, птиця - із поносом, яйцями.

У тварин сальмонельози виявляються у виді первинних і повторних сальмонельозів і бактеріоносійства.

Бактеріоносії сальмонел – тварини, що, будучи клінічно здоровими, виділяють сальмонел із фекаліями, сечею. Вони надають особливу небезпеку не тільки як джерело інфекції для молодняку, але і як джерело токсикоінфекції для людей у випадку споживання в їжу продуктів від таких тварин.

Лабораторна діагностика. Бактеріологічна прижиттєва діагностика заснована на дослідженні крові в перші 4 дня захворювання, носового слизу і фекалій. Для серологічного дослідження з метою виявлення специфічних антитіл посилають сироватку крові.

Посмертно в лабораторію надсилають свіжий труп дрібних тварин, у тому числі птиць, від трупів великих тварин – паренхіматозні органи або частини їх (печінка з жовчним пухирем), селезінку, нирку, трубчасту кістку, від телят – змінені ділянки легень; у випадку абортів – свіжий плід.

Отриманий матеріал засівають у МПБ, на МПА і диференціальні середовища – Ендо, Плоскірева або вісмут-сульф агар. Сироватку крові досліджують у РА із сальмонельозним антигеном для встановлення титру специфічних антитіл.

Отримані на середовищах культури диференціюють і ідентифікують на підставі культуральних, морфологічних, біохімічних і антигенних властивостей.

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*.

Збудники сальмонельозу телят.

У телят хвороба протікає гостро і хронічно з наявністю лихоманки, розлади функції кишечника, запалення легень. Основні збудники *S. dublin*, а також *S. enteritidis* і *S. typhimurium*.

Імунітет і засоби специфічної профілактики. Після перехворювання в телят формується напружений і тривалий імунітет. У стаціонарно неблагополучних по сальмонельозу господарствах щеплюють тільних корів дворазово з 8-денним інтервалом за 30-45 днів до розтелу. Телята з молозивом одержує специфічні антитіла (колостральний імунітет). Телят, отриманих від щеплених корів, імунізують у віці 17-20 днів. Якщо не щеплюють тільних корів, то телят від них щеплюють із 8-10-денного віку дворазово з інтервалом у 7 днів.

Збудники сальмонельозу свиней.

Сальмонельоз частіше уражає поросят до 4-місячного віку. Хвороба супроводжується лихоманкою, діареєю і дегенеративними процесами в тонкому і товстому кишечниках. Збудники - *S. choleraesuis* або *S. typhisuis*, рідше *S. typhimurium* і *S. dublin*.

Імунітет і засоби специфічної профілактики. Після перехворювання у поросят формується стійкий і тривалий імунітет. З профілактичною ціллю в неблагополучних господарствах використовують формолвакцину проти паратифу поросят, приготувану зі штамів сальмонел: *S. choleraesuis*, *S. typhimurium*, *S. dublin*.

Збудники сальмонельозу вівців.

У ягнят сальмонельоз протікає при наявності проносів, підвищенні температури, іноді з пневмонією, у дорослих вівців – абортів за місяць до окоту. Збудник - *S. abortusovis*, іноді *S. typhimurium*, *S. anatum*.

Імунітет і засоби специфічної профілактики. У вівців, що абортували, формується тривалий і напружений імунітет. З метою профілактики в неблагополучних господарствах використовують полівалентну формолтіомерсолову вакцину.

Збудники сальмонельозу птиць.

У молодняку птиць сальмонельози протікають гостро і супроводжуються проносом і нервовими явищами. У дорослої птиці хвороба часто перебігає латентно, рідше як ензоотія, що характеризується септичним плином, розладом діяльності кишечника.

Збудники - *S. gallinarum-pullorum*, *S. typhimurium*, рідше *S. enteritidis*, *S. anatum* і ін. *S. gallinarum-pullorum* викликає пулороз (тиф) птиць – захворювання з гострим і підгострим перебігом з високою летальністю. У дорослої птиці пулороз частіше протікає безсимптомно.

Імунітет. При цій хворобі він не стерильний. Засобів специфічної профілактики немає. З метою масового обстеження птиці і виявлення сальмонелозносіїв застосовують крові-крапельну реакцію аглютинації.

Протей.

Бактерії роду *Proteus* уперше виділив Г. Хаузер у 1885 р. Протеуси широко поширені в природі, виділяються з ґрунту, стічних вод, гною, живуть

часто в організмі тварин і людини. Бактерії належать до умовно-патогенних; вони спроможні викликати харчові і кормові токсикоінфекції у людини і тварин. Крім того, бактерії деяких видів викликають нагноєння ран, ентерит, перитоніт і сепсис.

Бактерії роду *Proteus* входять у сімейство *Enterobacteriaceae*. Існує декілька видів: *P. vulgaris*, *P. mirabilis*, *P. mxyofaciens*.

Морфологія і культуральні властивості. Бактерії усіх видів цього роду – дрібні поліморфні палички від 1 до 3 мкм довжини, 0,3-0,5 мкм ширини, рухливі (перитрихи), грамнегативні, капсул і спор не утворюють. Факультативні анаероби, добре ростуть на простих живильних середовищах при 20-37°C.

На МПА - характерний ріст, що зливається, без утворення окремих колоній (феномен роїння). Культури видають гнильний специфічний запах.

У МПБ - інтенсивне помутніння, наявність тонкої плівки на поверхні середовища.

При посіві в конденсаційну воду скошеного агару – ріст по всій поверхні середовища (засіб виділення чистої культури по Шукевичу).

Ферментують мальтозу, ксилозу, саліцин, глюкозу; не ферментують лактозу і маніт, розріджують желатин, мінливо утворюють індол, гідролізують сечовину.

Антигенна структура. Протеї містять О- і Н-антигени. Відомо більш 150 О-антигенів і біля 80 Н-антигенів

Патогенність. Патогенні властивості протей пов'язані з виділенням нейротоксину, уреаз, антикоагулази, а також з утворенням ендотоксину. Протеуси виявляють патогенні властивості при ослабленні природної резистентності, особливо серед молодняку сільськогосподарських тварин. Постійно виділяються культур в асоціації з патогенними ешеріхіями при колібактеріозі.

Лабораторна діагностика. Дослідженню піддають фекалії, блювотні маси, уміст кишечника, у випадку загибелі від сепсису – паренхіматозні органи. Посіви роблять на МПА, у МПБ, посів у конденсаційну краплю пробірки з МПА (по Шукевичу). Виділену культуру типують спочатку з О-, а потім із Н-сироватками і визначають серовар.

10.1.2. Збудники бешихи свиней і лістеріозу

Бешиха свиней – гостра інфекційна хвороба. Характеризується ознаками септицемії, ериматозними явищами шкіри, при хронічному перебігу – ендокардитом, запаленням суглобів.

Збудник *Erysipelotrix rhusiopathiae*, відкрив Лефлер у 1885 р.

Морфологія. Збудник бешихи свиней має вигляд тоненької прямої або ледь зігнутої палички 0,5-1,5 мкм довжиною і 0,2-0,3 мкм діаметром. У мазках із старих бульйонних культур та з уражених клапанів серця хворих тварин виявляють видовжені ниткоподібні клітини. Спор і капсул не утворює. Нерухливий. Легко фарбується аніліновими фарбами. Грампозитивний.

Культуральні властивості. Факультативний анаероб. Краще росте в мікроаерофільних умовах. Росте на звичайних живильних середовищах. Оптимальна температура 36-37°C, pH середовища – 7,2-7,6.

На МПА формуються дрібні колонії-росинки S-форми. Зрідка, зокрема при посівах патологічного матеріалу від перехворілих з хронічним перебігом захворювання, утворюються колонії L-форми. Останні дещо більші, мають шорстку поверхню та нерівні з коренеподібними відростками краї.

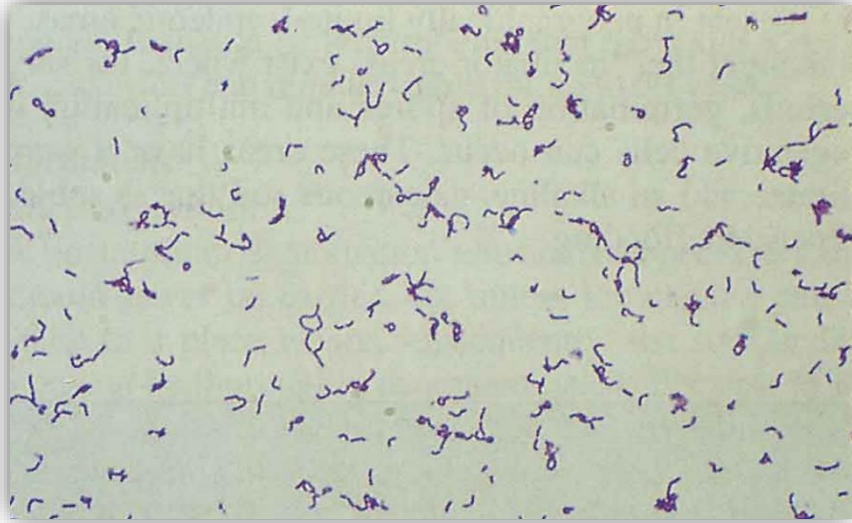


Рис.10.2. *Erysipelotrix rhusiopathiae* (фарбування за Грамом)

В мазках, зроблених з колоній S-форми збудник має вигляд дрібних грампозитивних паличок, а в препаратах з колоній R-форми – ланцюгів або ниток, нерідко грамнегативних.

На МПБ спостерігається слабе помутніння, утворюється незначний осад, який при легкому струшуванні піднімається у вигляді хмаринки.

При посіві уколом у стовпчик МПЖ через 6-10 діб спостерігається сірувато-білий стрижень, від якого горизонтально відходять ніжні відростки, що нагадує лампову щітку. Желатин не розріджується.

Біохімічні властивості. Збудник бешихи свиней ферментує з утворенням кислоти без газу глюкозу й лактозу. Маніт та цукрозу не змінює. Виділяє сірководень, індолу не утворює, желатин не розріджує.

Антигенна структура *E. rhusiopathiae* має груповий (термолабільний) та видовий (термостабільний) антигени. За даними серологічного дослідження збудник бешихи свиней поділяється на три антигенні групи А, В та N. Від хворих свиней виділяють переважно сероваріант А. Сероваріант В містить у своєму складі гемаглютинуючий та розчинний імуногенний антигени. Загальним видовим є антиген N.

Резистентність. Збудник бешихи свиней досить стійкий проти несприятливих факторів зовнішнього середовища. В ґрунті він може зберігатися до 8 міс, у трупах тварин до 4 міс, у водопровідній воді понад 3 міс. До 6 міс збудник виживає у засоленій свинині, майже 3 – у копченостях.

Соління та копчення продуктів від свиней його не вбиває. При 70°C він гине за 3-5 хв., при 100°C – за кілька секунд. Прямі промені сонця вбивають збудники протягом 10-12 днів. Збудник чутливий до 2-3%-них розчинів гідроксиду натрію та формальдегіду, 10%-ного хлорного вапна, 20%-ної суспензії свіжо-гашеного вапна.

Патогенність. Найбільш чутливі до *E. rhusiopathiae* молоді свині віком 3-12 міс. Зрідка хворіють також вівці, велика рогата худоба, коні, собаки, індики, кури, гуси, голуби та інші тварини, а також люди. Серед лабораторних тварин досить чутливими є білі миші та голуби. Кролі малосприйнятливі.

Патогенез. Заражаються тварини аерогенне й аліментарно, через пошкоджені шкіру та слизові оболонки. Збудник спочатку розмножується в місці первинної його фіксації – при аліментарному зараженні в лімфатичних структурах кишечника, при аерогенному – в мигдалинах. Це зумовлює сенсibilізацію організму до виділюваних ним токсичних продуктів. При недостатній резистентності організму він поширюється лімфогенним та гематогенним шляхами. Внаслідок цього виникає сепсис, в органах і тканинах спостерігаються запальні та дистрофічні явища. Генералізована інфекція характеризується ураженням серцево-судинної системи. Утворюються тромби, порушується трофіка тканин, виникають функціональні розлади серцево-судинної та інших систем організму, й тварина гине.

Перебіг захворювання може бути блискавичним, гострим, напівгострим та хронічним. Найбільш типові ознаки спостерігаються у хворих у разі гострого та напівгострого перебігу. Температура тіла підвищується до 42-42,5°C, втрачається апетит, спостерігаються кон'юнктивіт, розлади шлунково-кишкового тракту. Досить часто на шкірі з'являються червонуваті плями (кропивниця), буває ціаноз шкіри в підщелепному просторі та на череві. Тварина в разі гострого перебігу безсила може загинути протягом 3-5 днів.

Хронічний перебіг захворювання характеризується розвитком ендокардиту, артритами, некрозами шкіри.

При розтині трупів виявляють збільшені й гіперемійовані лімфатичні вузли, крововиливи у пробковому шарі нирок, у набряклій і гіперемійованій слизовій оболонці шлунку та тонкого кишечника. При хронічному захворюванні спостерігаються бородавчасті вирости на клапанах серця, інколи зміни у суглобах – фіброзні розщеплення синовіальних оболонок.

Діагностика. Застосовують бактеріологічний метод. В лабораторію надсилають труп або шматочки серця, селезінки, нирку й обов'язково трубчасту кістку (звичайно стегнову).

З патологічного матеріалу готують мазки й фарбують їх за Грамом, мікроскопують. У разі хронічного перебігу захворювання необхідно обов'язково дослідити мазки, зроблені з уражених клапанів серця. При цьому слід пам'ятати, що збудник в останньому випадку може мати вигляд не типових дрібних грампозитивних паличок, а ниткоподібних клітин.

Культуру збудника одержують на МПА та МПБ. Посіви інкубують при 36-37°C 24 год, а в разі відсутності ознак росту бактерій – ще 24 год. Виділену культуру ідентифікують шляхом вивчення культуральних і морфологічних

властивостей, інколи й біохімічних. Визначають також рухливість виділеного мікроорганізму.

Серологічну ідентифікацію здійснюють постановкою реакції аглютинації, використовуючи при цьому стандартну гіперімунну сироватку проти бешихи свиней. На предметне скло наносять краплю специфічної сироватки у розбавленій 1 : 50, бактеріологічною петлею вносять добову культуру мікроорганізму, вирощеного на МПА, й ретельно змішують. В позитивних випадках протягом кількох хвилин утворюються дрібні гранули. Рідина стає прозорою.

Біологічне дослідження здійснюють на білих мишах масою 16 - 18 г. Підшкірно їм вводять по 0,1-0,2 мл суспензії досліджуваного матеріалу (1:10) або 24-годинну бульйонну культуру. Миші гинуть на 2-4-ту добу. Матеріал від загиблих мишей мікроскопують і реізолюють з крові збудника. Слід мати на увазі, що від мишей нерідко виділяється *Bact. murisepticum*. Остання непатогенна для голубів, ферментує цукрозу, не дає позитивної реакції з протибешиховою сироваткою.

Голубів вважають більш зручною лабораторною моделлю для постановки біопроб на бешиху. Заражають їх внутрішньом'язово. З цією метою їм вводять 0,2-0,3 мл суспензії з патологічного матеріалу або бульйонну культуру. При наявності збудника голуб гине через 2-4 доби.

Експрес-діагностику бешихи здійснюють за допомогою РІФ.

Імунітет. Тварини, що перехворіли, набувають напруженого імунітету. Поствакцинальний імунітет триває до 4 – 6 місяців, пасивний – до 2 тижнів. Механізм імунного захисту при бешисі ґрунтується 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 sра А 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 крілях. Після вакцинації атенуованим 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.

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 модифіованих його клонів). В Україні застосовують кілька живих вакцин: вакцина із штаму ВР-2 (жива), вакцина «Бишивак», 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 впроваджена 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 вівців. При цьому використовують не менше 10 штамів збудника бешихи свиней серологічних типів А та В. Сироватки контролюють на стерильність, реактогенність та імуногенність.

Збудник бешихи свиней чутливий до антибіотиків пеніцилінового ряду.

Лістеріоз – інфекційна хвороба тварин і людини. Характеризується ознаками ураження центральної нервової системи, геніталій, явищами септицемії. У людини переважно перебігає у вигляді ангінозно-септичичної та

нервової форм.

Збудник – *Listeria monocytogenes*. За сучасною класифікацією належить до 14 секції – неспороутворюючі грампозитивні палички. Назву роду дано в честь англійського хірурга Г. Лістера.

Морфологія. *L. monocytogenes* – поліморфна дрібна, завдовжки 0,5-2 мкм і 0,3-0,5 мкм діаметром, у молодій культурі рухлива, грампозитивна паличка. Спор і капсул не утворює. У мазках з культури розміщується поодинокі, коротенькими ланцюжками, інколи зустрічається характерне для цього мікроорганізму розміщення у вигляді римської цифри V та палисаду.

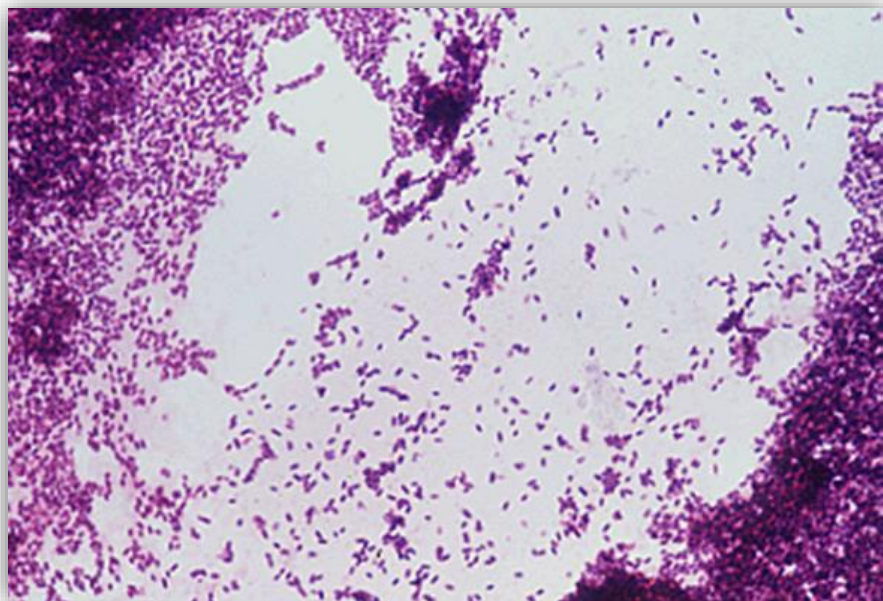


Рис.10.3. *Listeria monocytogenes* (фарбування за Грамом)

Культуральні властивості. Лістерії – факультативні анаероби. Оптимальна для їх розвитку температура 36-38°C, рН середовища 7,0-7,5. Однак лістерії можуть рости також і в межах температури від 4 до 45°C. Збудник росте на простих живильних середовищах. На МПА утворює дрібні колонії-росинки, розміром від 0,2-0,4 до 2 мм у діаметрі.

На кров'яному агарі навколо колоній спостерігається зона бета-гемолізу. Типовими є колонії L-форми. Проте під впливом деяких факторів (зокрема, культивування поза межами температурного оптимуму) можуть утворюватися колонії R-форми.

У МПБ збудник зумовлює незначне помутніння і утворює ослизлий осад.

Біохімічні властивості. *L. monocytogenes* ферментує з утворенням кислоти без газу глюкозу, левульозу, рамнозу, саліцин. Дульцит, інулін та рафінозу не розщеплює, утворює каталазу, редукує лакмус нейтральний червоний та метиленовий синій. Індолу та сірководню не утворює. Желатин не розріджує.

Антигенна структура. Лістерії містять соматичний та джгутиковий антигени. Виявлено 15 різновидностей першого (I-XV) п'ять- останнього (A, B, C, D, E). У природі циркулюють лістерії що мають соматичні та джгутикові

антигени у різному поєднанні. На цій основі запропоновано розділити їх на дві серологічні групи, кожна з яких поєднувала б кілька серологічних типів. Останні у свою чергу, включають сероваріанти. Так, 4-й серотип має сім серологічних варіантів (4а, 4б, 4с та ін.).

Резистентність. Лістерії тривалий час можуть виживати у зовнішньому середовищі. Вони здатні існувати від 6 до 11 міс у ґрунті, більше року – у воді, майже 7 міс. – у гною, можуть розмножуватися у мертвих тканинах. Залишаються життєздатними у висівках більше 100 днів, у сіні та м'ясо-кістковому борошні – понад 130 днів. У тваринницьких приміщеннях виживають близько 2 міс. на території ферми – від одного тижня (влітку) до чотирьох місяців (взимку). Лістерії гинуть під дією 2%-ного розчину формальдегіду за 20 хв. Протягом такого ж часу вони гинуть під впливом 2,5%-вого розчину гідроксиду натрію.

Патогенність. *L. monocytogenes* – патогенна для вівців, кіз свиней, великої рогатої худоби, і коней, кролів, курей, качок та багатьох інших видів домашніх і диких ссавців, птахів. Чутливі до лістеріозу й гризуни. Серед лабораторних тварин найбільш чутливі білі миші та кролі.

L. monocytogenes продукує нейротоксин, гемотоксин, а також ряд факторів поширення, зокрема фермент гіалуронідазу. В природі циркулюють *L. monocytogenes* з різною вірулентністю.

Патогенез. Джерелом інфекції є хворі тварини та тварини-бактеріоносії, які виділяють збудника із абортів плодами, виділеннями з статевих органів, носа, з сечею, калом та молоком. Резервуаром збудника у природі є гризуни, в організм чутливих тварин збудник проникає через слизові оболонки носа, ротової порожнини, кон'юнктиву, через травний тракт та шкіру. В організмі збудник поширюється нейрогенним, лімфогенним та гематогенним шляхом. Він здатний розмножуватися у макрофагах, що також сприяє інтенсивному поширенню його по організму.

Залежно від переважної локалізації збудника може спостерігатися септична або нервова форма захворювання. При септичній формі уражуються усі органи тварини, при нервовій – переважно центральна нервова система.

Перебіг захворювання буває гострим, напівгострим та хронічним. У великої рогатої худоби частіше спостерігається нервова форма захворювання, при якій виражені пригнічення, втрата апетиту, через кілька днів – некоординовані рухи, судоми, приступи буйства, парези деяких груп м'язів. Часто буває парез нижньої щелепи, втрата зору, кон'юнктивіт. Інколи підвищується температура тіла. Вагітні тварини можуть абортувати. Зустрічаються метрити та мастити.

У телят захворювання частіше має септичну форму. Зменшується апетит, виникає пронос, з'являються ознаки ураження центральної нервової системи: порушується координація рухів, виникають нервові напади (тварина падає, мукає, здійснює плавальні рухи кінцівками, тремтить). Може настати тимчасове полегшення, проте через кілька днів напади знову з'являються і тварина гине. Смертність при септичній формі досягає 50%, а при нервовій 100 %.

У вівців, свиней захворювання також може перебігати у септичній або нервовій формі. У птиці переважно спостерігається нервова форма.

Надзвичайно характерною ознакою захворювання є збільшення кількості моноцитів крові. До речі, це стало підставою для назви його збудника.

Патологоанатомічні зміни залежать від форми лістеріозу. При нервовій формі виявляють ін'єкцію судин та набряк головного мозку, крововиливи у мозок та інколи в інші органи й тканини. При септичній формі захворювання виявляють гіперемію та набряк легень, катаральне запалення слизових оболонок шлунково-кишкового тракту, крововиливи та вогнища некрозу у печінці, селезінці, нирках, збільшення лімфатичних вузлів та ін.

Діагностика. Здійснюють бактеріологічне та серологічне дослідження.

В лабораторію надсилають трупи дрібних тварин або головний мозок, шматочки печінки, легень, селезінки, нирку, абортований плід та його оболонки. Від хворих тварин беруть кров у період гарячки для одержання гемокультури збудника. Для серологічного дослідження надсилають кров'яну сироватку.

Мазки з патологічного матеріалу фарбують за методом Грама і мікроскопують. Культуру збудника одержують на простому або печінковому агарі й бульйоні з додаванням 1% глюкози та 2-3% гліцерину. Паралельно висівають на 5%-ний кров'яний агар та елективні середовища – МПА з телуритом калію і сироваткою крові та ін. Культивують у мікроерофільних умовах (5-10% CO₂). При відсутності ознак росту посіви витримують у термостаті протягом двох тижнів. Частину досліджуваного матеріалу зберігають в холодильнику і при необхідності здійснюють повторні висіви на живильні середовища.

При наявності ознак росту ретельною вивчають культуральні властивості, а при необхідності – й біохімічні. Останні дають змогу диференціювати з комплексі з іншими даними лістерії всередині роду та від збудника бешихи.

Остаточну ідентифікацію збудника здійснюють за допомогою стандартних специфічних сироваток. Ставлять пластинчасту РА 24-30-годинною агаровою культурою, вирощеною при температур 18-26°C. Позитивна реакція характеризується утворенням аглютенату протягом 3 хв після змішування в компонентів. Виділену культуру можна ідентифікувати також за допомогою стандартних бактеріофагів.

Біологічне дослідження здійснюють на білих дорослих мишах або мишенятах 5-6-денного віку. Суспензію з патологічного матеріалу 1 : 5 чи 2-добову бульйонну культуру збудника вводять 2-3 білим мишам підшкірно в дозі 0,3- 0,5 мл. При наявності *L. monocytogenes* дорослі миші гинуть на 2- 6-ту добу, мишенята – через 18-37 год.

Широко практикують також кон'юнктивальну пробу на морських свинках. Бульйонну культуру збудника (2 краплі) вносять у кон'юнктивальний мішок морській свинці. Вірулентні штами лістерій зумовлюють гнійний кератокон'юнктивіт, ознаки якого спостерігають ся на 2-4-ту добу після аплікації. Кон'юнктивальна проба є також і диференційною ознакою збудник бешихи на відміну від збудника лістеріозу запалення не викликає.

Запропонована також внутрішкірна проба на морських свинках та кролях. На одному з боків вистригають ділянку шкіри і внутрішньокірно вводять 0,3-0,5 мл бульйонної культури збудника.

Вірулентні штами зумовлюють виникнення через 24-48. відповідних реактивів та люмінесцентного мікроскопа досліджують мазки з патологічного матеріалу.

Ретроспективну (серологічну) діагностику здійснюють шляхом постановки РА та РЗК. Для РА використовують антигени першої та другої серологічної групи лістерій. Результат вважається позитивним, якщо у досліджуваній сироватці специфічні антитіла виявлені у розбавленні 1 : 200 і вище (вівці, кози, свині) та у розбавленні 1 : 400 і вище (коні, велика рогата худоба) чи 1 : 50 і вище (кролі). При цьому оцінка реакції повинна становити не нижче як два хрести.

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 активовану вакцину «Концентрована інактивована вакцина проти лістеріозу тварин». Застосування гіперімунних сироваток та одержаних з них імуноглобулінів не супроводжується ні профілактичним, ні лікувальним ефектом.

Лістерії чутливі до антибіотиків тетрациклінового ряду.

10.1.3. Збудники бруцельозу і пастерельозу

Бруцельоз – інфекційне хронічне захворювання багатьох видів свійських та диких тварин, яке характеризується лихоманкою, ураженням опорно-рухового апарату, нервової системи, абортами, затримкою посліду, ендометритами, маститами та порушенням відтворної здатності тварин.

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, 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 Стрібольдт (1897) при інфекційному аборті корів виділили збудника під назвою *B. abortus bovis*. В 1905 р. Замміт встановив, що джерелом мальтійської гарячки для людей виявилось сире козяче молоко.

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), *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. neotome*, а в 1968 р. Кермічел і Кенні довели, що у собак *Br. . canis* фігурує як збудник епідидимітів і абортів.

Таким чином, у складі роду *Brucella* нараховується 6 видів і значна кількість біотипів. Зокрема. *Br. melitensis* має три, *Br. abortus* – дев'ять і *Br. suis* – п'ять біотипів, причому 4-й тип є збудником бруцельозу у північних оленів. У решти видів біотипів не встановлено.

Морфологія. За формою, величиною і деякими біологічними ознаками види бруцел не різняться між собою. Це дрібні кокоподібні бактерії або невеликі палички з заокругленими кінцями величиною, 0,3 - 0,6 мкм – 0,6 -2,5 мкм, які не утворюють спор, нерухливі, фарбуються негативно за Грамом, утворюють ніжку капсулу. Порівняно з іншими бактеріями бруцели повільніше сприймають анілінові фарби і ця особливість є основою диференційного методу фарбування їх за Козловським. 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.

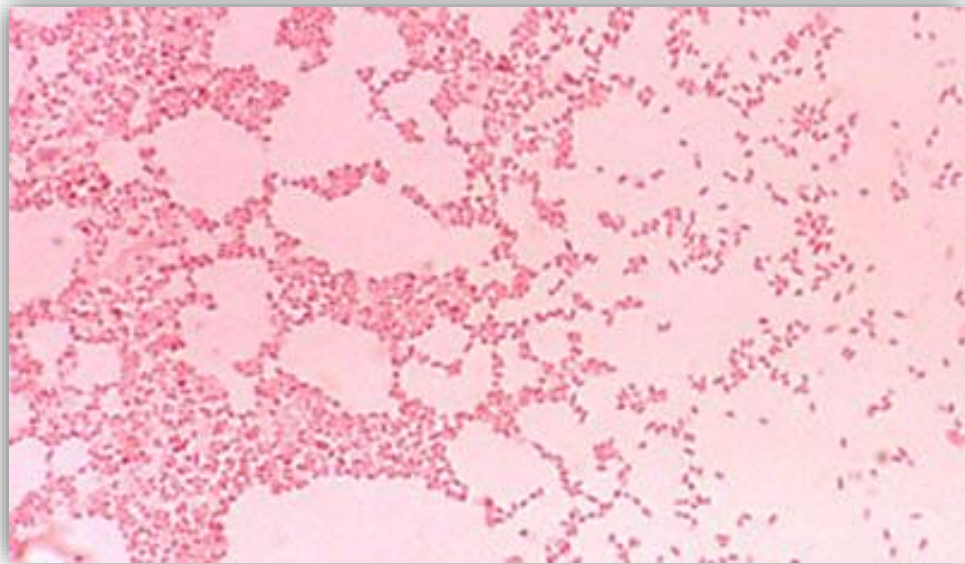


Рис. 10.4. *Brucella melitensis* (фарбування за Грамом)

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. Бруцели 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 в звичайній атмосфері. Лабораторні культури збудника швидко адаптуються до аеробних умов і при наступних пересівах здатні культивуватися без CO₂.

На поверхні *щільних середовищ* бруцели утворюють дрібні блискучі випуклі колонії з рівними краями й поверхнею, які у відбитому світлі мають злегка блакитний, в опадаючому – сіруватий колір. 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 культур залежить від кількості проведених і 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°C через 1 год., до 60°C - через 30 хв., при кип'ятінні – 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 ліофільне 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, вівців, кіз і свиней хвороба може перебігати у вигляді ензоотій і епізоотій, у коней, верблюдів, буйволів, м'ясоїдних – спорадично. Хвороба дуже небезпечна для людей, у яких основним збудником є *Br. melitensis*.

Інкубаційний період – 2-3 тижні й більше. Клінічно бруцельоз перебігає невиражено й часто в латентній формі. Основна ознака хвороби – аборт у другій половині вагітності і затримання посліду. Інколи розвиваються артрити, бурсити, тендовагініти, у самців – орхіти. При первинному спалаху хвороби кількість абортів може досягати понад 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 регіональні лімфатичні вузли, де або знищуються при достатньо високій резистентності організму, або ж частіше надходять у кров і далі – з паренхіматозні органи. Після достатнього нагромадження вони концентруються переважно в лімфатичних вузлах і вим'я; у вагітних тварин – проникають у матку, зумовлюючи тут запально-некротичні зміни, що й призводить до абортів. При зараженні вагітних тварин у пізній період роди відбуваються 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 з них 40-60% 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, з 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 – абортівані 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 і Козловського. В усіх випадках бруцели фарбуються у червоний колір, проте останній метод має перевагу над методом Грама у тому відношенні, що при ньому диференціюють за кольором бруцел від інших видів бактерій, які забарвлюються у синій чи зелений колір. У мазках бруцели мають вигляд дрібних кокобактерій, які розміщуються поодиноці, 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 поміщають у бактеріологічну чашку, заливають на 30 хв. 3%-вим розчином гідроокису калію, споліскують стерильним фізіологічним розчином, розтирають у ступці з стерильним піском і одержану суспензію засівають на середовища з бактеріостатиками (генціанвіолет або малахітова зелень) у концентрації 1 : 200 тис., кристалвіолет 1 : 100 тис., оцтово-кислий натрій Із розрахунку 0.125 мг на 1 мл середовища. Засіяні середовища інкубують у термостаті при температурі 37–38°C 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 з бруцельозною сироваткою.

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 заражають 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 біопробу 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) та реакцію тривалого зв'язування комплементу (РТЗК).

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, вівців, 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°C.

При дослідженні на бруцельоз сироваток крові великої рогатої худоби, вівців, 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 вівців, 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 гематоксиліном у синій колір, додають 1 мл молока, суміш ретельно перемішують, пробірки витримують у водяній бані або термостаті при температурі 37-38°C протягом 1 год. В позитивних випадках у верхній частині стовпчика у шарі вершків утворюється чітке синє кільце, решта молока залишається білим.

Алергічні методи застосовують переважно для діагностики бруцельозу у вівців, кіз і свиней.

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 класів М, G, А практично не виконують захисної функції.

Пастерельоз (геморагічна септицемія, холера птахів) - інфекційна хвороба домашніх і диких тварин. Гострий перебіг захворювання характеризується ознаками септицемії, геморагічним запаленням серозних та слизових оболонок, напівгострий та хронічний – запаленням легень, шлунково-кишкового тракту

Збудник – *Pasteurella multocida* належить до роду *Pasteurella* родини *Pasteurellaceae*. Крім *P. multocida*, названий рід включає також *P. haemolytica*, *P. pneumotropica*, *P. ureae*.

Вперше Л. Пастер у 1879 р. виявив збудника холери курей, назвавши його *Bact. bipolare septicum*. У 1910 р. на його честь збудник був названий пастерелою. Пізніше подібні мікроорганізми були виділені від великої рогатої худоби, свиней, вівців та інших видів тварин, які одержали відповідну назву, наприклад, *Bact. bipolare bovissepticum*, *Bact. bipolare suissepticum*, *Bact. bipolare ovisepticum*, *Bact. bipolare caprisepticum*, *Bact. bipolare cuniculisepticum*, *Bact. bipolare vitulorum*. Вважалося, що для кожного виду тварин існує відповідний збудник пастерельозу. Лише у 1939 р. Розенбушу та Мерчанту вдалося довести, що всі вони є пастерелами. Нині встановлено, що основним збудником захворювання у різних видів тварин є *P. multocida*.

Морфологія. *P. multocida* - коротка еліпсоподібна паличка 0,4-1,5 мкм довжиною та 0,15-0,4 мкм діаметром. У мазках від хворої птиці частіше

овоїдної (яйцеподібної) форми. В мазках, зроблених з культур, кокоподібна, інколи паличкоподібна, нерухлива, спор не утворює. Може утворювати мікрокапсулу. Грамнегативна. Фарбується біполярно (інтенсивно на полюсах та незначно у центральній частині). Біполярність найбільш виражена в мазках, пофарбованих метиленовою синькою або ж фарбою Романовського-Гімза.

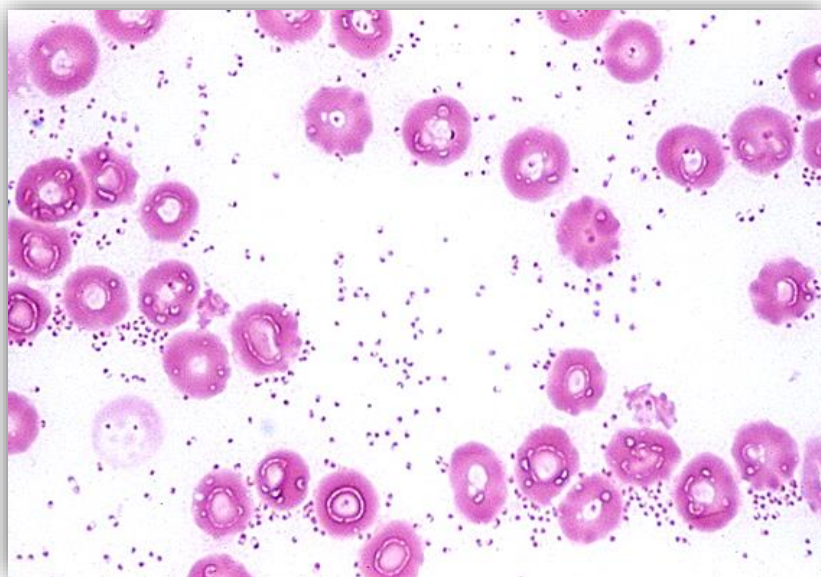


Рис.10.5. *Pasteurella multocida* (фарбування за Грамом)

Культуральні властивості. Факультативний анаероб. Оптимальна для розвитку температура 37-38°C. Проте може рости й при кімнатній температурі. Оптимальний показник рН 7.2-7.4. Ростає на звичайних живильних середовищах. Інтенсивність росту помітно зростає при внесенні кров'яної сироватки.

На МПА утворює дрібні випуклі прозорі безбарвні флуоресціюючі колонії S-форми. Інколи збудник формує крупніші ослизлої консистенції (М-форма) або ж з нерівними краями та шорсткою поверхнею (R-форма) колонії

В МПБ пастерели зумовлюють незначне помутніння і утворюють осад. Останній при струшуванні пробірки піднімається у вигляді коси (S-форма) або дрібних крупинок та пластівців (R-форма).

Біохімічні властивості. Мікроб ферментує ряд цукрів, утворює індол, сірководень, каталазу. Желатин не розріджує. Вивчення біохімічних ознак дає змогу диференціювати *P. multocida* від інших видів пастерел.

Антигенна структура. *P. multocida* має соматичний (О) та капсульний (К) антигени. Останній поділяється на чотири серологічні типи: А, В, Д та Е, а пастерели – на відповідні серологічні групи (Картер, 1961).

Пастерели серологічної групи А частіше викликають захворювання у птахів. Від ссавців переважно виділяють пастерели серологічних груп В та Е. *P. multocida* серологічної групи Д може викликати захворювання у всіх видів тварин.

Резистентність. *P. multocida* може виживати у трупах тварин до 4 міс, у гною, воді - до трьох тижнів, у ґрунті - до 1 міс. Досить чутливий збудник до

висушування. При 70-90°C гине за 5-10 хв., при кип'ятінні – миттєво. Прямі сонячні промені вбивають його за кілька хвилин. Розчини фенолу, крезолу, хлорного вапна, гідроксиду натрію в загальновідомих для дезінфекції концентраціях знешкоджують 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 ослабленого резистентністю, тваринах.

P. 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. З лабораторних тварин найбільш чутливі білі миші, кролі, голуби.

Патогенез. 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°C і вище. Спостерігається втрата апетиту, слабкість. Зменшується або повністю припиняється утворення молока. 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 вівців 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.

Мазки фарбують за Грамом, синькою Лефлера або ж за Романовським - Гімза.

Посів здійснюють на МПА та МПБ, інкубують протягом 24-48 год., вивчають ознаки росту, роблять мазки, фарбують їх і мікроскопують. При цьому слід пам'ятати, що в мазках з культури пастерели кокоподібні, значно відрізняються від тих, що спостерігаються в мазках, зроблених з патологічного матеріалу.

Біологічне дослідження проводять на білих мишах або ж крілях. Заражають їх суспензією з патологічного матеріалу або ж виділеною культурою. Білим мишам вводять підшкірне 0,2 мл, крілям – 0,5 мл матеріалу. Важливо пам'ятати про можливе бактеріоносійство у кролів. Для біопробі 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 вірулентну для лабораторної тварини пастерелу. Однак для остаточного діагнозу захворювання необхідно проаналізувати клініко-епізоотологічні дані, результати патолого-анатомічного розтину.

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 вірулентну 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 вівців і аналогічна вакцина проти пастерельозу свиней. Для приготування першої використовують вірулентні штами пастерел, виділені від великої рогатої худоби, буйволів і вівців. 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 стимуляторах 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 % легкої мінеральної олії та 17 % безводного ланоліну. Для приготування емульсійвакцини 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°C 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 крілях. П'яти крилям 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 вівців 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 інактивованих вакцин «Формолвакцина проти пастерельозу великої рогатої худоби, буйволів і вівців, масляна», «Формолвакцина проти пастерельозу великої рогатої худоби, буйволів і вівців, ГОА напіврідка»,

«Фомолвакцина проти пастерельозу вівців 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 – інактивована бактерії – *P. multocida*, серотип А-1) та Нідерланди («Nodilis FC inas»)(вакцина проти пастерельозу птиці інактивована, містить антигени *P.*

multocida, серотипів 1 - 5). Використовуючі 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, вівців та свиней готують гіперімунізацією волів вірулентними й імуногенними штамами пастерел, спочатку інактивованими, а потім живими.

Сироватку застосовують переважно з профілактичною метою, зокрема вводять її телятам, поросятим та ягнятам у перші дні поставки тварин на тваринницькі комплекси. Телятам та поросятим вводять по 10-30 мл, дорослим тваринам – по 30-40. Застосування гіперімунної сироватки з лікувальною метою ефективно лише на початку захворювання. Вводять її внутрішньом'язово або ж внутрішньовенно у подвійній профілактичній дозі.

Пастерели чутливі до гентаміцину, лівоміцетину, стрептоміцину та тетрацикліну.

10.2. ПРАКТИЧНА ЧАСТИНА

10.2.1. Лабораторна діагностика збудників ешерихіозів і сальмонельозів

Мета заняття. Засвоїти відбір і пересилку патологічного матеріалу в лабораторію при ешерихіозах та сальмонельозах, вивчити біологічні властивості патогенних ешерихій і сальмонел, засвоїти методику проведення бактеріологічного дослідження патологічного матеріалу.

Матеріальне забезпечення. Культури бактерій *E. coli*, фіксовані мазки з *E. coli*, *Salmonella*, зафарбовані за Грамом, живильні середовища – МПБ, МПА, МПЖ, середовище Гісса з лактозою та глюкозою, агари: Ендо, Левіна, Плоскірева, Сіммонса, вісмут-сульфіт агар, реактивні папірці для ідентифікації індолу. Для демонстрації: таблиці-схеми проведення дослідження на ешерихіоз та сальмонельоз.

Зміст заняття.

Колібактеріоз (колієнтерит, колісептицемія, ешерихіоз, набрякова

хвороба поросят, коліінфекція) – гостра інфекційна хвороба молодняку сільськогосподарських тварин, птиці, хутрових звірів, що характеризується діареєю, зневодненням організму, депресією, наростаючою слабкістю, яка закінчується летально. Хвороба протікає в септичній, ентеротоксемічній і ентеритній формі.

Збудник – патогенні серологічні сероваріанти *E. coli*. Збудники сальмонельозів (паратифів) відносяться до роду *Salmonella*.

S. enteritidis (dublin), *S. typhimurium* – збудники сальмонельозу телят. Перебіг хвороби гострий та хронічний з ознаками лихоманки, розладу функції кишечника, запалення легень.

S. choleraesuis (suipestifer), *S. typhisuis* – збудники сальмонельозу поросят. Хворіють поросята частіше до 4-місячного віку з ознаками лихоманки, діареї та дегенеративними процесами в тонкому та товстому відділах кишечника.

S. abortusequi – збудник сальмонельозного аборту кобил. У жеребих кобил проявляється абортами, у лошаків – артритами, лихоманкою, діареєю.

S. abortusovis – збудник сальмонельозу вівців. У ягнят протікає при наявності проносів, підвищення температури, пневмонією.

S. pullorum (S. gallinarum) – збудник сальмонельозу птиць. У молодняка птиць сальмонельози протікають гостро та супроводжуються проносом, нервовими явищами. У дорослої птиці хвороба протікає часто латентно.

Матеріалом для дослідження служать свіжий труп (не пізніше 12 годин після загибелі тварини) або паренхіматозні органи (печінка з жовчним міхуром, селезінка, нирки, легені, серце, лімфатичні вузли, трубчаста кістка), відрізок дванадцятипалої кишки з вмістом, на кінцях перев'язаний лігатурою (пересилається в окремому посуді від інших органів).

Завдання 2. Продивитися під мікроскопом фіксовані мазки з *E. coli*, *Salmonella*, зафарбовані за Грамом, замалювати у зошиті.



Рис.10.6. Ріст ешерихій на МПА

Завдання 3. Вивчити культуральні та біохімічні властивості ешерихій та

сальмонел.

Оптимальна температура росту *E. coli* 37 - 38⁰С, рН середовища 7,0 - 7,2, *Salmonella* – рН середовища 7,2 - 7,4.

Таблиця 10.1

Культуральні ознаки росту ешерихій та сальмонел

Поживні середовища	Ознаки росту	
	<i>Esherichia</i>	<i>Salmonella</i>
МПБ	помутніння та утворення осаду у вигляді пластівців	помутніння та утворення осаду у вигляді пластівців.
МПА	вологі круглі колонії (S-форми) сіруватого кольору	вологі круглі колонії (S-форми) з блакитним відтінком
Середовище Ендо	Малиново-червоні колонії з металічним відблиском	безбарвні або сірувато-блакитні колонії
Агар Левина	колонії фіолетового бо чорного кольору	безбарвні або сірувато-блакитні колонії
Вісмут-сульфіт агар	прозорі безбарвні колонії	колонії чорного кольору
Середовище Сімонса	не ростуть	утворюють колонії фіолетового кольору

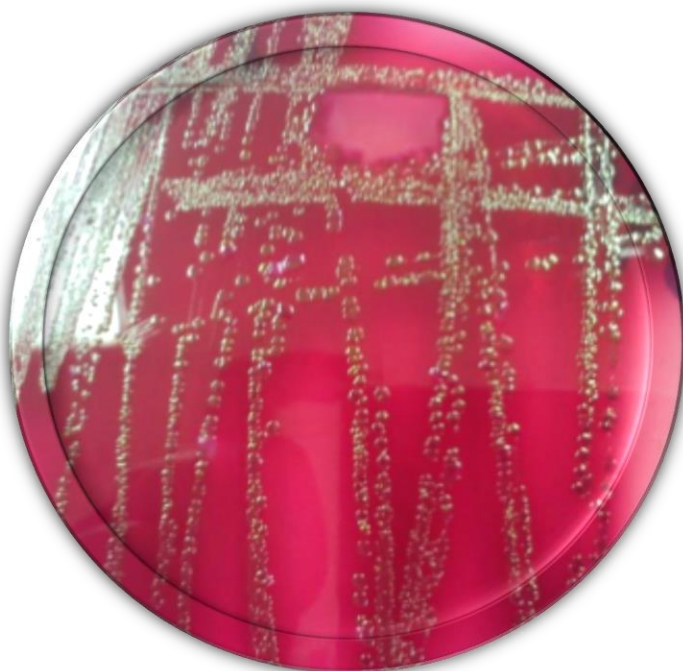


Рис. 10.7. Ріст ешерихій на агарі Ендо

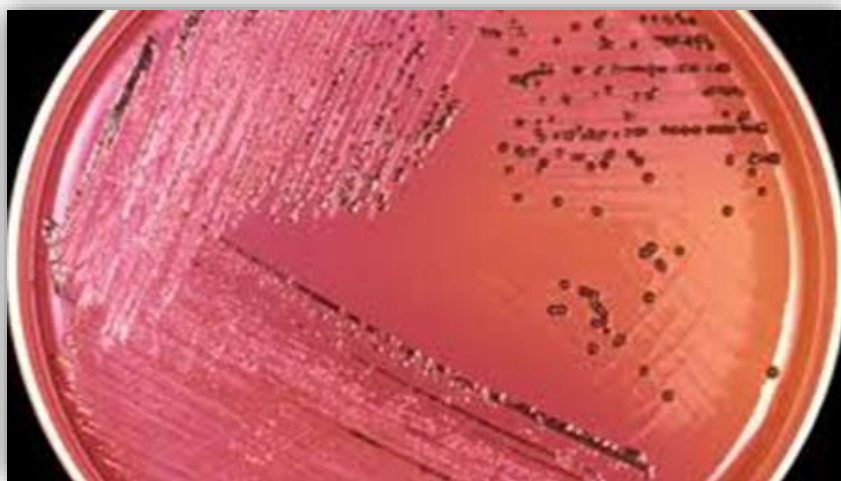


Рис. 10.8. Ріст сальмонел на агарі Ендо



Рис.10.9. Ріст сальмонел на агарі Плоскирева

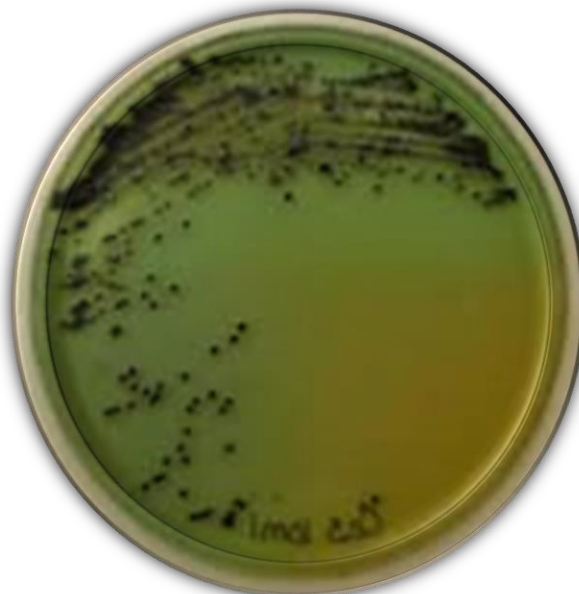


Рис.10.10. Ріст сальмонел на вісмут-сульфіт агарі

Завдання 4. Вивчити біохімічні властивості ешерихій та сальмонел.

Завдання 5. Засвоїти біологічне дослідження при ешерихіозі та сальмонельозі.

Біологічне дослідження проводять для перевірки вірулентності штаму:

- при сальмонельозі 0,1 – 0,3 мл добової бульйонної культури вводять білим мишам підшкірно. Тварини гинуть на 3 – 10 добу;
- при колібактеріозі суспензію агарових культур, виділених з двох внутрішніх органів, в дозі 500 млн. мікробних тіл вводять внутрішньочеревне 3 білим мишам. Культури вважають патогенними при загибелі однієї або більше на протязі двох діб після зараження та виділення з трупа чистої культури.

Етапи проведення бактеріологічного дослідження при колібактеріозі:

1-й день – посіви з патологічного матеріалу на Середовища Ендо, Левина, МПА. Мікроскопія мазків.

Родова диференціація родини *Enterobacteriaceae*
(по біохімічним властивостям)

Рід	<i>Escherichia</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Citrobacter</i>	<i>Klebsiella</i>	<i>Enterobacter</i>	<i>Proteus</i>
Тести для первинної диференціації						
Засвоєння цитрата на середовищі Сімонса	-	+	+	+(-)	+	+(-)
Ферментація лактози	+	-	+	+	+	-
Ферментація маніту	+	+	+	+	+	-
Утворення індолу	+	-	-	-	-	+
Утворення сірководню	-	+(-)	+	+(-)	-	+
Розрідження желатину	-	+	-	-	+(-)	+(-)
Для додаткової інформації						
Розщеплення сечовини	-	-	+(-)	+(-)	+(-)	+
Реакція з метилротом	+	+	+	+	-	+
Реакція Фогеса-Проскауера	-	-	-	+(-)	+	-

2-й день – пересів двох типових для ешерихій колоній Ендо та Левина в



Рис.10.11. Засвоєння цитрата на середовищі Сімонса

МПБ та на ПС Сімонса. Посів через 4 години інкубації в термостаті з МПБ на середовища для вивчення ферментативних властивостей; на дві пробірки МПА для виготовлення антигенів та зараження білих мишей.

3-й день – виготовлення мазків з посівів та їх дослідження. Попереднє врахування ферментативних властивостей. Серологічна типізація отриманої чистої культури. Зараження білих мишей.

4-й день – серологічний контроль та контроль біопроби.

5-й день – контроль біопроби. Контроль результатів визначення культур

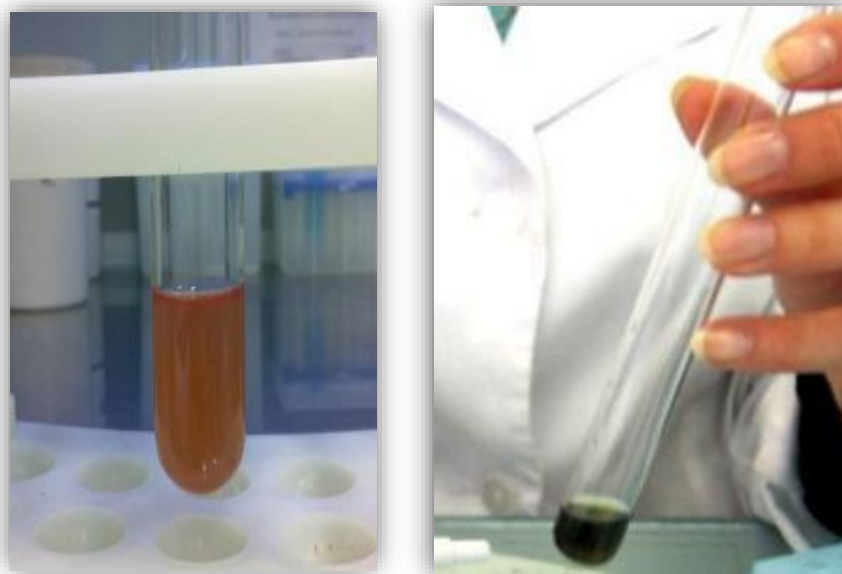


Рис. 10.12. Позитивна і негативна реакція Фогес-Проскауера до антибіотиків.

6 – 7-й день – кінцевий контроль біопроби та результатів ферментативних властивостей культур. Оформлення експертизи.

Питання для самоконтролю:

1. Відбір патологічного матеріалу для бактеріологічної діагностики колібактеріозу і сальмонельозів.
2. Морфологічні і тинкторіальні властивості кишкової палички і сальмонели.
3. Культуральні і ферментативні властивості кишкової палички і сальмонел.
4. Диференціально-діагностичні середовища, які застосовуються для виділення і ідентифікації кишкової палички і сальмонел.
5. Методи диференціації сальмонел від *E.coli*.
6. Основні збудники сальмонельозу сільськогосподарських тварин.
7. На підставах яких даних ставлять позитивний бактеріологічний діагноз на колібактеріоз?
8. Антигенна структура сальмонел.
9. Які існують експрес методи вияву сальмонел у патологічному матеріалі й продуктах харчування?

10.2.2. Біологічні властивості збудників бешихи свиней і лістеріозу

Мета заняття. Ознайомити з властивостями збудників бешихи свиней і лістеріозу, методами бактеріологічної діагностики.

Матеріальне забезпечення. Мазки збудника бешихи свиней на МПА, таблиці, атлас, біопрепарати.

Зміст заняття.

Завдання 1. Вивчити та законспектувати відбір патологічного матеріалу для відправки у лабораторію при бешисі свиней.

Бешиха свиней – захворювання свиней переважно 3-12 місячного віку. Характеризується септицемією, порушеннями травлення, ураженням серцево-судинної системи, набряком легень. Перебіг захворювання може бути блискавичним, гострим, підгострим та хронічним. Досить часто захворювання перебігає у вигляді «кропивниці», при якій на шкірі тварин утворюються локальні еритеми. Хронічний перебіг характеризується бородавчастим ендокардитом, некрозом шкіри.

Збудник бешихи свиней - *Erysipelothrix rhusiopathiae*

Патологічний матеріал. Для бактеріологічного дослідження направляють труп тварини цілком або паренхіматозні органи (серце, печінка, селезінка, нирка), трубчасту кістку; при підозрі на хронічний перебіг – серце. Свіжий матеріал посилають у нативному виді або його консервують 30% водяним розчином хімічно чистого гліцерину. Трубчасту кістку очищають від м'яких тканин, обгортають марлею, просоченою 2-3 % розчином фенолу.

Завдання 2. Дослідити зафарбовані за Грамом фіксовані мазки з *Erysipelothrix rhusiopathiae* під мікроскопом, картину замалювати у зошиті.

Мікроскопія. У позитивному випадку в мазках, пофарбованих за Грамуом виявляють дрібні грампозитивні паличкоподібні бактерії, що розташовуються поодинокі, попарно або у вигляді скупчень. У мазках з уражених клапанів серця – у вигляді довгої нитки, що переплітаються.

Завдання 3. Вивчити культуральні та біохімічні властивості *Erysipelothrix rhusiopathiae*

Культуральні властивості. Проводять посіви в МПБ або бульйон Хоттінгера, на МПА. Посіви інкубують у термостаті при 37 °С 18-24 год., при відсутності росту - ще 24 год. *E. rhusiopathiae* - аероб, мікроаерофіл (краще росте при 5-10% CO₂).

У МПБ збудник росте зі слабким помутнінням середовища. Через 48 - 72 год. живильне середовище просвітлюється, на дні пробірки утворюється осад, що при струшуванні піднімається | у вигляді ніжної хмарини.

На МПА збудник бешихи утворює дрібні прозорі росянкові колонії (S-форми), але зустрічаються і R-форма - великі, із нерівною волокнистою поверхнею. Посіви на МПА краще переглядати під мікроскопом або за допомогою лупи. У мазках із колоній S-форми знаходять короткі прямі або злегка вигнуті стрункі палички, із колоній R-форми - ланцюжки або нитки, часто грамнегативні. Збудник бешихи свиней нерухомий, спору і капсулу не утворює.

Біохімічні властивості. Збудник бешихи свиней виділяє сірководень, не утворює каталазу, розкладає з утворенням кислоти без газу глюкозу, лактозу, не розкладає сахарозу, маніт.

Серологічна ідентифікація. На предметне скло наносять краплю імунної сироватки в розведенні 1:50, потім петлею в ній емульгують добову агарову культуру. Якщо виділений мікроб є збудником бешихи свиней, відбувається

швидка аглютинація з утворенням щільних дрібних крупинок.



Рис.10.13. Збудник бешихи на кров'яному МПА

Завдання 4. Засвоїти проведення біологічної проби на лабораторних тваринах.

Біопроба. Мишам масою 16-18 гр. підшкірно вводять суспензію з паренхіматозних органів або змив 1-2 добової агарової культури в дозі 0,1-0,2 мл. Збудник бешихи викликає загибель тварин через 2-4 доби. Тварин розтинають і з їхніх органів роблять посіви в МПБ і на МПА з метою виділення чистої культури.

Експрес діагностика. Мазки-відбитки з патологічного матеріалу обробляють флуоресцентною протибешиховою сироваткою (прямий метод імунофлуоресценції) і досліджують під люмінесцентним мікроскопом. При наявності типових форм та яскравої специфічної імунофлуоресценції (вираженої у трьох-чотирьох хрестах) результат вважають позитивним.

Бактеріологічний діагноз на бешиху свиней вважають встановленим у таких випадках:

- 1) при виявленні збудника бешихи свиней МФА в досліджуваному матеріалі або в змішаній культурі без виділення чистої культури;
- 2) при виділенні з патологічного матеріалу культури з характерними для збудника властивостями на живильних середовищах;
- 3) у випадку загибелі лабораторних тварин і виділення з органів культури збудника бешихи, навіть якщо в посівах із вихідного матеріалу збудник не виділений.

Збудник лістеріозу - *Listeria monocytogenes*. Хворіють багато видів сільськогосподарських і диких тварин, гризунів, птиць, а також людина. Лістеріоз характеризується поразкою центральної нервової системи, статевих

органів (аборти), молочної залози (мастити) і явищами септицемії.

Патологічний матеріал. У лабораторію направляють трупи дрібних тварин (гризунів), голову полеглої тварини (для дослідження мозку), паренхіматозні органи (печінка, селезінка, нирка й уражені ділянки легень), абортований плід, плодові оболонки, витікання з пологових шляхів, молоко з ураженої частки вим'я. Від хворих тварин також беруть кров для серологічних досліджень.

Завдання 5. Дослідити зафарбовані за Грамом фіксовані мазки з *Listeria monocytogenes* під мікроскопом, картину замалювати у зошиті.

Мікроскопія. Мазки-відбитки з органів фарбують за Грамом. У препаратах, пофарбованих по Граму, лістерії мають вид грампозитивних паличок, можуть зустрічатися поліморфні клітини розміром 0,5 x 2 мкм.

Завдання 6. Вивчити біологічні властивості лістерій та лабораторну діагностику лістеріозу.

Культуральні властивості. *L. monocytogenes* - аероб (мікроаерофіл), краще росте при зниженому кисню при 5-10% CO₂. Температурний оптимум 37°C. З патологічного матеріалу роблять посіви на звичайний або печінковий агар і бульйон із додаванням 1 % глюкози і 2-3 % гліцерину (рН 7,2-7,4), а також на 5% кров'яний агар і елективні середовища: МПА з телурітом калію, флориміцином або поліміксином; МПА з телурітом калію і сироваткою крові.

При дослідженні абортів плодів посіви роблять із вмісту шлунка і внутрішніх органів. Витікання зі статевих органів і молоко засівають на печінковий агар із додаванням 1% глюкози і 2-3% гліцерину з МПБ. У останньому випадку після появи росту з МПБ роблять відсів на щільні живильні середовища. Спостереження за посівами продовжують протягом 2 тижнів. Паралельно частину досліджуваного матеріалу рекомендується витримувати в холодильнику (4°C) до 30 днів, оскільки при цій температурі відбувається розмноження і накопичення лістерій.

При рості лістерій у МПБ: спостерігається легке помутніння бульйону. На МПА - дрібні росинчасті колонії. На кров'яному агарі росте, створюючи зону гемолізу.

З культур готують мазки, фарбують за Грамом. У мазках, пофарбованих за Грамом, у позитивних випадках виявляють невеличкі грампозитивні паличкоподібні бактерії (0,5 x 1-2 мкм) із закругленими кінцями, що розташовуються поодинокі, у виді римської п'ятірки, коротких ланцюжків або паралельно. Збудник спор і капсул не утворює, рухливий.

Ферментативні властивості Дульцит, інουλін і рафінозу лістерії не розкладають. Глюкозу, мальтозу, рамнозу, саліцин, трегалозу - розщеплюють з утворенням кислоти без газу.

Каталазну активність визначають додаванням 5% перекисі водню до добової бульйонної культури в рівному обсязі або декількох крапель в агарову культуру. Утворення пухирців газу («піни») свідчить про наявність у культури ферменту каталази, що характерно для лістерій.

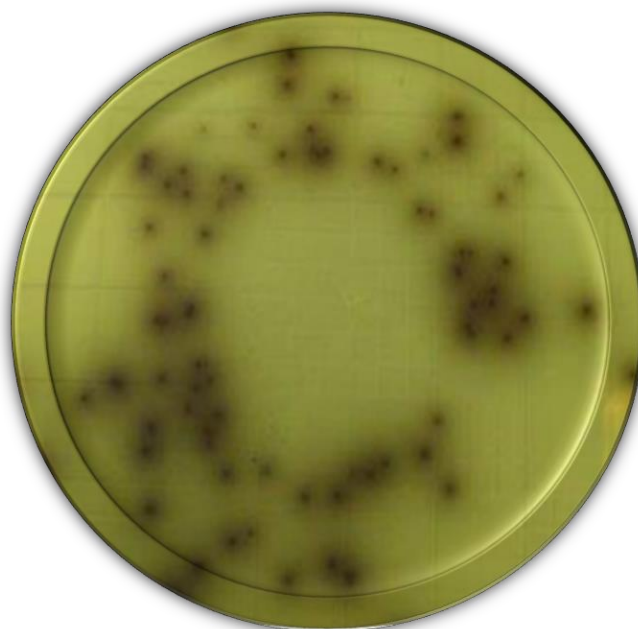


Рис.10.14. Ріст лістерій на диференційно-діагностичному середовищі ПАЛ (поживний агар для лістерій)

З метою диференціації збудника лістеріозу від збудника бешихи свиней використовують також індикаторні середовища з барвниками. Метод заснований на редукції й оксидації фарб у середовищах під впливом лістерій, що ростуть на даних середовищах. Лістерії знебарвлюють середовище з лакмусом, нейтралротом у суміші з метиленовою синькою через 3-6 год., середовище з конгоротом знебарвлюються через 6-48 год. Збудник бешихи свиней не знебарвлює середовищ із барвниками.

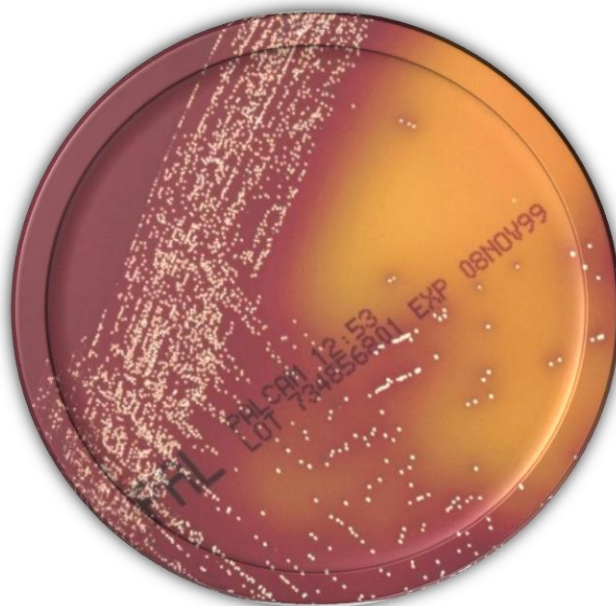


Рис.10.15. Ріст лістерій на диференційно-діагностичному середовищі ПАЛКАМ (поживний агар для лістерій)

Серологічна діагностика. У лабораторію надсилають кров (сироватку крові), відібрану від хворих тварин або при підозрі на захворювання. Ставлять РА і РЗК загальноприйнятими методами.

Результат серологічної діагностики позитивним вважають тоді, коли виявляють специфічні аглютиніни (РА не нижче як у два плюси) у розведеннях крові 1:200 і вище (вівці, кози, свині), 1:400 і вище (коні, велика рогата худоба), 1:500 і вище (кролі).

Біопроба. Суспензією з органів і тканин заражають підшкірно або внутрішньочеревне в дозі 0,3-0,5 мл білих мишей масою 18 гр. Миші гинуть у позитивних випадках через 18-36 год. З внутрішніх органів загиблих тварин проводять посіви на живильні середовища і мазки-відбитки.

Для диференціації збудника лістеріозу від збудника бешихи свиней прибігають до спеціальних тестів визначення патогенності досліджуваної культури: у виді кон'юнктивіальної і шкірної проби. Кон'юнктивіальну пробу ставлять шляхом нанесення досліджуваної добової культури на кон'юнктиву ока морської свинки. Лістерії через 2-4 дня викликають розвиток гнійного кон'юнктивіту. Шкірну пробу ставлять введенням 0,3-0,5 мл добової бульйонної культури підшкірно в область боку кроликові або морській свинці. Лістерії через 1-2 доби викликають некроз шкіри.

Експрес діагностику лістеріозу здійснюють за допомогою РІФ. Реакцію ставлять прямим методом. При виявленні у мазках з патологічного матеріалу типових бактерій і специфічної люмінесценції (на три – чотири плюси) діагноз вважають установленим.

Позитивний бактеріологічний діагноз на лістеріоз ставлять за умови виділення грампозитивної поліморфної, рухливої паличкоподібної бактерії, що володіє каталазною активністю, що розщеплює з утворенням кислоти без газу глюкозу, рамнозу, мальтозу, саліцин, що дає позитивну кон'юнктивіальну або внутрішньошкірну пробу і реагує в РА з лістеріозними сироватками. Як допоміжний метод використовують ідентифікацію лістерії за допомогою лістеріозного бактеріофага L2A і L4A.

Питання для самоконтролю:

1. Морфологічні, культуральні та біохімічні властивості збудника бешихи свиней.
2. Морфологічні, культуральні та біохімічні властивості збудника лістеріозу.
3. Критерії диференціації збудників бешихи свиней і лістеріозу.
4. Лабораторні методи діагностики лістеріозу.
5. Який матеріал надсилають у лабораторію для бактеріологічної діагностики лістеріозу та бешихи ?
6. Морфологія лістерій.
7. При яких результатах дослідження діагноз на бешиху вважається встановленим ?
8. Біопроба при діагностиці бешихи свиней.

10.2.3. Лабораторна діагностика бруцельозу і пастерельозу

Мета заняття. Вивчити морфологічні, культуральні, біохімічні властивості бруцел і пастерел. Ознайомитися з схемою лабораторної діагностики на бруцельоз та пастерельоз.

Матеріальне забезпечення. Фіксовані мазки з бруцелями, зафарбованими за Грамом та за Козловським, фіксовані мазки з пастерелями, атлас, таблиці, малюнки, слайди.

Зміст заняття.

Завдання 1. Вивчити та законспектувати відбір патологічного матеріалу, що направляється в лабораторію для діагностики бруцельозу.

Бруцельоз (*Brucellosis*) – хронічна інфекційна хвороба, яка проявляється абортами, затримкою посліду, ендометритами, розладами відтворної здатності тварин. Рід *Brucella* включає шість видів: *Br. melitensis* – отриманий від кіз і вівців, *Br. abortus* – виділений від ВРХ, *Br. suis* – викликає бруцельоз свиней, *Br. ovis* – збудник бруцельозу баранів, *Br. canis* – виділений від собак, *Br. neotoma* – викликає бруцельоз у чагарникових щурів. Епізоотичне значення має здатність міграції різних видів бруцел від одних тварин до інших. Доведена міграція *Br. melitensis* від кіз і вівців на корови і свині, *Br. suis* – від свиней на кози і вівці.

Патологічний матеріал. Для бактеріологічного дослідження направляють:

При житті – абортований плід з плідними оболонками, навколоплідну рідину, виділення з родових шляхів, шлунок плода, який перев'язаний з обох боків лігатурою. Від абортованих тварин (не раніше ніж через тиждень після абортів) обов'язково досліджують кров. Молоко беруть від корів в стерильні пробірки по 10-15мл з кожної долі вим'я (останні порції). Для дослідження молоко відсилають свіжим (в день відбору) або молоко консервують сухою борною кислотою з рахунку 0,1 г. на 10 мл. молока.

При забої – у самців відправляють сім'яники з придатками. Патологічний матеріал відправляють в свіжому виді або матеріал консервують 30% водним розчином хімічно чистого гліцерину.

Для серологічної діагностики в лабораторію посилають сироватку крові і молоко. Сироватку крові відправляють в свіжому вигляді або консервовану фенолом (0,05 мл 5%-го розчину на 1мл. сироватки), сухою борною кислотою (2-4% до об'єму сироватки).

В лабораторію матеріал доставляють з нарочним або з супровідним листом.

Завдання 2. Вивчити морфологічні і тінкторіальні властивості бруцел за допомогою мазків з бруцелями, пофарбованими за Грамом, Козловським, слайдів та малюнків.

З кожної проби патматеріалу готують два мазки – відбитки з тканин органів або два мазки з рідкого матеріалу, висушують, фіксують над полум'ям і фарбують: один – за Грамом і один – за Козловським.

Бруцели – це дрібні палички або кулеподібні бактерії довжиною 0,6-1,5 мкм, нерухливі, спор не утворюють. В мазку розташовуються ізольовано, попарно або невеликими скупченнями. За Грамом фарбуються в червоний колір.

Фарбування за Козловським. Фіксований препарат фарбують свіже приготівленим 2% водним розчином сафраніну при підігріванні до появи пару (2хв.). Мазок швидко промивають і дофарбовують 1% водним розчином малахітової зелені (1хв.). Висушують фільтрувальним папером і мікроскопують: бруцели – червоні, інші – зелені.

Завдання 3. Вивчити та законспектувати отримання культур бруцел та ідентифікацію видів бруцел.

Для виділення бруцел посіви проводять на спеціальні середовища: м'ясо-пептонний печінковий бульйон, печінково-глюкозо-гліцериновий агар, печінково-глюкозо-гліцериновий бульйон, картопляний агар, еритрит – агар. (Записати з карток склад перелічених середовищ).

Культуральні властивості бруцел. При дослідженні молока потрібно попередньо його центрифугувати (300 об/хв 30 хв.). Отриманий осад висівають на агарове середовище з бактеріостатичною речовиною (МППА з глюкозою і фарбою генціанфіолетовий або малахітовою зеленню). *Треба знати, що Br. abortus в перших генераціях росте при підвищеному вмісті вуглекислоти.* Тому для отримання перших генерацій культури *Br. abortus* з молока або абортіваних плодів і іншого патматеріалу ВРХ половину матеріалу засівають в звичайних умовах і половину – в ексікаторах (при наявності 10-15% CO₂). Для отримання перших генерацій *Br. ovis* – усі посіви культивують при наявності 10-15% CO₂. Перші генерації *Br. melitensis*, *Br. suis* вдається порівняно легко отримати в аеробних умовах. Ріст бруцел проявляється через 7-10-30 і навіть 40 діб.

На щільних середах бруцели ростуть у вигляді S- і R-форми. S-форма: дрібні, прозорі, випуклі з блакитним відтінком колонії, які з часом темніють і зливаються.

В рідких середах ріст бруцел проявляється рівномірним помутнінням і утворенням пристінкового кільця блакитного відтінку, з часом – незначний осад. При виявленні типових колоній, з них готують мазки і пересівають на щільне середовище. Послідуючі пересіви всіх видів бруцел культивують в звичайних аеробних умовах.

Паралельно посівам проводять зараження морських свинок. Для цього готують суспензію з тканин органів, вмісту шлунку плода (1:10 у фізрозчині) в дозі 1мл, 2-3мл. вершки і осаду з молока і вводять свинці підшкірно. Свинка не гине! На 15-25 і 40 доби після зараження у свинок досліджують сироватку крові в РА в розведеннях від 1:10 до 1:80. При отриманні позитивних результатів свинок вбивають і із органів роблять посіви. *Усі виділені культури бруцел після їх ідентифікації знищують в автоклаві при 1,5атм. на протязі години.* При необхідності виділену культуру відправляють в обласну лабораторію, де визначають ферментативні властивості і враховують диференціальні ознаки бруцел.

Біохімічні властивості. Желатину і звернуту сироватку бруцели не розріджують, індол не утворює, сірководень і аміак утворюють в залежності від виду і штаму. Ферментує глюкозу, арабінозу, декстрозу.

Завдання 4. Вивчити та законспектувати відбір патологічного матеріалу для відправки у лабораторію для діагностики пастерельозу.

Збудник пастерельозу - *P. multocida* викликає інфекційну хворобу, яка характеризується явищами септицемії, запально - геморагічними процесами у внутрішніх органах, на серозних та слизових оболонках.

Патологічний матеріал. Для бактеріологічного дослідження направляють кров із серця, печінку, селезінку, трубчасту кістку, лімфатичні вузли. Свіжий матеріал в літній період консервують 30% водяним розчином хімічно чистого гліцерину. Трубчасту кістку очищають від м'яких тканин, обгортають марлею, просоченої 5-10% розчином формаліну.

Завдання 5. Дослідити зафарбовані за Грамом фіксовані мазки з пастерелю під мікроскопом, картину замалювати у зошиті.

Мікроскопія. У позитивному випадку в мазках з культур, пофарбованих за Грамом, виявляють грамнегативні кокобактерії, або короткі палички (0,3-1,5 мкм), що розташовані поодинокі, попарно або у вигляді коротких ланцюжків.

При фарбуванні синькою Лефлера або за Романовським – Гімзою пастерели мають вигляд біполярів (інтенсивно зафарбовані кінцеві відрізки бактеріальної клітини). Біполярність характерна у препаратах, які виготовлені з крові або селезінки тварин. В мазках з культури біполярність спостерігається не завжди. *P. multocida* - грамнегативна, нерухома паличка (0,3-1,5 мкм), яка має капсулу.

Завдання 6. Вивчити та законспектувати культуральні та біохімічні властивості *P. multocida*

Культуральні властивості. *P. multocida* – факультативний анаероб, росте при 37-38°C. На МПА пастерели ростуть у вигляді S-форми: дрібних, випуклих, прозорих круглої форми колоній, R-форми: жорсткі колонії та M-форми: крупні ослизлі колонії. На МПБ з сироваткою спочатку утворюється слабе помутніння а далі – просвітлення бульйону. На дні пробірки – ослизлий осад, який при струшуванні піднімається у вигляді коси.

Біохімічні властивості. На середовищах Гіса *P. multocida* ферментує лактозу, дульцит, саліцин, гліцерин. Продукує індол. Не розріджує желатину, не пептонізує молоко. Не проявляє гемолітичну активність.

Біопроба Зараження лабораторних тварин проводять з метою отримання чистої культури збудника, або виявлення його вірулентності. Голубам суспензію матеріалу вводять внутрішньом'язево в дозі 0,3 мл, білим мишам і крилям - підшкірно.

Питання для самоконтролю:

1. Принципи діагностики бруцельозу тварин у лабораторії.
2. Правила і техніка відбору проб матеріалу, що направляється для мікробіологічної діагностики бруцельозу.

3. Порядок проведення бактеріологічного аналізу патологічного матеріалу для діагностики бруцельозу.
4. Методи ідентифікації бруцел, їхня патогенність.
5. Постановка біопроби при лабораторній діагностиці бруцельозу.
6. Методи серологічної діагностики бруцельозу, її практичне значення.
7. Особливості морфології і тинкторіальних властивостей пастерел.
8. Культуральні та ферментативні властивості пастерел.
9. Схема бактеріологічного дослідження пастерельозу

10.3. ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ

Антропозоозна чума – гостре інфекційне захворювання, що характеризується лімфаденітом, важкою інтоксикацією, ураженням легень, чисельними крововиливами в різних органах і тканинах.

Збудник - *Yersinia pestis*, коротка овоїдна поліморфна нерухлива паличка розміром 1- 2 x 0,3-0,7 мкм, грамнегативна, не утворює спор.

Культуральні властивості. Збудник культивується на звичайних живильних середовищах в аеробних умовах при оптимальній температурі 28°C.

На МПА утворює блискучі сірувато-білі колонії з випуклим центром, плоскими хвилеподібними краями у вигляді мережива.

В МПБ утворюється поверхнева плівка, від якої спускаються вниз ниткоподібні пасма. Пізніше випадає розпушений осад.

Діагностика. Виходячи з того, що чума є надзвичайно небезпечною для людей, усі роботи, пов'язані з патологічним матеріалом, виділення збудника і т. ін., проводять лише в особливо режимних лабораторіях. Застосовують бактеріологічний і серологічний методи.

Псевдотуберкульоз – захворювання, яке характеризується інтоксикацією, виникненням у внутрішніх органах, лімфатичних вузлах утворень, схильних до казеозного переродження і зовнішньо подібних до туберкульозних.

Збудник – *Yersinia pseudotuberculosis*, поліморфна грамнегативна паличка, рухлива (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.

Культуральні властивості. До живильних середовищ мікроб не вибагливий, типовий прототроф, може розмножуватися навіть у ґрунті та воді. Важливим фактором, здатним активно впливати на збудника, є температура культивування. 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, припіднятим центром і вираженою пігментацією.

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. Заключну ідентифікацію виділеної культури здійснюють з урахуванням ферментативної активності на середовищах Гісса, а також за показниками утворення індолу, сірководню, рухливості.

Гемофільозний полісерозит – інфекційне захворювання відлучених порослят, для якого типовими є явища септицемії з виникненням серозно-фібринозного плевриту, перикардиту, перитоніту та артритів.

Культуральні властивості. Збудник культивується в аеробних умовах при температурі 37–38°C на спеціальних живильних середовищах, до яких обов'язково додають ростовий фактор (У-фактор), що міститься у крові, дріжджовому екстракті, продуктах життєдіяльності деяких бактерій. Це комплексна органічна сполука – дифосфопіридиннуклеотид. Із спеціальних живильних середовищ використовують кров'яний МПА, шоколадний і сироватковий МПА. Після посіву на поверхні одного із середовищ у бактеріологічній чашці і 20–30-хвилинного підсушування бактеріологічною петлею роблять хрестоподібний посів негемолітичного білого стафілокока або кишкової палички, які виділяють У-фактор і виконують роль «бакгодівниць». Через 24 год. культивування у зоні, що прилягає до цих годівниць, на відстані 1–2 см утворюються дуже дрібні (0,1–0,2 мм) правильної круглої форми негемолітичні колонії з рівною, випуклою і блискучою поверхнею. Біохімічні властивості вивчені не достатньо.

Гемофільозна плевропневмонія – інфекційне, контагіозне захворювання свиней, яке характеризується фібринозним плевритом і геморагічною пневмонією, що переходить в некротичну. Збудник – *Haemophilus pleuropneumoniae*. Хвороба вперше описана в 1964р. на американському континенті.

За морфологією та культуральними та біохімічними властивостями подібне до *Haemophilus parasuis*, проявляє тропізм до легеневої тканини.

Діагностика захворювання ґрунтується на аналізі епізоотологічних, клінічних і патологоанатомічних даних з обов'язковими бактеріологічними дослідженнями. В лабораторію відправляють шматочки уражених легень, середостінні й бронхіальні лімфатичні вузли, які упаковують у флакони і перевозяться у термосах з льодом.

Бактеріологічне дослідження складається із мікроскопії мазків-відбитків, виділення чистої культури та її ідентифікації.

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. aeruginosa* - паличка синьо-

зеленого гною.

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. Інфекція передається також людям.

Сап відомий людству давно. Його вперше описав Аристотель у IV столітті до н. е. 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.

Культуральні властивості. Збудник сапу культивується в аеробних умовах на звичайних живильних середовищах з додаванням 1-5% гліцерину при оптимумі температури 37°C 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°C він гине через 5 хв, у воді та гниючих матеріалах виживає до 14-30, у висушеному гною – до 7-15 днів. Широко застосовувані розчини дезінфікуючих речовин знищують збудника протягом 1 год.

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, вівців. При введенні великих доз збудника сап виникає також у білих мишей, пацюків, свиней, великої рогатої худоби. Птиця і холоднокровні 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 летальне. 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.

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*.

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 Франціє (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. Збудник нерухливий, фарбується грамнегативно, не утворює спор, капсулу має непостійно, облігатний аероб.

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, сироватці, що зсілася, у жовтковому міхурі курячих ембріонів, а також деяких культурах клітин.

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. Дезінфікуючі засоби в звичайних робочих концентраціях надійно знищують його.

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, вівців, 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 трупі 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 серологічній діагностиці ставлять пробіркову і кров'яно-крапельну 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 діагностиком, пасивної гемаглютинації, преципітації.

Алергічний метод передбачає використання алергену тулярину, в 1 мл якого міститься 500 млн клітин туляремійних мікробів, убитих нагріванням при 76°C 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.

10.4. ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ

1. Вкажіть тинкторіальні властивості *Erysipelothrix rhusiopathiae*:

А. Грампозитивна	Б. Грамнегативна
В. Рухлива	Г. Нерухома

2. Вкажіть тинкторіальні властивості *Listeria monocytogenes*:

А. Грампозитивна	Б. Грамнегативна
В. Рухлива	Г. Нерухома

3. Вкажіть патологічний матеріал, що надсилають в бактеріологічну лабораторію для діагностики бешихи:

- А. Гнійний ексудат ран, фурункульозів, абсцесів, проби молока.
- Б. Шматочки серця, селезінки, нирку, трубчасту кістку.
- В. Головний мозок, шматочки печінки, легень, нирку, абортований плід та його оболонки.
- Г. Усі перелічені

4. Як по іншому називається Пастерельоз?

А. Геморагічна септицемія	Б. Ку-гарячка
В. Пулороз	Г. Холера птиць

5. Бруцельоз у кіз викликає:

А. <i>Brucella melitensis</i>	Б. <i>Brucella abortus</i>
В. <i>Brucella ovis</i>	Г. <i>Brucella suis</i>

6. Бруцельоз у ВРХ викликає:

- A. *Brucella melitensis*
B. *Brucella ovis*

- Б. *Brucella abortus*
Г. *Brucella suis*

7. Назвіть збудника сапу:

- A. *Francisella tularensis*
B. *Pseudomonas pseudomallei*

- Б. *Pseudomonas mallei*
Г. *Francisella tularensis*

8. *Salmonella* на агарі Ендо утворює:

- A. Прозорі, рожеві, дрібні колонії S-форми;
Б. темно-фіолетові або чорні дрібні колонії S-форми;
В. рожеві дрібні колонії S-форми;
Г. дрібні колонії S-форми, вишневого кольору з металевим блиском

9. Для серологічної ідентифікації бруцел використовують:

- A. Роз-бенгал пробу
Б. Реакцію мікроаглютинації
В. Реакцію аглютинації
Г. РП за Асколі

10. На підставі спільності соматичних антигенів схема Кауфмана – Уайта розроблена для:

- A. Ешерихій Б. Сальмонел В. Лістерій Г. Бруцел

ТЕМА 11. ПАТОГЕННІ СПОРОГЕННІ БАКТЕРІЇ

11.1. ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА

11.1.1. Збудник сибірки

Сибірка (*Anthrax*) – гостре зооантропонозне інфекційне захворювання багатьох видів свійських і диких тварин, що характеризується гарячкою, септицемією, інтоксикацією організму, серозно-геморагічними запаленнями підшкірної сполучної тканин і внутрішніх органів, утворенням набряків та карбункулів.

Збудник хвороби – Bacillus anthracis, аеробна нерухома спороутворювальна грампозитивна паличка, високочутлива до антибіотиків, в організмі оточена капсулою. Капсулу розглядають як фактор вірулентності. Вона забезпечує захист мікроба від фагоцитозу, бактерицидної дії сироватки та фіксацію його на клітинах тканин.

Спори утворюються в нейтральному або слабколужному середовищі за наявності кисню, температури 12-42°C і недостатньої кількості поживних речовин у середовищі. За оптимальних умов на утворення спор потрібно не менше 8 год.

У мазках з культур, що дають типовий ріст на щільних і рідких поживних середовищах, палички розташовуються довгими ланцюжками. Мазки і відбитки з тканин загиблих тварин, а також мазки з крові дуже добре фарбуються метиленовою синню Лефлера. Препарати з культур можна фарбувати 1-2 хв. розведеним 1:10 фуксином Циля і метиленовою синню. Дана бактерія (вегетативна форма) грампозитивні, але в молодих і старих культурах зустрічаються і грамнегативні клітини.

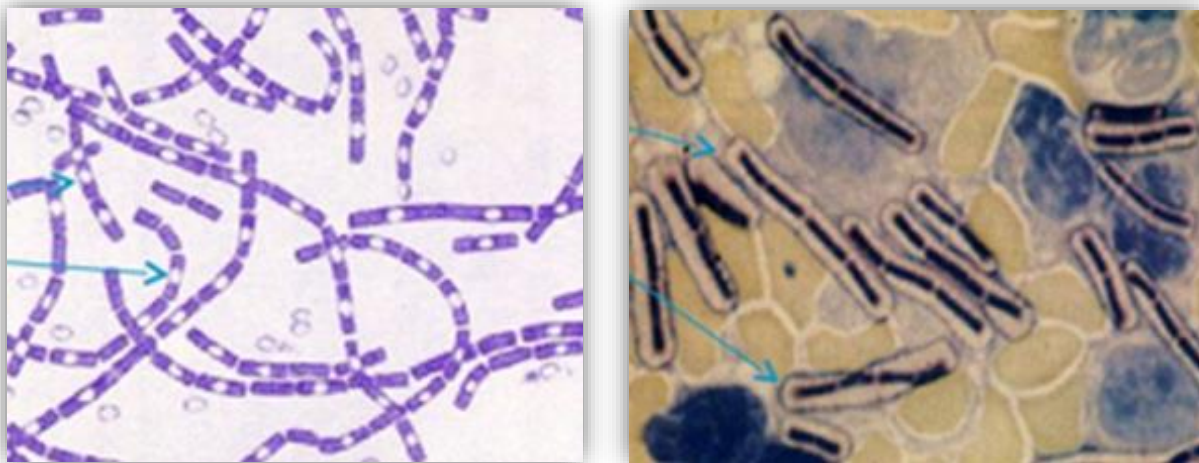


Рис.11.1.Збудник сибірки на МПА (ліворуч) і в крові

В організмі або при культивуванні на штучних поживних середовищах з великим вмістом нативного білка і CO_2 бацила утворює виражену капсулу. При несприятливих умовах існування збудник має здатність формувати спори. Спори бацили антраксі овальні, іноді округлі, що сильно заломлюють світло. При температурі нижче 12 і вище 42 $^{\circ}\text{C}$, а також у живому організмі або в трупі, в крові та сироватці тварин спори не утворюються.

Культивування. Сибірковий мікроб за способом дихання відносять до факультативних анаеробів: він однаково добре розвивається в умовах підвищеної аерації, в тому числі і в атмосфері кисню, і в анаеробних умовах.

Збудник сибірки невибагливий до живих середовищ, ає пишний ріст на МПБ і МПА. В бульйоні ріст у вигляді крупних пластівців, які через добу осідають на дно пробірки нагадуючи "жмуток вати".

На агарі ріст бацил сибірки можна помітити під малим збільшенням мікроскопа вже через 4 години після вирощування в термостаті. Через 18-20 годин з'являються добре розвинені колонії збудника сибірки – великі, шорсткі, матові, білувато-сірі, по зовнішньому виду нагадують пухкий сніг, що тане. Типовим для молодих колоній сибірки є наявність тонких відростків - "вусиків". Під малим збільшенням мікроскопа (у 10-60 разів) колонії мають вид локонів, що складаються зі сплеть довгих ниток мікробів і отримали назву "голови медузи", "левової гриви".

Біохімічні властивості. Збудник сибірки може розкладати з утворенням кислоти без газу глюкозу, мальтозу, сахарозу. При посіві на молоко воно зсідається повільно, через 2-4 доби і надалі також повільно

пептонізується. Лакмусове молоко червоніє за рахунок утворення кислоти.

У збудника сибірки встановлена наявність каталази і лецитінази, немає уреазної та фосфотазної активності, він чутливий до пеніциліну, лізується специфічними бактеріофагами, патогенний для лабораторних тварин.

Токсиноутворення. Бацила антраксі утворює складний екзотоксин. Він складається з трьох компонентів (факторів), які позначаються: едематогенний фактор (ЕФ), протективний антиген (РА) і летальний фактор (LF) або відповідно фактори I, II, III. Їх синтезують капсульні і бескапсульні варіанти мікроба.

Едематогенний фактор викликає місцеву запальну реакцію - набряк і руйнування тканин. У хімічному відношенні це ліпопротеїн.

Протективний антиген - носій захисних властивостей, має виражену імуногенну дію. У чистому вигляді нетоксичний.

Летальний чинник сам по собі нетоксичний, але в суміші з другим чинником (РА) викликає загибель щурів, білих мишей і морських свинок.

Протективний антиген і летальний фактор - гетерогенні в молекулярному відношенні білки. Всі три компоненти токсину складають синергическую суміш, яка надає одночасно ерс-матогенне і летальну дію, кожен з них має виражену антигенну функцію і серологічно активний.

Інвазивні властивості мікроба обумовлені капсульною поліпептидом d-глутамінової кислоти і екзоферментів.

Антигенна структура. До складу антигенів бацили антраксі входять неімуногенний соматичний полісахаридний комплекс і капсульний глутамінполіпептид. Полісахаридний антиген не створює імунітету у тварин і не визначає агресивних функцій бацили, його завжди виявляють як у вірулентних, так і авірулентних штамів. У зв'язку з тим що полісахарид тісно пов'язаний з тілом бактеріальної клітини, він отримав назву соматичного антигену. Сибірковий соматичний антиген дуже часто позначається літерою С, капсульний поліпептид - буквою Р. Капсульний антиген бацили антраксі представлений складним поліпептидом d-глутамінової кислоти і розглядається як групоспецифічна речовина, так як він дає перехресні серологічні реакції з поліпептидом *B. subtilis*, *B. cereus* і *B. megaterium*. Активними антигенами також є всі три компоненти сибирезвенного екзотоксину.

Стійкість. Стійкість і тривалість виживання у вегетативних клітин і спор збудника сибірської виразки різні. Перші лабільні, другі досить резистентні. В нерозкритому трупі вегетативна форма мікроба в результаті дії протеолітичних ферментів руйнується вже протягом 2-3 діб, в заритих трупах може зберігатися до 4 днів, через 7 діб завершується лізис бактерій навіть у кістковому мозку. У шлунковому соці при температурі 38° С гине через 30 хв, у замороженому м'ясі при мінус 15°С залишається життєздатною 15 днів, в засоленому м'ясі – до 1,5 міс. Спори в ґрунті виживають понад 50 років.

По впливу різних хімічних речовин вегетативні клітини малостійкі. Спирт, ефір, 2% формалін, 5% фенол, 5-10% хлорамін, свіжий 5% розчин хлорного вапна, перекис водню їх руйнують протягом 5 хв.

Для знищення спорової форми збудника потрібна більш тривала експозиція. Етиловий спирт у концентраціях від 25% до абсолютного вбиває спори протягом 50 днів і більше, 5% фенол, 5-10% розчин хлораміну знешкоджують спори через кілька годин і навіть діб, 2% розчин формаліну - через 10 -15 хв., 3% розчин перекису водню - через 1 год, 4% розчин перманганату калію - через 15 хв., 10% розчин гідроокису натрію - через 2 год.

Вегетативні клітини також малостійкі і до температурних факторів. При нагріванні до 50-55 ° С гинуть протягом 1 год., при 60 ° С - через 15 хв., при 75 ° С - через 1 хв, при кип'ятінні - миттєво. Вони чутливі до висушування, проте при повільному висушуванні настає спороутворення і мікроб не гине. Низькі ж температури їх консервують. Так, при мінус 10°C бактерії зберігаються 24 дні, при мінус 24°C - 12 днів.

Вплив прямого сонячного світла знешкоджує бактерії через кілька годин. На спори висушування взагалі згубно не діє. Сухий жар при температурі 120-140°C вбиває спори тільки через 2-3 год., при 150°C - через 1 год, поточний пар при 100°C - через 12-15 хв., автоклавування при 110°C - за 5-10 хв, кип'ятіння - через 1 год.

Збудник сибірки проявляє високу чутливість до пеніциліну, хлортетрацикліну і левоміцетину, а також до літичної дії лізоциму. Бактеріостатичний ефект протягом 24 год. має свіжонадоєне молоко корів.

Патогенність. До збудника сибірки сприйнятливі багато видів тварин. Із сільськогосподарських тварин це – вівці, велика рогата худоба, коні та свині, з диких – дикі жуйні, вовки, лисиці, тигри, леви, пантери, з лабораторних – білі миші, морські свинки, кролі та голуби. Вважається, що собаки та свійська птиця до збудника сибірки не сприйнятливі.

Джерелом збудника інфекції є хворі тварини, що виділяють бацили сибірки у зовнішнє середовище з кров'янистою рідиною, фекаліями, сечею, а резервуаром його є ґрунт.

Поширювачами збудника можуть бути м'ясоїдні тварини, які, поїдаючи контаміноване спорами сибірки м'ясо, виділяють їх із фекаліями впродовж трьох тижнів. Переносниками збудника сибірки можуть бути й кровосисні комахи. Небезпечними осередками сибірки є старі захоронення загинувших від сибірки тварин, звідки спори можуть виноситися на поверхню ґрунту під час весняного паводка та сильних дощів.

Для сибірки характерна стаціонарність осередків, яка зумовлюється тривалим збереженням спор у землі, а також весняно-літня сезонність, що пов'язано зі збільшенням контакту тварин із забрудненими спорами збудника пасовищами. Взимку хвороба виникає тільки в разі згодовування раніше контамінованих сибірковими спорами кормів (сіна, соломи).

Патогенез. Бацила антраксі володіє вираженою інвазивністю і легко проникає через подряпини шкіри або слизових оболонок. Зараження тварин відбувається переважно аліментарно. Через ушкоджену слизову травного тракту мікроб проникає в лімфатичну систему, а потім в кров, де фагоцитуюється і розноситься по всьому організму, фіксуючись в елементах лімфоїдної-макрофагальної системи, після чого знову мігрує в кров,

зумовлюючи септицемію.

Розмножуючись в організмі, бацила антракси синтезує капсульний поліпептид і виділяє екзотоксин. Капсульні речовина інгібує опсонізацію, в той час як екзотоксин руйнує фагоцити, вражає центральну нервову систему, викликає набряк, виникає гіперглікемію і підвищується активність лужної фосфатази.

В термінальній фазі процесу в крові знижується вміст кисню до рівня, несумісного з життям. Різко порушується метаболізм, розвивається вторинний шок і настає загибель тварин.

Збудник сибірки з організму може виділятися з бронхіальним слизом, слиною, молоком, сечею і екскрементами.

Розтинати труп при підозрі на сибірку категорично забороняється. У разі випадкового розтину виявляються досить характерні патологоанатомічні зміни, які виражені тим краще, чим повільнішим був перебіг хвороби. Труп здутий, швидко розкладається. Трупне задубіння не виражене або виражене дуже слабо. З природних отворів виділяється піниста кров'яниста рідина. Кров густа, дьогтеподібна, чорно-червоного кольору, не згортається. М'язи мають темно-червоний колір, в'ялу консистенцію. Селезінка різко збільшена, в'яла, дає великі зіскрібки дьогтеподібної консистенції.

Лабораторна діагностика. Для лабораторного дослідження на сибірську виразку найчастіше направляють вухо загиблої тварини.

Можна взяти кров з надрізу судини і нанести товсту краплю на предметне скло. При вимушеному забої або підозрі на сибірську виразку під час розтину обережно відбирають шматочки селезінки, печінки, змінені лімфовузли. Від трупів свиней беруть шматочки набряклих тканин в області глотки і заглоткові лімфовузли. Матеріал повинен бути свіжим: в розклалися тканинах бацила антракси лізується. Досліджують також проби ґрунту, фуражу, води, вовни і шкіряно-хутряної сировини; об'єктами для серологічного дослідження по реакції преципітації служать проби шкіряно-хутряної сировини та розклалися тканини.

Дослідження проводять за схемою: мікроскопія мазків, виділення і вивчення властивостей чистої культури, біопроба на лабораторних тваринах, при необхідності серологічні дослідження – реакція преципітації і імунофлюоресцентний аналіз.

Бактеріоскопія. З патологічного матеріалу для мікроскопії готують мазки, частина фарбують за Грамом і обов'язково на капсули по Міхіну, Ребігеру, Ольта та ін. Важливою діагностичною ознакою є виявлення типових за морфології капсульних паличок.

Посів на поживні середовища. Вихідний матеріал засівають у МПБ і на МПА (рН 7,2-7,6), інкубують посіви при температурі 37°C протягом 18-24 год, при відсутності росту їх витримують в термостаті ще 2 доби. Культури проглядають, визначають їх типовість, готують препарати, мікроскопують. У мазках з культур виявляють безкапсульні палички та спори.

Біологічна проба. Здійснюється на білих мишах, морських свинках, крілях, одночасно з посівом матеріалу на живильні середовища. Білих мишей

заражають підшкірно в задню частину спини (по 0,1-0,2 мл), морських свинок і кроликів - під шкіру в область живота (по 0,5-1,0 мл). Миші гинуть через 1-2 діб, морські свинки і кролики - через 2 - 4 діб. Полеглих тварин розкривають, роблять мазки і посіви з крові серця, селезінки, печінки та інфільтрату на місці ін'єкції досліджуваного матеріалу.

Ідентифікація бацили антраксі. У природі існує ряд видів аеробних спорових подібних до збудника сибірки сапрофітів. До них відносять: *B. cereus*, *B. megaterium*, *B. mycoides* і *B. subtilis*. Так як вони з морфології та культуральними ознаками багато в чому схожі з бацилою антраксі, то часто при лабораторних дослідженнях виникає необхідність вирішити питання: виділена культура належить до збудника сибірки або подібного йому сапрофіта (антракоїда).

Ідентифікацію і диференціацію культури проводять на підставі головних і додаткових ознак. До перших відносяться патогенність, капсулоутворення, тест "перлинного намиста", імунофлюоресцентний тест. Додатковими є нерухомість, відсутність гемолізу, лецитиназна активність.

Збудник сибірки патогенний для лабораторних тварин, антракоїди не викликають їх загибель, за винятком *B. cereus*, яка може вбити білих мишей при внутрішньоочеревинному зараженні. Масивну з чіткими контурами капсулу в організмі утворює тільки збудник сибірської виразки.

Тест " намиста перлів" заснований на пригніченні пеніциліном синтезу клітинної стінки бацили антраксі та утворення сферопластів. Випробувану тригодинну бульйонну культуру висівають на МПА в чашки Петрі: у першій чашці міститься 0,5, у другій - 0,05 ОД пеніциліну на 1 мл середовища, третя - контрольна. Посіви інкубують 3 год при температурі 37°C. На агарі з пеніциліном бацила антраксі росте у вигляді ланцюжків, що складаються з кулястих форм, що нагадують намисто з перлів. Антракоїди на агарі з пеніциліном цього феномену не дають.

Проба бактеріофагом (лізабельність фагом). Сибірковий фаг, взаємодіючи з гомологічною культурою, викликає її лізис. Ця реакція високо специфічна і її застосовують для ідентифікації бацили антраксі, а також диференціації її від антракоїдів. В якості індикаторних у нас в країні випускають два штами фагів: «К» ВІЕВ і «Гамма» МВА. Розроблено пробіркових метод, мікрометод і реакція наростання титру фага.

Імунофлюоресцентний тест. Ідентифікація збудника сибірської виразки за допомогою флуоресцентних антитіл - орієнтовний метод і вимагає додаткового вивчення вірулентності, капсулоутворення, фагочутливості.

Рухливість встановлюється мікроскопічно або шляхом посіву культури уколом у стовпчик 0,3%-ного агару. Нерухомі культури ростуть тільки по ходу уколу, рухливі - дають дифузний ріст. Збудник сибірської виразки нерухомий, багато спороутворюючих аеробних сапрофітів – рухливі.

Гемолітична активність не може бути надійним критерієм диференціації бацили антраксі, як правило, ця бактерія не гемолізує еритроцити барана або ж лізує їх дуже повільно, але ця ознака у різних штамів варіабельна.

Лецитиназна активність у збудника сибірки низька: цей мікроб або дуже

повільно згортає, або взагалі не згортає жовток курячого яйця. *B. cereus* інтенсивно синтезує лецитиназу і викликає згортання жовтка через 6-10 годин. Не утворює бацила антракси і фосфатазу, в той час як сапрофітні спорові аероби його продукують.

Серологічне дослідження. Для виявлення сибіркових антигенів застосовують реакцію преципітації за Асколі. Цю реакцію використовують для дослідження на сибірку шкіряної та хутряної сировини, а також для дослідження свіжого патологічного матеріалу і серологічної ідентифікації виділених культур. Реакція преципітації за Асколі – достовірний і широко застосовуваний в практиці тест серологічної діагностики сибірки. Як серологічний тест головним чином для вивчення антигенного спектру бацили антракси, застосовують реакцію дифузійної преципітації (РДП). Для виявлення свіжих випадків і ретроспективної діагностики сибірки у людини запропоновано алерген антраксин.

Діагноз на сибірку вважається установленим у разі виділення з патологічного матеріалу культури з властивостями, характерними для збудника сибірки, та загибелі хоча б однієї лабораторної тварини. Позитивний діагноз установлюють також у разі відсутності в посівах з патологічного матеріалу росту культури, але загибелі хоча б однієї лабораторної тварини з двох заражених і виділення з її органів культури з властивостями, характерними для збудника сибірки. Позитивна реакція преципітації під час дослідження гнильного патологічного матеріалу також є підставою для встановлення діагнозу. Диференціальна діагностика передбачає необхідність відрізнити сибірку від пастерельозу, емкару, злоякісного набряку, браздоту, ентеротоксемії, бабезіозу.

Імунітет. Після перехворюванні тварини на сибірку у неї формується тривалий і стійкий імунітет. Для активної імунізації тварин проти сибірки запропоновано кілька вакцин. В Україні для профілактичних і вимушених щеплень усіх видів сільськогосподарських тварин проти сибірки застосовують спорову вакцину зі штаму 55 та вакцинний препарат антракоз, запропонований академіком А.І. Завірюхою. Забороняється використання протисибіркових вакцин одночасно з іншими біологічними чи хімічними препаратами.

11.1.2. Збудники клостридіозів

Емфізематозний карбункул (*Gangraena emphysematosa*) – неконтагіозна токсико-інфекційна хвороба великої рогатої худоби з гострим перебігом, що характеризується утворенням швидко збільшуються крепітуючих набряків в м'язах тіла і кульгавістю.

Історична довідка, поширення, ступінь небезпеки і збиток. Хвороба відома з найдавніших часів. Перший науковий опис її дано в 1872 р. Ф. Шабером, який диференціював ЕМКАР від сибірки. Збудник ЕМКАРУ виявили та описали О. Боллгер в 1875 р. і Фезер в 1876 р. Вони ж вперше відтворили хворобу.

Емфізематозний карбункул великої рогатої худоби поширений у всіх країнах світу незалежно від географічного розташування і ґрунтово-кліматичних умов. У неблагополучних господарствах заподіює великої шкоди через загибель тварин і витрат на проведення протиепізоотичних заходів.

У нашій країні захворюваність незначна. Однак, незважаючи на застосування високоефективних вакцин та проведення планових профілактичних щеплень, в неблагополучних місцевостях хвороба залишається серйозною проблемою

Збудник ЕМКРУ – *Clostridium chauvoei* являє собою прямі або злегка зігнуті, з закругленими кінцями палички, що розташовуються поодинокі, парами, рідше короткими ланцюжками; в молодих культурах грампозитивні.

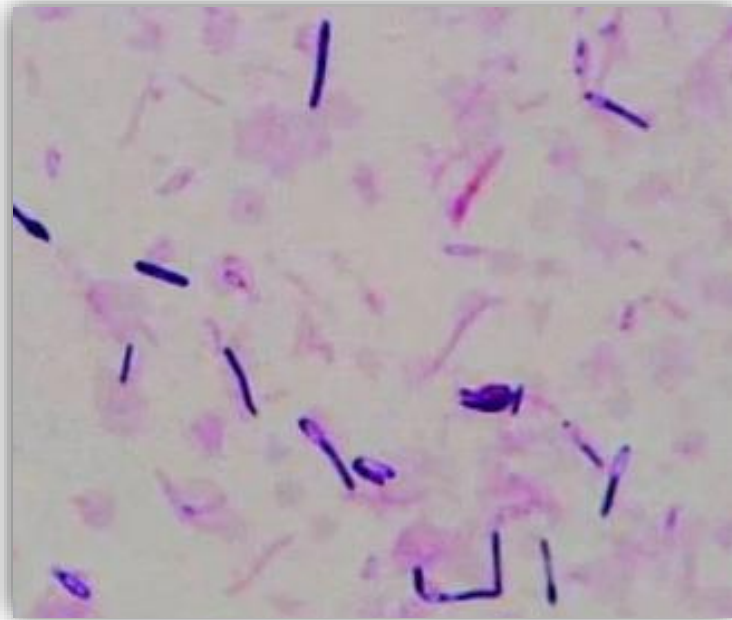


Рис.11.2. *Clostridium chauvoei*, мікроскопія

Клітини відрізняються поліморфізмом, особливо в тканинах тварин. Добре ростуть на анаеробних поживних середовищах. Старі культури мають запах згірклого масла. Відомо кілька токсичних компонентів збудника: альфа, бета-і дельта-токсини.

Спори збудника дуже стійкі: кілька років зберігають життєздатність у ґрунті, в гниючих м'язах, гної – до 6 міс, на дні водойм – понад 10 років, в солонині – більше 2 років.

У висушеному стані спори втрачають життєздатність при нагріванні до 100 - 105С за 2 - 12 хв.

Прямі сонячні промені вбивають їх за 24 год. При відповідних умовах в ґрунті збудник може вегетувати і розмножуватися.

Найбільш ефективними дезінфектантами є 3-4%-ний розчин формальдегіду, 10%-ний розчин гідроксиду натрію.

Епізоотологія. До ЕМКРУ сприйнятлива велика рогата худоба, в тому числі буйволи. У вівців збудник ЕМКРУ самотійного значення не має,

частіше виділяється при злякисному набряку.

Відзначено більш висока сприйнятливість до хвороби великої рогатої худоби поліпшених, культурних, особливо м'ясних порід (з великої м'язовою масою), більш вгодованих особин. Часто хворіють тварини, привезені в неблагополучну зону з інших господарств, або імпорتنі. Хворіє худоба будь-якого віку, але найбільш чутливий молодняк віком від 3 міс до 3-4 років.

Джерело збудника інфекції - хворі тварини, фактори передачі - інфіковані спорами збудника ґрунт, корми, пасовища, вода заболочених водойм.

У інфікуванні зовнішнього середовища основне значення мають несвоєчасно прибрані трупи і спори збудника в ґрунті і воді, що підтримують стаціонарність епізоотичних вогнищ хвороби. Відзначається чітко виражена літньо-осіння сезонність.

Зараження відбувається при проникненні збудника в шлунково-кишковий тракт разом з кормом або водою.

Патогенез. Зараження відбувається при попаданні спор в стравохід з кормами і питною водою. Проникаючи в кров, збудник розноситься по організму і осідає в частинах тіла, багатих м'язами. Хвороба виникає в результаті проростання спор в м'язовій тканині після їх потрапляння туди з печінки або кишечника. У багатій глікогеном м'язовій масі, особливо у дебелих тварин, створюються сприятливі умови для проростання спор і продукування токсину. На місці локалізації збудника розвивається запалення. Мікроби викликають руйнування кровоносних судин і розпад тканин з появою кров'янистого ексудату і бульбашок газу, що утворюється в результаті життєдіяльності збудника. Згодом формується і швидко збільшується, кріпінуюча припухлість – карбункул.

При цьому підвищується температура тіла, послаблюється серцева діяльність, порушуються фізіологічні функції внутрішніх органів, особливо печінки. Продукти розпаду і токсини призводять до загальної інтоксикації організму, порушення діяльності серця і дихання і швидкої загибелі тварини.

Діагностика і диференціальна діагностика. Діагноз на емфізематозний карбункул встановлюють на підставі епізоотологічних даних, симптомокомплексу хвороби з урахуванням патологоанатомічних змін і результатів лабораторних досліджень (мікроскопії мазків-відбитків, бактеріологічного дослідження та біопроб на морських свинках).

Трупи щоб уникнути поширення збудника хвороби *розкривати не рекомендується*. Тому шматочки м'язів відбирають без повного розтину трупа. Якщо труп випадково розкритий, беруть шматочки паренхіматозних органів, підшкірної клітковини, набряклий ексудат, кров. При пересиланні краще використовувати добре висушені м'язи.

Остаточний діагноз встановлюють при виділенні культури збудника з патматеріалу і загибелі морської свинки після зараження її отриманої культурою і наявності типової патологоанатомічної картини або позитивної біопроб з характерною патологоанатомічною картиною і виділенням культури.

При диференціальній діагностики необхідно насамперед виключати

сибірку і злоякісний набряк.

Імунітет, специфічна профілактика. Після перехворювання формується напружений імунітет. Тварини старше 4 років несприйнятливі до ЕМКАРу, вони набувають імунітету внаслідок імунізуючої субінфекції. Високою імунною активністю володіють концентрована гідрооксідомінієва формолвакцина проти ЕМКАРу (імунітет зберігається протягом 6 - 7 міс) і жива вакцина (імунітет тривалістю до 1 року і більше). Використовується також асоційована жива вакцина проти сибірської виразки і ЕМКАРу.

Злоякісний набряк (*Oedema malignum*, газовий набряк, лихий набряк) – гостра ранова неконтагіозна токсикоінфекція всіх видів тварин, що характеризується сепсисом, швидким розвитком разових крепітувальних набряків та некрозом тканин.

Історична довідка. Поява у тварин після поранення крепітувальних набряків відома з давніх-давен. Проте інфекційну природу захворювання було встановлено лише в 1877 р., коли Луї Пастер і Жуберт вперше виділили з трупа корови септичний вібріон - *Vibri- on septiquae*.

У 1881 р. Р. Кох і Гафкі детально вивчили цю хворобу в експерименті і назвали її «злоякісним набряком», а збудника – *B. oedematiens maligni*, який виявився ідентичним септичному вібріону Пастера. Пізніше завдяки удосконаленню бактеріологічної діагностики було з'ясовано етіологічне значення й інших анаеробів - *C. perfringens*, *C. welchii*), якого відкрили і описали в 1892 р. Уелч і Неттал, та *C. histolyticum*, виділеного в 1916 р. Вейнбергом і Сегеном, які в асоціації зумовлюють характерний симптомокомп- лекс цієї хвороби.

Злоякісний набряк трапляється в різних країнах світу, проходить спорадично, характеризується високою летальністю. Економічні збитки, яких завдає злоякісний набряк, незначні у зв'язку з поодинокими випадками цієї хвороби.

Збудники хвороби - анаеробні спороутворювальні умовно-патогенні мікроорганізми з роду клостридій – *C. septicum*, *C. perfringens (welchii)*, *C. histolyticum*, *C. novji (oedematiens)*, які є постійними мешканцями поверхневих шарів ґрунту, забруднених фекаліями тварин.

Клостридії є поліморфними паличками із заокругленими кінцями. У молодих культурах за Грамом забарвлюються позитивно. В живому організмі, свіжовиділених культурах та зовнішньому середовищі утворюють овальні спори, які перевищують поперечник мікробної клітини, розміщуються в центрі або на її кінці. Спори дуже стійкі до впливу різних фізико-хімічних факторів, роками зберігаються в ґрунті та водоймах.

У патологічному матеріалі, особливо в набряковій рідині та крові, клостридії виявляються рідка, мають вигляд поодиноких або парних паличок. У препаратах-відбитках з поверхні ураженої печінки та у виділеній культурі клостридії мають вигляд довгих ланцюжків і ниток, особливо *C. septicum*. Збудники злоякісного набряку рухливі, за винятком *C. perfringens*, який, крім того, утворює в організмі капсули.

Клостридії культивуються на живильних середовищах в анаеробних

умовах за температури 37 - 38°C, pH = 7,4.

Ріст на середовищі Кітт - Тароцці супроводжується помутнінням середовища й газоутворенням у перші 15 - 24 год культивування з наступним випаданням осаду.

На глюкозо-кров'яному агарі Цейслера формують різні колонії: *C. novji* (*oedematiens*) - вуалеподібні з ніжними відростками, оточені зоною гемолізу; *C. septicum* – безбарвні, круглі, з нерівними краями й непостійним гемолізом, *C. perfringens* – сірі, зеленуваті за доступу повітря, округлі із зоною непрозорого гемолізу.

В живому організмі та на рідких живильних середовищах клостридії утворюють токсини, до складу яких входять дуже активні компоненти - альфа-токсин (летальний, некротичний та гемолітичний фактор), бета - токсин (фермент дезоксирибонуклеази), гамма-токсин (фермент гіалуронідази), дельта-токсин - гемоліз, що зумовлює лізис еритроцитів барана, коня, людини.

У культуральних фільтратах *C. septicum* виявлені також фібринолізин і колагеназа.

Епізоотологія хвороби. До злоякісного набряку сприйнятливі всі види свійських тварин, особливо вівці та коні, менш чутливі – велика рогата худоба й свині. Кози, собаки, коти на злоякісний набряк не хворіють. Експериментальна інфекція можлива у курей, голубів, морських свинок, кроликів, білих щурів, мишей.

Джерелом збудників хвороби є здорові тварини, у кишках яких клостридії перебувають як умовно-патогенні мікроорганізми, виділяються з фекаліями і контамінують землю, підстилку, гній, різні предмети навколишнього середовища.

Природне зараження тварин відбувається тільки в разі порушення цілості шкіри й підшкірної клітковини внаслідок глибоких травм, ударів та уколів. Через них збудники злоякісного набряку із землею та фекаліями проникають в організм і швидко розмножуються.

Шляхом прямого контакту хворої й здорової тварин збудники хвороби не передаються. Захворювання може виникати також у вигляді ускладнень при тяжких пологах або недбало проведених кастраціях самців, введенні нестерильних розчинів різних лікарських засобів.

Патогенез. Після проникнення в травмовану тканину збудники хвороби швидко розмножуються, утворюють високоактивні токсини, які зумовлюють розщеплення глікогену м'язів з виділенням газу, що призводить до утворення запальних набряків, тяжкої загальної інтоксикації організму, порушення серцевої діяльності та швидкої загибелі тварин.

Клінічні ознаки та перебіг хвороби. Інкубаційний період триває від 12 год до 5 - 6 діб, що залежить від вірулентності збудників та загальної резистентності організму. Перебіг хвороби завжди гострий. Клінічні симптоми у всіх видів тварин майже однакові і залежать від місця травмування.

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. 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 клітини мають характерний для цього мікроорганізму вигляд тенісної ракетки.

Збудник добре фарбується аніліновими фарбниками, грампозитивний у молодій культурі. В старих культурах переважають грамнегативні клітини.

Культуральні властивості. *Cl. botulinum* – облігатний анаероб. Культивується на спеціальних живильних середовищах: глюкозо-кров'яному агарі Цейслера, середовищі Кітт-Тароцці, бульйоні Хотингера з шматочками печінки, під вазеліновим маслом.

Температурний оптимум залежить від сероваріанту збудника. Збудники сероварів А, В, С та Д краще ростуть при температурі 35°C, Е та F – при 28-30°C. Спори останніх двох сероваріантів можуть проростати навіть при температурі 4°C. 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 р-гемолізу.

Середовище Кітт-Тароцці спочатку стає мутним, пізніше проясняється і на дні пробірки з'являється осад.

Біохімічні властивості. *Cl. 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 згірклого 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 (Сі, Сд), D, Е, F та G. Кожний серологічний варіант характеризується специфічною імуногенністю, продукує відповідний екзотоксин. Визначають токсини за допомогою реакції нейтралізації. 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°C – 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 автоклаву ванні протягом 30 хв. спори усіх сероваріантів збудника гинуть.

Спори *Cl. 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 слабо-кислого 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, напіврефлекторної 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 покривах, катарально геморагічне запалення слизової оболонки кишечника. Головний мозок набряклий, з ознаками крововиливів.

Лабораторна діагностика ґрунтується на виявленні токсину і в меншій мірі на виділенні збудника.

В лабораторію надсилають проби корму, підозрюваного в токсиноутворення, 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 Кітт-Тароцці. Частина його прогрівають при температурі 80°C протягом 1 год. і засівають на глюкозо-кров'яний агар Цейслера. Інкують кілька днів, періодично продивляючись посіви. При появі ознак росту на живильному 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. Цитровану 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 інтраперитонально або підшкірне. Паралельно заражають мишей цим же, але прогрітим при 100°C 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°C. Тварини, які одержали суміш токсину з гомологічною сироваткою, виживають, решта – гинуть.

Імунітет при ботулізмі антитоксичний і типоспецифічний. Перехворілі тварини залишаються чутливими до інших сероварів збудника (токсинів). Механізм імунітету остаточно не з'ясований.

Для штучної імунізації тварин застосовують ботуліновий анатоксин. Нині імунізують головним чином хутрових звірів, зокрема норок, оскільки цим тваринам нерідко згодують неякісні м'ясні продукти, внаслідок чого вони часто хворіють на ботулізм.

Застосовують концентрований формол-галуновий анатоксин типу С. Норкам вводять його з 40-денного віку до 1 мл внутрішньо м'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. maltocida* 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.

11.2. ПРАКТИЧНА ЧАСТИНА

11.2.1. Лабораторна діагностика сибірки

Мета. Засвоїти правила відбору та пересилки патологічного матеріалу для лабораторного дослідження на сибірку, методи мікроскопічного, біохімічного та серологічного дослідження сибірки, а також методи диференціації збудника сибірки від сапрофітних аеробних бацил.

Матеріальне забезпечення. Культури вакцинного штаму *Bacillus anthracis* на МПБ, МПА; фіксовані мазки-препарати з патматеріалу, набір фарб для фарбування за Грамом, Ольтом; пробірки Уленгута, пастерівські піпетки; стандартна преципітуюча сибіркова сироватка, нормальна сироватка (для контролю), стандартний сибірковий антиген; фізрозчин, лійки для фільтрування, азбестова вата. Для демонстрації: таблиці, малюнки, слайди, біопрепарати.

Зміст заняття.

Збудник сибірки - *Bacillus anthracis* (рід *Bacillus*) викликає інфекційну хворобу багатьох видів сільськогосподарських і диких тварин, а також і людини. Хвороба характеризується явищами септицемії або утворенням карбункулів. У свиней характерною ознакою є ураження заглиткових лімфовузлів. При підозрі на

сибірку (здуття трупа, кров'янисто-пінисті витікання з природних отворів, незгорнута «лакова кров») труп розтинати не можна, щоб уникнути потрапляння збудника у ґрунт, де він утворює спори.

Завдання 1. Вивчити та законспектувати відбір патологічного матеріалу для відправки у лабораторію при підозрі на сибірку.

Для бактеріологічного дослідження в лабораторію надсилають вушну раковину (якщо труп лежить на правому боці – правого вуха і навпаки). На основі вушної раковини зав'язують дві паралельні лігатури. Між ними раковину відрізають. Місце розтину вуха припікають нагрітим шпателем. Не знімаючи лігатури, відрізане вухо завертають у чисту марлю (ганчірку), просочену 3% розчином карболової кислоти, потім - у поліетиленову плівку чи пергаментний папір, кладуть у герметично закриту ємність (коробку, металевий ящик). Можна надсилати мазки крові. Місце надрізу попередньо дезінфікують 75%-м етиловим спиртом, а після взяття крові припікають розжареним металом. Кров товстим прошарком наносять на 3-4 предметних скельця, висушують на повітрі. При підозрі на сибірку у свиней (підчас огляду туш - наявність припухлості в області шиї) беруть ділянки набрякової сполучної тканини, заглоткові лімфовузли. Якщо труп тварини випадково розтинали, у лабораторію надсилають шматочок селезінки.

Завдання 2. Продивитися готові мазки з крові від хворої на сибірку тварини. Приготувати фіксований мазок з культури вакцинного штаму *Bacillus anthracis* на МПА, зафарбувати за Грамом, картину замалювати у зошит.

З патологічного матеріалу готують мазки, фарбують за Грамом, Міхіним, Романовським-Гімзою. *Bacillus anthracis* являє собою велику грампозитивну паличку. Клітини розташовуються поодинокі, парами або у вигляді коротких ланцюжків. Внутрішні кінці паличок мов би обрубано, вільні кінці заокруглено. У матеріалі від свиней форма мікроба може бути нетиповою: короткі, товсті, зернисті палички інколи «роздуті» по центру чи на кінцях. У мазках із тканин тварини палички сибірки оточені капсулою. На звичайних живильних середовищах збудник капсулу не утворює. У мазках із культур *B. anthracis* має вид стрептобацил (довгі ланцюжки з паличок). У культурах і в зовнішньому середовищі мікроб синтезує спору, що звичайно розташовується центрально.

Мікроскопічне виявлення в мазках з органів і тканин тварини великих, із підрубленими кінцями грампозитивних капсулоутворюючих паличок дає підставу поставити попередній діагноз на сибірку й орієнтувати ветеринарних спеціалістів на проведення відповідних заходів.

Завдання 3. Вивчити культуральні і біохімічні властивості збудника сибірки.

B. anthracis – аероб, температурний оптимум 37-38°C, добре росте на звичайних живильних середовищах, рН 7,2-7,6, нерухомий.

З метою виділення збудника з досліджуваного матеріалу роблять посіви на МПА, МПБ й інкубують протягом 18-24 год., при відсутності росту – ще 48 год.

На МПА *B. anthracis* утворює плоскі матові шорсткуваті колонії (R-форма) із затемненим центром, із локоподібними відростками, що

нагадують сплетення довгих ланцюжків із паличкоподібних мікроорганізмів.

У МПБ збудник росте з утворенням пухкого, у виді шматочка вати, осаду, середовище залишається прозорим. Деякі штами можуть обумовити легке помутніння бульйону. У мазках з агарової і бульйонної культур виявляють характерні грампозитивні палички.

B. anthracis ферментує з утворенням кислоти без газу глюкозу, мальтозу, сахарозу, трегалозу, фруктозу та декстрини. Дає позитивну реакцію Фогес-Проскауера. Редукує метиленовий синій.

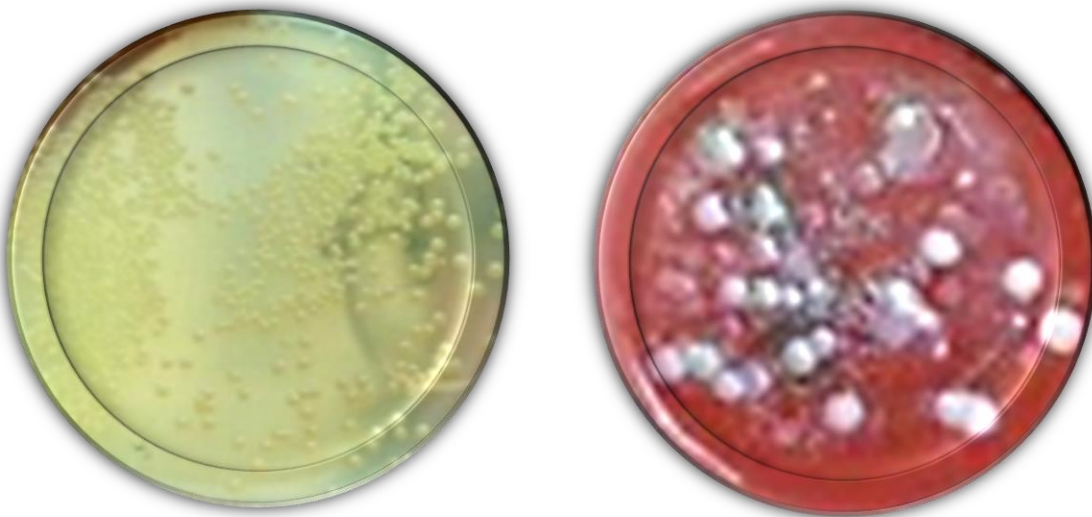


Рис.11.3. *B. anthracis* на МПА (ліворуч) і кров'яному агарі

Завдання 4. Вивчити методи диференціації антраксі від антракоїдів.

У сумнівних випадках у виділеної культури визначають рухливість, гемолітичні властивості, чутливість до бактеріофага сибірки, пеніциліну (тест «намиста перлів»), забарвлюють препарати з культури люмінесцентною сироваткою сибірки, визначають патогенність. Вивчення перерахованих властивостей *B. anthracis* необхідно з метою диференціації його від сапрофітних бацил. Основні диференційні ознаки подані в таблиці.

Для визначення чутливості до пеніциліну культуру висівають у пробірки з МПА, що містить 0,5 і 0,05 ОД пеніциліну в 1 мл середовища, інкубують у термостаті протягом 3 год. при 37-38°C. Клітини збудника набувають кулеподібної форми («намисто»), що є наслідком чутливості *B. anthracis* до пеніциліну і представляє початкову стадію його L-трансформації.

Ідентифікацію культури також здійснюють за допомогою бактеріофага сибірки, частіше методом краплі, що стікає, застосовуючи бактеріофаг сибірки Гама-МВА або К-ВІЭВ. З цією метою після засіву поверхні скошеного МПА досліджуваною культурою (або патматеріалом) у пробірку вносять краплю фага і ставлять її в термостат вертикально, крапля стікає на дно пробірки. При наявності *B. anthracis* на поверхні МПА після інкубування в термостаті буде спостерігатися ріст культури, за винятком ділянки, де стікала крапля фага - стерильна зона (доріжка). При рості інших видів мікроорганізмів спостерігається суцільний ріст культури, доріжки стікаючої краплі не буде.

Таблиця 11.1

Диференційні ознаки збудника сибірки та сапрофітних бацил

Ознаки	Види бактерій роду <i>Bacillus</i>				
	<i>B. anthracis</i>	<i>B. cereus</i>	<i>B. megaterium</i>	<i>B. mycoides</i>	<i>B. subtilis</i>
Рухливість	-	+	+	+	+
Капсулоутворення	+	-	-	-	-
Гемоліз (на кров'яному агарі)	-	+	-	+	+
Чутливість до пеніциліну (феномен намиста)	+	-	-	-	-
Чутливість до фагу сибірки	+	-	-	-	-
Реакція з люмінесцентною сироваткою (сибірковою)	+	-	-	-	-
Патогенність для білих мишей	+	+	-	-	-

Люмінесцентну мікроскопію проводять прямим або непрямим методом. Позитивним результатом вважають контурне світіння бацилярних клітин на чотири і три хрести.

Біопробу ставлять на білих мишах або морських свинках. Тварин заражають підшкірно суспензією тканин органів або культурою збудника. Доза для мишей 0,1-0,2 мл, для морських свинок 0,5 – 1 мл. При наявності збудника сибірки тварини гинуть протягом 24-48 год. Труп тварин розтинають і проводять повне бактеріологічне дослідження.

Завдання 5. Розібрати дослідження шкіряної сировини на сибірку за допомогою РП за Асколі, записати в зошит.

За допомогою реакції преципітації можна виявити специфічний антиген у патологічному матеріалі, відібраному від трупів, а також у шкіряній сировині.

Для цього свіжий матеріал, витримують протягом 18-20 год. у термостаті, а несвіжий – відразу після доставки у лабораторію, екстрагують гарячим чи холодним способами.

– при гарячому способі шматочки досліджуваного матеріалу (1-2 г) кладуть у пробірку або колбу, заливають ізотонічним розчином натрію хлориду у співвідношенні 1:10 і кип'ятять протягом 30 хв. у водяній бані.

– при холодному способі шматочки матеріалу масою 1-2 г розтирають у ступці з піском, кладуть у колбу, заливають 0,3%-м карболізованим ізотонічним розчином у співвідношенні 1:10 й залишають на 16-18 год. при кімнатній температурі.

Одержані екстракти фільтрують через азбестову вату (перші краплі фільтрату видаляють). Екстракт повинен бути прозорим.

Постановка реакції:

– *шляхом нашарування*. В уленгутівську пробірку наливають 0,2 – 0,3 мл стандартної преципітуючої сибіркової сироватки й пастерівською піпеткою нашаровують таку ж кількість одержаного екстракту.

– *шляхом підшарування*. Спочатку вносять екстракт, а потім піпеткою обережно додають специфічну сироватку.

Якщо протягом 15 хв. (при кімнатній температурі) на межі екстракту і сироватки з'явиться білувате кільце (преципітат), реакцію вважають позитивною.

Діагноз на сибірку вважають встановленим при одержанні позитивного результату хоча б в одного з таких випадків:

1) виділенні з досліджуваного матеріалу культури бактерій, патогенної для лабораторних тварин з властивостями, характерними для збудника сибірки;

2) загибелі заражених тварин і виявленні в їхньому організмі збудника сибірки при негативних висівах із вихідного досліджуваного матеріалу на живильні середовища;

3) позитивному результаті імунофлуоресценції в сполученні з виявленням капсульних мікроорганізмів, типових для збудника сибірки в патологічному матеріалі;

4) позитивному результаті РП.

Контрольні питання

1. Правила відбору патологічного матеріалу.
2. Методи бактеріологічної діагностики сибірки.
3. Морфологічні, тінкторіальні і культуральні властивості *B. anthracis*.
4. Диференціювання *B. anthracis* від сапрофітних спороутворюючих аеробів.
5. Ідентифікація за допомогою бактеріофага сибірки.
6. Феномен «наміста перлів».
7. Серологічні методи виявлення антигену сибірки в досліджуваному матеріалі.

11.2.2. ЛАБОРАТОРНА ДІАГНОСТИКА ПАТОГЕННИХ АНАЕРОБІВ

Мета. Засвоїти правила відбору та пересилки патологічного матеріалу для бактеріологічного дослідження, відмінні особливості морфологічних, культурально-біохімічних властивостей збудників емкару, злякисного набряку, анаеробних інфекцій вівців, правцю, ботулізму. Засвоїти схему лабораторної діагностики некробактеріозу.

Матеріальне забезпечення. Мазки зафарбовані за Грамом. Живильні середовища Кітт-Тароцці, глюкозо -кров'яний агар (в чашках Петрі), середовище Вільсона - Блера. Для демонстрації необхідні таблиці (морфологія мікробів - анаеробів, форми колоній), біопрепаратів. Таблиця бактеріологічного

дослідження, атлас.

Зміст заняття:

Патогенні анаероби відносяться до роду *Clostridium* – це збудники злоякісного набряку, емфізематозного карбункулу, браздоту, ентеротоксемії вівців, правця, ботулізму.

До роду *Clostridium* відносять збудників:

Cl. chauvoei – збудник емфізематозного карбункулу (ЕМКАР) великої рогатої худоби, рідше вівців і кіз. Це гостре інфекційне захворювання яке характеризується лихоманкою, розвитком в окремих групах м'язів крепітуючих пухлин.

Cl. perfringens, *Cl. novyi*, *Cl. histolyticum*, *Cl. septicum*, кожен із цих збудників може викликати злоякісний набряк - захворювання різних видів тварин. Характеризується виникненням запальних набряків з утворенням газу, смертвінням уражених тканин, загальною інтоксикацією організму, високою летальністю.

Cl. perfringens типів Д і С викликає інфекційну анаеробну ентеротоксимию вівців. Хвороба характеризується геморагічним ентеритом, нервовими явищами, ураженням нирок, загальною інтоксикацією.

Cl. septicum та *Cl. novyi* (*oedematinens* типу А) викликає браздот – гостре неконтагіозне захворювання вівців і кіз, що характеризується геморагічним запаленням сичуга і дванадцятипалої кишки, судомами, високою летальністю.

Cl. tetani – збудник правцю тварин і людини. Це гостре інфекційне захворювання, характеризується високою рефлексорною збудливістю, судомними скороченнями м'язів.

Cl. botulinum – збудник ботулізму. Це гостре кормове отруєння тварин, зумовлене токсином збудника. Характеризується ознаками нервово паралітичного характеру. Летальність становить 85-100%.

Завдання 1. Вивчити та законспектувати відбір патологічного матеріалу для відправки в лабораторію при підозрі на клостридіози.

Для дослідження на емфізематозний карбункул і злоякісний набряк в лабораторію направляють шматочки уражених м'язів, тканинний ексудат, уражені ділянки сполучної тканини, а також паренхіматозні органи. Від трупів вівців для диференціації злоякісного набряку від браздоту, окрім того, беруть частину сичуга і тонкого відділу кишечника з вмістом.

Для дослідження на браздот направляють крім шматочків сичуга, тонкого відділу кишечника, ексудат з грудної і черевної порожнини, некротичні ділянки печінки.

Для дослідження на інфекційну ентеротоксимию тварин, анаеробну дизентерію ягнят направляють ділянку тонкого відділу кишечника з вмістом, перев'язану з обох кінців, а також частину печінки, селезінки і нирки. Патматеріал направляють не пізніше 4 годин після загибелі тварини.

Для дослідження на ботулізм направляють вміст шлунку, кусочки печінки тварин, що загинули, а також проби підозрілих кормів (силос, зерно,

комбікорм, і риб'ячі відходи). Патологічний матеріал відбирають не пізніше, як через 2 години після загибелі тварини, доставляють в термосі з льодом. Проби не консервують.

Завдання 2. Вивчити та законспектувати лабораторну діагностику при дослідженні на емфізематозний карбункул.

Мікроскопія. Мазки фарбують за методом Грама чи Муромцева. *Cl. chauvoei* рухлива, в молодих культурах – грампозитивна, в старих грамнегативна. Спори утворює в трупах та у зовнішньому середовищі. Поліморфна, товста з заокругленими кінцями паличка (веретено-, шаро-, та грушоподібна). Палички розміщено поодинокі, попарно, інколи - у вигляді коротеньких ланцюжків.

Культуральні властивості. Посів проводять на середовище Кітт-Тароцці, МПБ, МПА. Несвіжий матеріал перед посівом прогрівають протягом 15-20 хв. При температурі 80°C. Одночасно культуру висівають на глюкозо-кров'яний агар. Посіви витримують в анаеробних умовах 24-48 год. На рідкому середовищі спостерігається спочатку помутніння і відмічають газоутворення. Згодом бактерії осідають на дно і бульйон стає прозорим. На агарі через 24 год, утворюються колонії у вигляді перламутрового гудзика або виноградного листка.

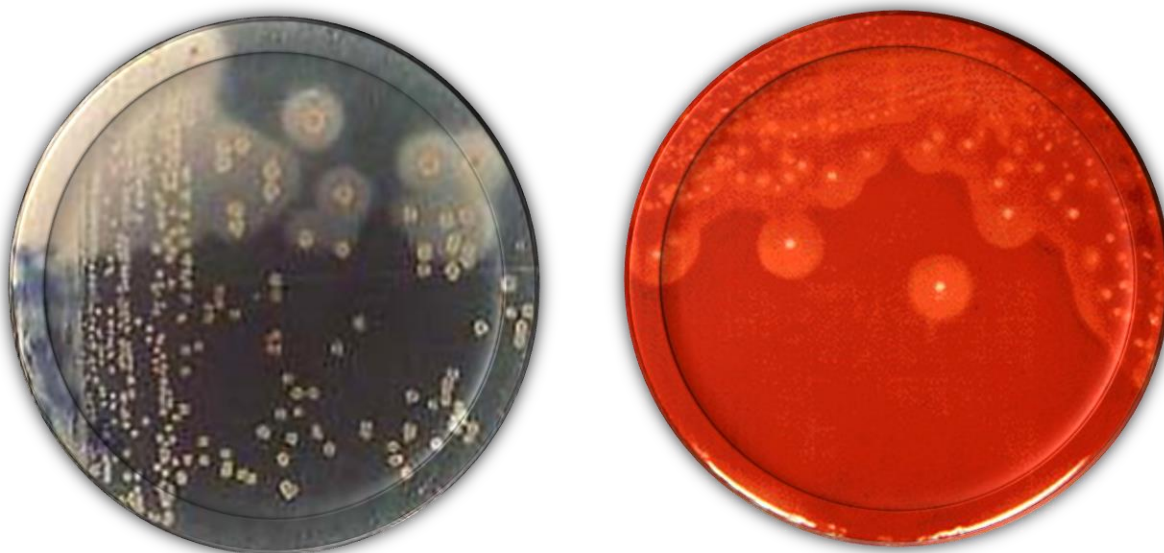


Рис. 11.4. Лецитиназна (ліворуч) і гемолітична активність клостридій

Біохімічні властивості. Ферментує з утворенням кислоти і газу глюкозу, лактозу, мальтозу. Розріджує желатин і коагулює молоко.

Біопроба застосовується для заключного діагнозу. Вірулентні лише свіже отримані культури. Заражають морських свинок підшкірно в області живота сумішшю з м'язів, або культурою в дозі 0,5-1 мл. Спостерігають 8 днів. Тварини гинуть на протязі 24-96 год. У полеглих свинок на шкірі відмічають серозно-некротичне утворення, розлиті або крапчасті крововиливи, шкіра від пошкоджених м'язів відділяється важко, м'язи темно-червоні, газоутворення незначне, кишечник не здутий, жовчний міхур переповнений жовчю. Із місця введення матеріалу, крові серця і печінки полеглої тварини проводять посів на середовище Кітт-Тароцці і готують мазки-відбитки з поверхні печінки.



Рис.11.5. Коагуляція молока клостридіями

Діагноз рахують встановленим при одержанні одного із результатів:

- виділення із патологічного матеріалу культури із властивостями характерними для *Cl.chauvoei*, загибелі хоча б одної морської свинки із типовою патологоанатомічною картиною і виділення із її органів культури збудника;
- загибелі хоча б одної морської свинки із двох заражених вихідним матеріалом при наявності типових змін і виділення із її органів культури збудника, якщо навіть в посівах із вихідного матеріалу культури не виділено.

Завдання 3. Вивчити та законспектувати морфологічні та культуральні властивості основних збудників злоякісного набряку (табл. 11.2), та біологічні властивості збудників (табл. 11.3.)

Завдання 4. Вивчити, та законспектувати лабораторну діагностику при дослідженні на інфекційну ентеротоксемію тварин .

Мікроскопія. Мазки готують із ураженої нирки і вмісту тонкого відділу кишечника, фарбують за Грамом. При наявності *Cl.perfringens* типів Д і С знаходять грампозитивні, товсті короткі палички із заокругленими кінцями, рухливістю не володіють.

Культуральні властивості. Посіви проводять на середовище Кітт-Тароцці, інкубують в умовах термостату 2-3 год і проводять пересів у пробірки з середовищем Кітт-Тароцці. Після 3-5 таких пересівів (протягом доби) культури висівають на глюкозо-кров'яний агар. (табл. 1).

Визначення токсину Cl. perfringens. Вміст кишечника у колбі змішують з подвійною кількістю фізіологічного розчину, розмішують і центрифугують протягом 30 хв. При 2000 об/хв. або фільтрують через бактерійний фільтр. Фільтрат вводять кролю у вену (1-2 мл), білим мишам - внутрішньочеревно (0,3-0,5 мл). При наявності токсину кролі гинуть через кілька хвилин, білі миші - через 1,5-3 год. Специфічність токсину визначають у реакції нейтралізації за допомогою типоспецифічних сироваток

Таблиця 11.2

Морфологічні та культуральні властивості основних збудників злоякісного набряку

Назва збудника	Морфологія збудника при фарбуванні за Грамом	Характеристика росту на середовищі Кітт-Тароцці	Форми колоній на агарі Цейслера
<i>Cl. septicum</i>	Ізольовані палички із заокругленими кінцями, в мазках відбитках з серозних оболонок - нитки	Інтенсивне помутніння, утворення газу	Утворюються колонії навколо яких-зона β гемоліз
<i>Cl. oedematiens</i>	Великі поліморфні палички із заокругленими або обрубленими кінцями, розміщені поодинокі, рідка попарно	Ріст більш інтенсивний внизу, через 18-24 год бульйон світліє, на дні осад, незначне газоутворення	Шорсткі, складчасті з нерівними краями і випуклим темним центром
<i>Cl. sordellii</i>	Поліморфні палички із заокругленими кінцями, розташовані ланцюжком	Інтенсивне помутніння внизу і помірне газоутворення	Колонії неправильної форми складчасті з сіруватою, шорсткою поверхнею
<i>Cl. perfringens</i>	Товсті палички із злегка заокругленими кінцями розташовані поодинокі	Швидке помутніння і бурне інтенсивне газоутворення	Круглі, гладенькі, випуклі сірувато-зелені колонії Сильний гемоліз
<i>Cl. histolyticum</i>	Стрункі тоненькі палички із заокругленими кінцями, рідко ланцюжками	Інтенсивне помутніння без утворення газу	Дрібні, круглі гладенькі колонії з рівними краями, гемоліз відсутній
<i>Cl. sporogenes</i>	Палички із заокругленими кінцями, розташовані поодинокі, інколи ланцюжком	Шматочки печінки обгорненні слизовим осадом, верх середовища прозорий	Колонії тягучі з порізними краями, нагадують коріння зануренні в агар

Завдання 5. Вивчити та законспектувати лабораторну діагностику при дослідженні на правець.

Мікроскопія. Збудник правцю – *Cl. tetani*. Це тоненька грампозитивна рухлива паличка. Утворює спори, які розміщено переважно термінально, у вигляді барабанної палички.

Дослідження проводять в двох напрямках, визначення токсину і бактеріологічне дослідження.

Таблиця 11.3

Біологічні властивості збудників злоякісного набряку

Назва збудника	Чутливі лабораторні тварини	Патологоанатомічні зміни у морських свинок при зараженні збудниками злоякісного набряку
<i>Cl. septicum</i>	Морські свинки, кролики, білі миші	Шкіра легко відділяється від м'язів. М'язи і підшкірна клітковина світло-червоного кольору. В підшкірній клітковині велика кількість пухирців газу. Кишечник здутий, заповнений рідкими масами, містить пухирці газу в грудній порожнині і серцевій сорочці значна кількість трансудату.
<i>Cl. oedematiens</i>	Те ж	На місці введення спостерігається желатиноподібний набряк від жовтого до слабо-рожевого кольору. М'язи бліді
<i>Cl. sordellii</i>	Те ж	Те ж
<i>Cl. perfringens</i> типи-A і Д	Те ж	Шкіра на місці введення часто відшаровується від м'язів, утворюючи мішок. М'язи мають вигляд вареного м'яса, сіруватого кольору. Кишечник здутий.
<i>Cl. perfringens</i> типи B і C	Те ж	Шкіра на місці введення легко відділяється, але не відшаровується. Мускулатура суха, червоного кольору різних відтінків. Кишечник здутий, геморагічно запалений, інколи утворюються виразки (тип B).
<i>Cl. histolyticum</i>	Те ж	При підшкірному зараженні в більшості випадків спостерігається одужання морських свинок. При зараженні в м'яз стегна шкіра червоно-фіолетового кольору, напружена, інколи лопає. М'язи втрачають свою структуру, розчиняються і перетворюються в кашоподібну масу з домішками згустків крові. М'які тканини відділяються від кісток і судин. Газ не утворюється, гнильного розпаду немає.

Визначення токсину. Суспензію досліджу вального матеріалу 1:2 на фізрозчині ділять на дві частини. Одну використовують для виділення збудника, другу витримують при кімнатній температурі 1 год для екстрагування токсину, після чого його фільтрують через ватно-марлевий або паперовий фільтр. Фільтратом заражають підшкірно в задню кінцівку 2-3 білих миші в дозі 0,5-1 мл, або двох морських свинок в дозі 3-5 мл. При позитивній біопробі через 48-96 год. у тварини розвиваються клінічні ознаки захворювання, які характеризуються тетанічними скороченнями м'язів спочатку окремих груп, а потім всієї мускулатури. Тварини гинуть в характерній позі з витягнутими кінцівками і викривленням хребта в бік кінцівки, в яку вводили матеріал. Термін

спостереження за зараженими тваринами - до 10 днів. При виявленні в досліджуваному матеріалі токсину правця подальшу роботу по виявленню культури не проводять.

Бактеріологічне дослідження. Посіви із патматеріалу проводять на середовище Кітт-Тароцці з рН 7,2-7,4 з додаванням 0,5% глюкози. Для виділення чистої культури збудника первинний посів прогрівають при 80°C - 20хв., або при 100°C 2-3хв. І проводять дробний посів на бактеріологічні чашки з кров'яним агаром Цейслера. На середовищі Кітт-Тароцці утворюється помутніння із незначним газоутворенням. Через 48-72 год. настає просвітління бульйону, на дні - осад. Культура має запах спаленого рога. На кров'яному агарі утворює ніжні колонії із зоною гемолізу. При одержанні в первинних посівах характерного росту і виявлення паличок, морфологічно подібних із збудником, культуру 4-5 діб витримують в термостаті і виявляють наявність в них токсину.

Завдання 6. Вивчити та законспектувати лабораторну діагностику при дослідженні на ботулізм.

Мікроскопія. Мазки фарбують за Грамом. Наявність у полі зору грам позитивних паличок, овальних спор, характерних „тенісних ракеток" дає змогу впевнитися, що у матеріалі є збудник ботулізму.

Культуральні властивості. На середовищі Кітт-Тароцці росте із характерним поступовим помутнінням середовища (на 2-3 добу) газоутворення, і характерний запах прогірклого масла. На середовищі Цейслера - круглі колонії схожі на відростки коріння із зоною прозорого гемолізу.

Визначення токсину. Екстракт фільтрують через вату, або центрифугують, ділять на дві частини одну з них прогрівають в кип'ячій водяній бані 20-30 хв. Кожним фільтратом заражають внутрішньовенне або внутрішньочеревне двох білих мишей 0,5-0,8 мл. Морським свинкам підшкірне 3-5 мл. При наявності токсину ботулізму, зараженні неінактивованим фільтратом, гинуть на 2-5 добу з характерною клінікою ботулізму (хитка ходьба, прискорене дихання, розслаблення скелетних м'язів, западання черевної стінки - „осина талія"). Тварини, яким ввели інактивованій фільтрат - живі. У хворих тварин беруть кров і відразу вводять внутріочеревно двом білим мишам або морським свинкам. Спостереження ведуть 5 діб. При виявленні в дослідному матеріалі токсину ставлять реакцію його нейтралізації з типовими ботулінними сироватками Сироватки типу А, В, С, Д, Е по 0,2 мл змішують в одній пробірці, додають 1 мл досліджуваної суміші, витримують 45 хв при кімнатній температурі, або 30 хв. При температурі 35-37°C. Потім по 0,8 мл вводять внутріочеревно двом білим мишам. Одночасно двом іншим тваринам вводять дослідний матеріал в тій же дозі в суміші з рівною кількістю фізрозчину (контроль). При наявності токсину ботулізму білі миші, яким дослідний матеріал вводили в суміші з сироватками, залишаються живими, а контрольні гинуть на 2-4 добу з характерною клінікою ботулізму.

Контрольні питання:

1. Який патологічний матеріал надсилають у лабораторію для діагностики клостридіозів?

2. Морфологічні, тінкторіальні властивості збудників клостридіозів.
3. Культуральні властивості збудників клостридіозів.
4. Бактеріологічний метод діагностики емкару.
5. Принцип ідентифікації збудників злоякісного набряку.
6. Методика визначення токсину *Cl.perfringens*.
7. Схема бактеріологічної діагностики правцю.
8. Виявлення правцевого токсину у патологічному матеріалі та мікробній культурі.
9. Виявлення ботулінічного екзотоксину.

11.3. ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ

Правець (*Tetanus*) – гостра ранова неконтагіозна інфекція людини та тварин. Характеризується підвищеною рефлексорною 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. Правець у людини вперше описав Гіппократ (IV століття до н. е.), звернувши увагу на ригідність м'язів (*tetani* – затвердіння), звідси й латинська назва захворювання *tetanus*. 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).

Морфологія. *Cl. tetani* –тоненька паличка, довжиною від 3 до 12 мкм, діаметром 0,3-0,8 мкм. 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.

Культуральні властивості. *Cl. tetani* – облігатний анаероб. Оптимальна для його розвитку температура 36-38 °С, р'Н –7,4-7,6. Збудник культивується на спеціальний живильних середовищах. На середовищі Кітт-Тароцці 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 ялинко подібний ріст та повільне розрідження желатини. При культивуванні на мозковому середовищі спостерігається незначне його почорніння.

Біохімічні властивості. Збудник правця в біохімічному відношенні малоактивний. Він не змінює ні моносахариди, ні багатоанатомні спирти. Лише окремі його штами здатні ферментувати глюкозу. *Cl. tetani* має незначно виражені протеолітичні властивості. Ферменти пероксидаза та оксидаза відсутні, що пояснює надзвичайну чутливість збудника правця до атмосферного кисню.

Резистентність. У вегетативній формі збудник термолабільний – гине протягом 20-30 хв при 60-70 °С, швидко інактивується під дією дезінфікуючих 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 % розчин хлорного вапна – за 10 хв, 5 % розчин фенолу – за 8-10 год, 5 % розчин креоліну – за 5 год, 1 % розчин азотнокислого срібла – за 1 хв.

Антигенна структура. Збудник правця містить соматичний (О) та джгутиковий (Н) 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 правця 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 нейротропістю. 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-токсином, 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 зумовлених ними патологічних процесів в організмі уражених тварин. Екзотоксин *Cl. tetani* термолабільний – при 60°С руйнується протягом 30 хв, при 65°С – 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 правця 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 правця, 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 розміжчені рани, із змертвілими тканинами, а також глибокі колоті. У вівців 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 правця 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 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 вівців 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 правець виник після родів або абортів, 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 правця. В природі циркулюють ряд інших надзвичайно подібних за морфологією до *CI. tetani* мікроорганізмів.

Культуру збудника одержують, здійснюючи посів матеріалу на середовище Кітт - Тароцці з наступним пересівом на глюкозо-кров'яний агар. Перед посівом досліджуваній матеріал прогрівають протягом 20 хв при 80 °С або 2 - 3 хв при 100 °С 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 внутрішньо м'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 досліджуваній 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 правця. У той же час жуйні тварини на це здатні. В організмі останніх постійно виявляють

антитоксини. Вважається, що вони є результатом субінфекції, зумовленої розмноженням токсиноутворюючого збудника правця в рубці. У деяких випадках імунітет може бути трансплацентарним або колостральним. Імунітет проти правця 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 правцевий 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, внісши 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 правця 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-Euenza» 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 гіперімунізацією коней, інколи великої рогатої худоби або вівців. 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 – пів дози вводять підшкірно та пів дози — 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.

11.4. ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ

1. Вкажіть живильні середовища, на яких культивують патогенні анаероби.

- А. МПА Б. МПБ В. агар Ендо Г. Кітт-Тароцці

2. Вкажіть, на чому базується тест «намисто перлів»

- А. На трансформації *B. anthracis* в L – форму під впливом пеніциліну
Б. На трансформації *E. coli* в L – форму під впливом пеніциліну
В. На трансформації S – форми колонії *B. anthracis* в R – форму
Г. На трансформації S – форми колонії *E. coli* в R – форму

3. Вкажіть збудника злоякісного набряку:

- А. *Clostridium perfringens* Б. *Clostridium tetani*
В. *Clostridium chauvoei* Г. *Clostridium botulinum*

4. Вкажіть збудника емфізематозного карбункулу:

- А. *Clostridium perfringens* Б. *Clostridium tetani*
В. *Clostridium chauvoei* Г. *Clostridium botulinum*

5. Вкажіть збудника правця:

- А. *Clostridium perfringens* Б. *Clostridium tetani*

B. Clostridium chauvoei

Г. Clostridium botulinum

6. Вкажіть збудників брадзоту вівців:

A. Clostridium perfringens

Б. Clostridium tetani

B. Clostridium chauvoei

Г. Clostridium botulinum

7. На яке поживне середовище проводять посів з патологічного матеріалу для виявлення клостридій?

A. МПА

Б. МПБ

В. Кітт-Тароцці

Г. Агар Левина

8. На якому поживному середовищі культивують *B. anthracis*?

A. МПА

Б. МПБ

В. Кітт-Тароцці

Г. Агар Левина

9. Назвіть збудника сибірки:

A. Clostridium perfringens

Б. Bacillus anthracis

B. Clostridium chauvoei

Г. Brucella ovis

10. Для діагностики яких хвороб використовується реакція за Асколі?

A. Бруцельозу

Б. Сальмонельозу

В. Лептоспірозу

Г. Сибірки

ТЕМА 12. ПАТОГЕННІ ФУЗОБАКТЕРІЇ

12.1. ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ

Некробактеріоз (*Necrobacteriosis*) – інфекційна хвороба багатьох видів свійських і диких ссавців, а також вівців, що характеризується гнійно-некротичними ураженнями шкіри, слизової оболонки, внутрішніх органів і кінцівок.

Морфологія. Збудник – *Fusobacterium necrophorum*, входить у рід *Fusobacterium* (веретеноподібних). Це поліморфний мікроорганізм. Нерухомий, спор і капсул не синтезує, грамнегативний. У мазках із свіжого матеріалу виявляється у вигляді окремих паличок шириною 0,5-1,5 і довжиною 1,5-3 мкм або довгих (від 30 до 400 мкм) ниток. Добре фарбується фуксином Циля, синню Леффлера. При фарбуванні звичайними аніліновими барвниками офарблюється нерівномірно, що характерно для нього.

У свіжих культурах, у мазках із некротичних осередків має форму довгих ниток, що переплітаються, пофарбованих зернисто. Часто такі нитки мають колбоподібні потовщення, кулеподібні здуття, що забарвлюються більш інтенсивно.

У мазках із старих культур і відбитках із хронічних вогнищ ураження, особливо інкапсульованих, фузобактерії мають форму коротких паличок довжиною 0,7-4,0 і шириною 0,3-0,5 мкм. Забарвлюються вони зернисто, нерівномірно, часто по кінцях більш інтенсивно. У таких препаратах

зустрічаються також коковидні форми.

Культивування. Фузобактерії – облигатні анаероби. Виділення чистої культури збудника з організму сполучено з труднощами, головним чином у наслідок частой асоціації його в шкірних ураженнях з іншими мікробами, особливо стрептококами і стафілококами. Легше одержати чисту культуру з внутрішніх органів ураженої тварини – печінки, селезінки, легенів. З некротичної тканини шкіри матеріал беруть із ділянок некрозу, що граничать із здоровою тканиною (прижиттєві скребки).

Для культивування бактерій некрозу використовують середовище Кітт - Тароцці, бульйон Мартена, печінковий бульйон Хоттингера, сироватковий і глюкозо-кров'яний агари, напіврідкий агар, мозкове середовище. Додавання до середовища Кітт-Тароцці 10-20% свіжої бичачої сироватки, 0,2-0,5% глюкози або дріжджового екстракту призводить до більш інтенсивного росту мікроорганізму.

На середовищі Кітт-Тароцці через 24-48 год. з'являється помутніння і на шматочках печінки утворюється пластівчастий осад. Через 5-8 діб настає просвітління середовища і випадіння крихкуватого осаду, що розсіюється при струшуванні в рівномірну каламуть.

При посіві в сироватковий агар (стовпчиком) на 3-4-й день з'являється ріст по уколу, формуються невеличкі колонії, від яких відходять волокнисті паростки.

На поверхні глюкозо-кров'яного агару бактерії ростуть при створенні вакууму до 4-10 мм рт. ст., на 2-3-ю добу з'являються дрібні круглі або довгасті росинчасті колонії. Іноді колонії оточені слабкою зоною гемолізу. Поверхня колонії гладка, матова. У аеробних умовах культура продовжує рости, але колонії стають непрозорими, шорсткуватими.

Мікроорганізм добре росте на мозковому середовищі і при додаванні 0,05% сірчаноокислого заліза. Середовище чорніє за рахунок утворення сірководню.

Біохімічні властивості. Фузобактерії – хемоорганотрофи, одні з них володіють цукролітичною активністю, інші не ферментують цукру, але зате ферментують пептони. *Fusobacterium necroforum* ферментує з утворенням кислоти і газу арабінозу, глюкозу, галактозу, левульозу, мальтозу, сахарозу, саліцин. Слабко ферментує лактозу. Желатинів і згорнутої сироватки не розріджує, не згортає яєчний білок, слабко і мінливо пептонізують молоко, утворює індол і сірководень. Аміак не утворює. Не відновлює нітрати і нітриту.

Різнманітна біохімічна активність фузобактерії може бути використана для їхньої ідентифікації.

Стійкість. Збудник некробактеріозу відносно нестійкий мікроб, але тривалий час може зберігатися в об'єктах зовнішнього середовища. При впливі прямих сонячних променів мікроорганізм гине через 12 год., у замороженому стані бактерії виживають 30-40 днів. При нагріванні до 65° С бактерії гинуть протягом 15 хв., при 70° С – через 10 хв., при кип'ятінні – миттєво, 5%-ві розчини гідроокису натрію або калію вбивають його через 10

хв., 2,5%-вий розчин креоліну – через 20,5%-вий лізол – через 9,2%-вий фенол – через 2 хв.

Фузобактерії спроможні зберігатися і розмножуватися у злежалому гної тривалий час. На це вказує частота захворювань в щільно угноєних місцях.

Патогенність. У природних умовах некробактеріозом хворіють коні, велика рогата худоба, буйволи, олені, вівці, кози, свині, собаки, кішка, курки, гусаки, а також дикі тварини – козулі, лосі, архари, антилопи, лами, зебри, бегемоти, бобри, бабаки, ховрахи, плазуни. До некробактеріозу сприйнятлива і людина. З лабораторних тварин чутливі кролі і білі миші. У формі важких епізоотій й ензоотій із високою смертністю некробактеріоз спостерігається в оленів, у великої рогатої худоби, вівців, свиней.

Природним резервуаром збудника в природі є шлунково-кишковий тракт здорових тварин. В зовнішньому середовищі він виділяється зі слиною, жуйкою, сечею, фекаліями хворих. Зараження відбувається по типу ранової інфекції через ушкоджену шкіру або слизові оболонки. Збудник передається через ґрунт, підстилку, корм, предмети догляду за тваринами. Можливий і аутогенний шлях зараження.

Зараженню і поширенню хвороби сприяють травми кінцівок, а також утримання тварин у перезволожених умовах. Захворювання може виникнути і як повторна інфекція при ящурі. У оленів хвороба поширюється влітку, що збігається з летом кровососних комах, рідше восени, у холодне і дощове літо враженість тварин знижується.

Лабораторна діагностика. Здійснюється на підставі епізоотичних даних, клінічних ознак, патологоанатомічних змін і результатів лабораторних досліджень. Для некробактеріозу характерно наявність гнійно-некротичних уражень нижніх частин кінцівок, шкіри лицьової частини голови, вимені, слизових оболонок ротової порожнини, статевих органів. У лабораторію направляють шматочки уражених органів і тканин із прилягаючою здоровою тканиною, цілі трупи дрібних тварин, у тому числі птиць. Вміст із некротизованих осередків можна набирати в пастерівські піпетки, запаювати і пересилати в лабораторію.

Для прижиттєвого дослідження беруть некротичні ураження на межі омертвілої і здорової тканин після попереднього очищення від тканин, що розпалася, і гною. З цих же ділянок готують препарати-відбитки. При ураженні ротової порожнини беруть слину хворої тварини. У лабораторію всі проби відправляють із посильним. Консервують патологічний матеріал, у разі потреби в 30%-вому стерильному гліцерині.

Мазки, приготовлені з некротизованої тканини, фіксують спиртом-ефіром 10 хв. і фарбують синню Леффлера, Романовському-Гімзі, а також за Грамом. У мазках виявляють зернисто пофарбовані нитки або тонкі довгі грамнегативні палички. Для посівів на середовища використовують шматочки некротизованої тканини, відібраної на межі із здоровою, яку поміщають у середовище Кітт-Тароцці з додаванням 10% свіжої крові і 0,5% глюкози при рН 7,4-7,6. Посіви інкубують до 3 діб при температурі 36-38 С. Роблять посіви на глюкозо-кров'яний агар, цукровий агар. Культури вирощують в анаеробних

умовах.

Одночасно проводять біологічне дослідження. Кроля заражають підшкірно з зовнішньої сторони вуха в дозі 0, 5-1 мл. Через 2-4 дня на місці введення розвивається некротичний осередок.. На 6-10-й день кріль звичайно гине. При розтині виявляють некротичні вогнища в м'язах голови, черевної стінки, серця, печінки.

Білих мишей заражають 0,3-0,5 мл бульйонної культури підшкірно в області кореня хвоста. На 8-й день в зоні ін'єкції розвивається припухлість і нагноєння, на 10-й день хвіст відпадає. Миші гинуть на 10-14-й день із явищами некрозу м'язів, гнійними вогнищами в печінці, легенях, серці.

Некробактеріоз необхідно відрізнити в вівців від копитної гнилі, ящуру, віспи, стрептококового поліартриту ягнят, у великої рогатої худоби - від чуми, вірусної діареї, контагіозної плевропневмонії, злоякісної катаральної гарячки, стоматитів і дерматитів неінфекційної природи.

Імунітет і засоби специфічної профілактики. Перехворілі тварини вираженої несприйнятливості до повторного захворювання не набувають.

Біопрепарати не розроблені. Лікування проводять комплексно на спеціально обладнаних для цієї мети площадках за допомогою хіміопрепаратів, сульфаніламідів (сульфадимезин) і антибіотиків тетрациклінового ряду (хлортетрациклін, тераміцин, дібіоміцин) або пеніциліни.

12.2. ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ

1. Патогенні фузобактерії викликають у ВРХ:

А. Ентерити	Б. Мастити
В. Некробактеріоз	Г. Бурсит

2. *Fusobacterium necrophorum* належить до відділу:

А. Gracilicutes	Б. Firmicutes	В. Tenericutes	Г. Mendosicutes

3. Який метод у лабораторній діагностиці некробактеріозу самий чутливий?

А. Мікроскопічний	Б. Культуральний
В. Біологічний	Г. Серологічний

4. На якому ПС *Fusobacterium necrophorum* росте найкраще?

А. МПА	Б. Кітта-Тароці
В. МПБ	Г. Левенштейна

5. До яких інфекцій належить некробактеріоз?

А. Гострих	Б. Хронічних
В. Субклінічних	Г. Надгострих

6. Збудник антропозоонозної чуми:

A. Francisella
B. Proteus

Б. Brucella abortus
Г. Yersinia pestis

7. Збудник туляремії:

A. Francisella
B. Pseudomonas pseudomallei

Б. Pseudomonas mallei
Г. Yersinia pestis

8. Збудник сипу:

A. Francisella
B. Proteus

Б. Pseudomonas mallei
Г. Yersinia pestis

9. Збудник меліоїдозу:

A. Francisella
B. Pseudomonas pseudomallei

Б. Pseudomonas mallei
Г. Yersinia pestis

10. Псевдомонади належать до відділу:

A. Gracilicutes Б. Firmicutes В. Tenericutes Г. Mendosicutes

ТЕМА 13. ПАТОГЕННІ МІКОБАКТЕРІЇ ТА АКТИНОМІЦЕТИ

13.1.ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА

13.1.1. Збудники туберкульозу

Рід *Mycobacterium* (muso - гриб, bacterium - паличка) містить у собі 49 видів, як патогенних, так і непатогенних. До патогенних відносять мікобактерії, що викликають туберкульоз у людей (*Мус. tuberculosis*), тварин (*Мус. bovis*), птиць (*Мус. avium-intracellulare*), мишей (*Мус. murium*), і мікобактерії туберкульозу холоднокровних - риб, змії, жаб, черепа (*Мус. poikilotermum*). Сюди ж відносять збудники прокази (*Мус. leprae*) і паратуберкульозу великої рогатої худоби (*Мус. paratuberculosis*).

Поряд із істинними збудниками від тварин, людини, з об'єктів зовнішнього середовища ізолюють ще атипові мікобактерії, що відрізняються по своїх властивостях від туберкульозних. Атипові мікобактерії характеризуються тим, що:

- по-перше, вони ізолюються не тільки від людей і тварин, хворих туберкульозом, але і від тварин в умовно благополучних чередах, викликаючи їхню сенсibiliзацію до туберкулінів.

- по-друге, окремі атипові мікобактерії можуть викликати ряд хронічних захворювань, що нагадують туберкульоз – «мікобактеріози»

- по-третє, атипові мікобактерії дуже складно диференціювати від істинних мікобактерій туберкульозу.

Атипові мікобактерії широко поширені в природі, що обумовлює їхнє потрапляння в організм тварин через корм, підстилку й інші об'єкти

зовнішнього середовища. Суворої класифікації атипових мікобактерії дотепер немає. Найбільше поширення одержала класифікація Раньона (1959), заснована на двох властивостях - утворення пігменту і швидкість росту. Раньон поділяє атипові мікобактерії на чотири групи:

- перша – фотохромогенні мікобактерії, що набувають темно-жовтогаряче забарвлення при вирощуванні на світлі. У повній темноті вони не утворюють пігменту. Основний представник – *Myc. kansasii*,

- друга – фотохромогенні мікобактерії, що набувають яскраво-жовтогаряче забарвлення незалежно від того, культивувались вони на світлі або в темноті. Основні представники – *Myc. scrofulaceum*, *Myc. gordonae*, *Myc. aquae* та ін.;

- третя – нефотохромогенні мікобактерії; можуть бути незабарвленими або мати жовтувато-жовтогарячі відтінки. Проте пігментація не залежить від експозиції на світлі. Основні представники цієї групи *Myc. intracellular*, *Myc. battey*;

- четверта – мікобактерії, що швидко ростуть. Протягом тижня при температурі 25 і 37⁰С вони утворюють колонії. Представники – *Myc. phlei*, *Myc. smegmatis*, *Myc. fortuitum*.

Туберкульоз – інфекційна, з хронічним перебігом хвороба людини, тварин, у тому числі птиць, особливо курей. Патолого-анатомічно він характеризується утворенням туберкул (бугорків) і казеозно перероджених туберкульозних осередків Збудників туберкульозу людини і великої рогатої худоби відкрив Р. Кохом в 1882 р..

Морфологія. Мікобактерії туберкульозу – кислото-, спирто- і лугостійкі мікроорганізми, нерухомі, спор і капсул не утворюють, джгутиків не мають. Їхня типова форма – прямі або злегка вигнуті палички з закругленими кінцями.

У електронному мікроскопі мікобактерії усіх видів мають вид палички з заокругленими кінцями. Проте зустрічаються нерідко вигнуті й овальні форми. Розміри клітин однієї і тієї ж культури можуть значно варіювати - довжина від 1,5 до 4, ширина від 0,2 до 0,5 мкм. Особливо це помітно в культурах різних віків. Встановлено філогенетичну близькість туберкульозних мікобактерій із променистими грибами-актиноміцетами. Ця подібність виявляється в повільному розвитку мікобактерій на елективних живильних середовищах, а також у засобі розмноження, поліморфності і здатності за певних умов іноді утворювати ниткоподібні гіллясті форми з колбовидними здуттями на кінцях, що нагадують актиноміцети.

Мікобактерії характеризуються високим вмістом ліпоїдів, в наслідок цього повільно сприймають анілінові барвники. Фарбування їх досягається з застосуванням карболової кислоти при підігріванні. При такому засобі забарвлення мікобактерій туберкульозу добре утримують її при впливі розведених кислот, лугів і спирту, чим і відрізняються від інших мікробів. На цьому заснований метод Ціля – Нільсона. Мікобактерії *фарбують за Грам-Муха*, при цьому вони набувають зернистість і темно-фіолетовий колір.

Для швидкого виявлення їх у різноманітних об'єктах використовують люмінесцентний *метод Полякової*, в основі якого лежить здатність

мікобактерій забарвлюватися люмінесцентними барвниками (родамин-аураміном) і давати золотаво-жовтий колір під впливом ультрафіолетового опромінення. Метод має високу чутливість, дає кольорове зображення об'єкта, дослідження ведеться при середніх збільшеннях, що дає можливість переглянути більше полів зору, чим при звичайній мікроскопії, що потребує імерсії.

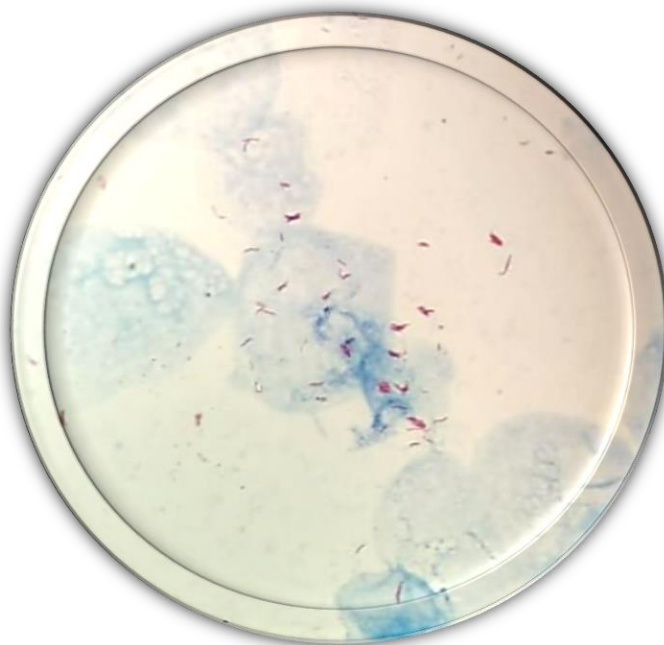


Рис.13.1. Мікобактерії туберкульозу (об. х 90)

На рідких живильних середовищах, мікобактерії людського і бичачого видів утворюють коси, джгути, завитки, скупчення, що мають, як правило, орієнтований ріст. Це явище назване *корд фактором* і пов'язано з цілісністю ліпідних структур, розташованих на поверхні клітини, і властивий тільки вірулентним мікобактеріям.

Культивування. Мікобактерії туберкульозу спроможні розмножуватися в строга аеробних умовах на відповідних елективних живильних середовищах, що містять у визначених сполученнях вуглець, азот, водень і кисень. З мінеральних речовин життєво необхідними виявилися магній, калій, сірка і фосфор. Стимулюючий вплив на ріст туберкульозних мікобактерій надають солі залоза і деякі інші елементи. Для здійснення біохімічних процесів у мікобактерій необхідною умовою є оптимальна температура: $37-38^{\circ}\text{C}$ для людського, $38-39^{\circ}\text{C}$ для бичачого і $39-41^{\circ}\text{C}$ для пташиного виду.

Для культивування мікобактерій використовують живильні середовища: прості і елективні. До простих відносять: гліцериновий МПБ і гліцериновий МПА а також гліцеринова картопля. З елективних середовищ використовують Левенштейна-Йенсена.

Зростання мікобактерій туберкульозу на рідких ЖС з гліцерином з'являється через 7-30 днів і більш у вигляді плівки. *Myc. tuberculosis* – утворює товсту складчасту плівку, що піднімається на стінки судин. *Myc. bovis* – плівку

петльовану з бородавчатими виростами, а *Myc. avium*- на 7-10 добу тонку, ніжну, білувату а до 21 добу – потужну зморшкувату плівку.

На щільних середовищах спочатку утворюються ледве помітні мікроколонії, які з часом збільшуються і набувають дрібні або великі розміри. Становляться блискучими або матовими, можуть бути гладкими (S-форма) або шорсткуватими (R -форма). У виді одиничних відособлених або ж суцільними скупченнями, у виді зморшкуватого нальоту білого або білого з жовтуватим відтінком, або ж іншого кольору.

Існують методи прискореного вирощування (мікрокультивування) мікобактерій: *метод Прайса*. Готують мазок на склі, висушують, потім витримують 5 хв. у 5% стерильному водяному розчині сірчаної кислоти. Кислоти нейтралізують стерильною дистильованою водою, а мазок поміщають у рідке живильне середовище. Таке середовище забезпечує появу росту мікобактерій на склі через 2-6 днів у виді мікрокультур, що виявляються при мікроскопії мазків, пофарбованих методом Ціля-Нільсена.

Біохімічні властивості. Мікобактерії туберкульозу містять різноманітні ферменти. Ферменти естерази і ліпази розщеплюють жири, що дає можливість мікобактеріям використовувати їх у якості живильного матеріалу. Дегідрази розщеплюють органічні кислоти, у тому числі амінокислоти. Уреазі розщеплюють сечовину, перигалоза - вуглеводи, каталаза - перекис водню.

Протеолітичні ферменти (протеази) розщеплюють білки. Мікобактерії ферментують алкоголь, гліцерин і численні вуглеводи, лецитин.

Токсиноутворення. Мікобактерії туберкульозу містять ендотоксини – туберкуліни, що виявляють токсичну дію тільки в хворому організмі. Масляні кислоти сприяють розпаду клітинних елементів, казеозному переродженню тканин. Вірулентні мікобактерії містять поліцукридні компоненти, корд-фактор, що обумовлює вірулентність, склеювання мікобактерій і ріст їх у виді джгутів і кіс. Корд-фактор руйнує мітохондрії клітин зараженого макроорганізму, порушує функцію дихання і фосфорилювання.

Антигенна структура. Мікобактерії туберкульозу містять поліцукридо-білково-ліпоїдний комплекс, названий повним антигеном. При парентеральному введенні у тварин спостерігають утворення антитіл, що виявляються за допомогою серологічних тестів: РА, РП, РС і ін.

Стійкість. Мікобактерії туберкульозу мають значну стійкість до хімічних і фізичних впливів, особливо до висушування. У висушеній мокроті, шматочках ураженої тканини, пилюки мікобактерій життєздатні від 2 до 7 міс. і більш. У воді мікроб виживає 5 міс., у ґрунті - 7 міс., при гнитті матеріалу – 76-167 днів і довше. Холод не впливає на життєздатність мікобактерій.

Мікобактерії дуже чутливі до впливу прямих сонячних променів, у жаркі дні в мокроті вони гинуть через 1,5-2 годин. Особливо згубні для мікобактерій ультрафіолетові промені. Важливе значення в санітарно-профілактичному відношенні має висока чутливість мікобактерій до нагрівання. В вологому середовищі мікобактерії гинуть при 60⁰С в протязі 1 год., при 65 С – через 15 хв., при 70-80 – через 5-10 хв. У свіжому молоці збудник туберкульозу зберігається 9-10 днів, у скислому молоку гине під впливом молочної кислоти.

У свіжому молоку збудник туберкульозу зберігається 9-10 днів, у скислому молоку гине під впливом молочної кислоти. У олії мікобактерій зберігаються тижнями, а в деяких сирах - навіть місяцями.

Патогенність. Мікобактерії бичачого виду патогенні для багатьох тварин (корів, вівців, кіз, свиней, коней, кішок, собак). З лабораторних тварин найбільше дошкульні кролики і морські свинки, у яких розвивається генералізований туберкульоз.

Пташиний вид мікобактерій викликає туберкульоз у курок, індичок, фазанів, павичів, голубів, уток і ін. У природних умовах пташиними мікобактеріями заражаються домашні тварини (коня, свині, кози, вівця, іноді велика рогата худоба), а в деяких випадках і людина. У природних умовах пташиними мікобактеріями заражаються домашні тварини (коня, свині, кози, вівця, іноді велика рогата худоба), а в деяких випадках і людина.

З експериментальних тварин генералізованим туберкульозом хворіють кролики. Морські свинки менше сприйнятливі.

Зараження туберкульозом відбувається повітряно-краплинним шляхом, іноді через корма, об'єкти середовища існування, засіяні мікобактеріями туберкульозу.

При аерогенному зараженні первинний інфекційний осередок розвивається в легенях, а при аліментарному - у мезентеральних лімфатичних вузлах,

Інкубаційний період триває від декількох тижнів до декількох років. Доведено персистенція L-форм, що мають здатність до реверсії в типові мікобактерії. Наявність L-форм розглядають як причину рецидиву туберкульозу в оздоровлених чередах.

Лабораторна діагностика. Виділити збудника туберкульозу в чистому виді важко. Успіх багато в чому залежить від характеру досліджуваного матеріалу. У якості останнього можна використовувати уражені органи і тканина, кров, ексудат, транссудат, гній, молоко, олія, сир, сечу, фекалії, гній, ґрунт, воду, шкрябни з різноманітних об'єктів тваринницьких помешкань і т.п. У кожному випадку перед посівом необхідно вибирати відповідний метод опрацювання матеріалу.

Для звільнення від сторонньої мікрофлори досліджуваний матеріал (молоко, сечу, слиз, уражені органи і тканини) обробляють 6-10% розчином сірчаної кислоти (*метод Гону*). Загальний вплив розчину сірчаної кислоти на матеріал не повинно перевищувати 25-30 хв.

Для обробки рідкого, напіврідкого, кашцеподібного матеріалу і з об'єктів середовища існування тварин використовують *метод флотації*. Сутність методу полягає в тому, що досліджуваний матеріал збовтують у колбі разом із вуглеводнями (бензол, бензин і ін.) і спливаючий прошарок піни, тобто флотат, що містить мікобактерії туберкульозу, використовують для приготування мазків, посівів на живильних середовищах, зараження лабораторних тварин.

Диференціація мікобактерій туберкульозу. Для диференціації мікобактерій запропоновано декілька методів: мікроскопічний,

культуральний, серологічний, алергічний, біологічні.

Мікроскопічний метод. Мікобактерії туберкульозу бичачого виду досягають довжини 1,5-3,5 і товщини 0,3-0,5 мкм. Вони також зустрічаються у виді овоїдних і кулеподібних форм. Паличкоподібні форми частіше прямі і вигнуті, з округленими кінцями і зернистістю.

Мікобактерії людського виду більш довгі, тонкі і стрункі. Мікобактерії пташиного виду спостерігаються у виді коротких і довгих паличкоподібних форм.

Необхідно знати, що розміри і форма всієї туберкульозних мікобактерії дуже відносні. За певних умов вирощування вони коливаються, іноді в досить широких межах.

Культуральний метод. Вірулентні культури мікобактерій бичачого виду на живильних середовищах ростуть дуже повільно у виді сферичних, гладких і шорсткуватих колоній, частіше у виді сухих крихіток.

Біологічний метод. Сутність біологічного методу диференціації полягає у визначенні патогенності культури для морських свинок, кроликів, птиць і інших лабораторних тварин, що по-різному дошкульні до різноманітних мікобактерій туберкульозу.

Для диференціації виділених культур беруть двох кроликів масою не менше 1,5-2 кг і в крайову вену вуха вводять суспензію культури мікобактерії на фізіологічному розчині. Першому вводять 0,1; другому - 0,01 мг бактеріальної маси.

Збудник туберкульозу бичачого виду протягом 3 мес. викликає генералізоване ураження, форма бугоркова; при зараженні мікобактеріями людського виду за цей же період виникають нетипові туберкульозні осередки регресивного характеру. Збудник туберкульозу пташиного виду викликає в кроликів септичну форму хвороби без утворення специфічних патолого-анатомічних змін із летальним виходом протягом 2-3 тижнів.

Рівнобіжне зараження двох морських свинок такими ж дозами культури дозволяє диференціювати мікобактерії туберкульозу пташиного виду, до яких вони нечутливі, у той час як мікобактерії людського і бичачого видів у них викликають прогресивні туберкульозні зміни. У курок, заражених внутрішньо дозою в 1 мг бактеріальної маси, мікобактерії пташиного виду викликають туберкульозного ураження селезінки, печінки і кишечника. Кури до збудника туберкульозу людського і бичачого видів менше дошкульні.

Біохімічний метод, заснований на тому, що в процесі метаболізму мікобактерії різних видів виявляють різноманітну ферментативну активність. Найбільше популярними тестами біохімічної диференціації мікобактерій є: ніациновий тест, реакція відновлення нітратів, амідазна проба, каталазна активність, ріст на середовищі із саліцилатом натрію, деградації (руйнація) саліцилата натрію, ПАСК, використання нітрату як єдиного джерела азоту, стійкість до 5% хлориду натрію, пікринової кислоти, цукролітична активність.

Серодіагностика. Для цієї цілі рекомендують використовувати реакцію зв'язування комплекменту, реакцію пасивної, або непрямой, гемаглютинації (РПГА); реакцію кільце преципітації; реакцію дифузійної преципітації в гелі.

Алергічна діагностика туберкульозу. У практику головне значення для прижиттєвого розпізнавання туберкульозу у тварин, у тому числі птиць, має алергічна діагностика за допомогою туберкуліну. Застосовують сухий очищений туберкулін (ППД).

Туберкулін вводять великій рогатій худобі, буйволам, зебу, верблюдам, оленям у товщу шкіри в області середньої третини шиї, свиням на зовнішній поверхні підстави вуха, куркам у товщу шкіри борідки.

Враховують реакцію через 72 год. за результатами виміру товщини шкірної складки з урахуванням характеру припухлості, що утворилася. *Позитивна реакція* виявляється у виді розлитого набряку розміром 35x45 мм і більше, без строга обкреслених меж, тістоподібного, підвищеної теплоти і чутливості. Шкірна складка збільшується на 3 мм і більш. Розмір збільшення шкірної складки встановлюють за допомогою кутиметра шляхом визначення різниці між показником виміру виниклої припухлості і показником складки незміненої ділянки шкіри.

Куркам туберкулін вводять внутрішньошкірно в одну борідку, друга служить контролем. Реакцію враховують через 30-36 год. Позитивна реакція виявляється у виді набрякання борідки, вона стовщена, тістоподібна, гаряча і відвисає донизу.

Крім внутрішньошкірної можна використовувати очну, підшкірну і внутрішньовенну проби.

Велика рогата худоба в деяких випадках може бути інфікований збудником людських, птишиного видів, паратуберкульозними або атиповими мікобактеріями. Такі тварини реагують на туберкулін ссавців, але не є туберкульозними. Ці реакції називають неспецифічними і розділяють на дві групи параалергічні і псевдоалергічні.

Параалергічні реакції – результат сенсibiliзації великої рогатої худоби атиповими мікобактеріями, псевдоалергічні – результат впливу збудників паразитарних хвороб і інших чинників.

Для диференціації алергічних реакцій у тварин запропонований комплексний алерген (КАМ) з атипових мікобактерій.

Імунітет і засоби специфічної профілактики. При туберкульозі він нестерильний, що триває доти, поки в організмі знаходяться живі мікобактерії туберкульозу.

Механізм імунітету при туберкульозі до кінця не в'яснений. Безсумнівно, одне, що виявляються в крові хворих антитіла аглютиніни, грають незначну роль у захисті організму. Значна роль у захисті організму від інфекції, що розвивається, належить Т-лімфоцитам, тканинним елементам. Вакцину проти туберкульозу запропонували в 1924 р. французькі вчені Кальметт і Герен. Протягом 18 років вони культивували штаб бичачих туберкульозних паличок на картоплі, просоченій бичачою жовчу з 5% гліцерину. У результаті 230 пересівань культури, що безупинно піддавалася впливу жовчі, ці автори одержали стійкий варіант із визначеними біологічними властивостями. Штаб цей названий культурою BCG (Bacterium Calmelt - Guerin), по-російському БЦЖ. У ветеринарній практика вакцину БЦЖ застосовують у

неблагополучних по туберкульозу господарствах.

Необхідно мати на увазі, що мікобактерії вакцинного штаму БЦЖ в організмі щеплених тварин піддаються L-трансформації.

13.2. ПРАКТИЧНА ЧАСТИНА

13.2.1. Лабораторна діагностика туберкульозу

Загальні положення

Туберкульоз – хронічне захворювання, характеризується утворенням у різноманітних тканинах і органах специфічних осередків - бугорків (туберкул), що в процесі розвитку піддаються казеозному переродженню.

Збудники захворювання *Mycobacterium tuberculosis* (збудник туберкульозу людини), *M. bovis* (збудник туберкульозу великої рогатої худоби) і *M. avium* (збудник туберкульозу птиць) – кислото- спирто-, лугостійкі мікроорганізми, нерухомі, спору і капсулу не утворюють. Це прямі або злегка зігнуті палички з заокругленими кінцями довжиною 1,5-5 мкм та шириною 0,2-0,5 мкм.

Поряд із істинними збудниками від тварин, людини, з об'єктів зовнішнього середовища ізолюють ще атипові мікобактерії, що відрізняються по своїх властивостях від туберкульозних. Атипові мікобактерії широко поширені в природі, що обумовлює їхнє потрапляння в організм тварин через корм, підстилку й інші об'єкти зовнішнього середовища. Вони характеризуються тим, що ізолюються не тільки від людей і тварин, хворих туберкульозом, але і від тварин в умовно благополучних чередах, викликаючи їхню сенсibiliзацію до туберкулінів; окремі атипові мікобактерії можуть викликати ряд хронічних захворювань, що нагадують туберкульоз – «мікобактеріози» та атипові мікобактерії дуже складно диференціювати від істинних мікобактерій туберкульозу.

Діагностика туберкульозу проводиться з урахуванням аналізу епізоотичних даних, клінічних ознак, патологоанатомічних змін, результатів алергічного, серологічного гістологічного та бактеріологічного досліджень.

Основний метод прижиттєвої діагностики туберкульозу – алергічне дослідження за допомогою алергену (туберкуліну – стерильного фільтрату вбитих культур збуднику туберкульозу).

Патологічним матеріалом для бактеріологічного дослідження служить:

- при житті тварини: молоко (з усіх чвертей вимені по 150-200 мл);
- при забої: лімфатичні вузли (парні відбирають з обох сторін), уражені частини органів, труп птиці (або тушку) спрямовують цілком.

При узятті патологічного матеріалу необхідно дотримуватися правила асептики, особистої профілактики і техніки безпеки. Матеріал у лабораторію доставляють свіжим. Якщо немає умов дотримання цього, то лімфатичні вузли, шматочки тканин органів консервують у 30-40% водяному розчині гліцерину або посилають у замороженому стані.

Лабораторні дослідження матеріалу проводять при постановці діагнозу

на туберкульоз, коли у забитих тварин не виявлено патологоанатомічних змін, характерних для туберкульозу або вони не чітко виражені; також при необхідності визначення виду мікобактерій.

Бактеріологічне дослідження матеріалу включає мікроскопічний, культуральний і біологічний дослідження.

Мікроскопічне дослідження.

Для мікроскопічного дослідження з кожного органу і лімфатичного вузла готують по два фіксованих мазка. Збудник туберкульозу відноситься до групи кислотостійких бактерій, що обумовлено наявністю стеаринових кислот (міколової, фтіонової) і інших воскоподібних речовин на поверхні клітини (у її оболонці). Ці речовини надають мікробній клітині гідрофобність. У зв'язку з цим бактерії туберкульозу (і паратуберкульозу) важко сприймають фарбу. Мазки фарбують за Цилем - Нільсеном. Після фарбування цим методом мікобактерії зафарбовуються в рожево-червоний колір. При фарбуванні за Грамом часто виявляються «зерна Муха» –зернистість у цитоплазмі. Для мікобактерій туберкульозу характерні тонкі, прямі або зігнуті палички різної довжини, часто зернисті. Вони розташовані невеликими скупченнями або поодинокі. Атипові мікобактерії морфологічно трудно відрізнити від збудника туберкульозу, все ж таки – це грубі, товсті, як правило, не зернисті палички, різної довжини.

Для мікроскопічного дослідження патологічного матеріалу застосовують також люмінесцентний метод фарбування за Поляковою.

Світлова мікроскопія дає позитивні результати при наявності 100 000 і більше бактеріальних клітин в 1 мл матеріалу; люмінесцентний спосіб більш чутливий, але менше специфічний, тому його використовують як сигнальний.

Результати світлової і люмінесцентної мікроскопії не дають підстави для постановки діагнозу на туберкульоз у тварин (крім птахів) і обов'язково повинні бути підтверджені бактеріологічним (включаючи біопробу) дослідженням.

При виявленні мікобактерій в мазках з матеріалу від птахів, в органах яких відмічені патологічні зміни, підозрілі на туберкульозні, діагноз на туберкульоз вважають встановленим і подальші дослідження не проводять. У випадку негативних результатів мікроскопії мазків проводять бактеріологічне дослідження.

Бактеріологічне дослідження.

Забрудненість досліджуваного матеріалу мікобактеріями туберкульозу може бути незначною. Тому, щоб підвищити концентрацію збудника в пробах (для більшої достовірності результатів дослідження) і знищення сторонньої мікрофлори застосовують спеціальні методи опрацювання і збагачення. Обробка матеріалу для культурального і біологічного дослідження проводиться наступним чином.

Методика опрацювання матеріалу за Маккавейскою:

Мокроту, слиз, гній заливають рівним об'ємом 10% розчину трьохзаміщеного фосфату натрію, добре перемішують і ставлять у термостат на 24 години. Потім центрифугують при 3000 об/хв. 10-15 хв. Досліджують

осад.

Уражені тканини нарізають дрібними шматочками і розтирають у стерильній ступці з 6 % сірчаною кислотою в співвідношенні 1:4, фільтрують через два прошарки марлі, центрифугують, кислоту відсмоктують, до осаду додають фізрозчин, знову струшують і центрифугують. Так промивають 2-3 рази. Промитий осад висівають на живильні середовища і готують мазки,

Молоко - усю пробу (150 мл) центрифугують при 3000 об/хв. 20-30 хв. Осад опрацьовують 6 % розчином сірчаної кислоти, промивають фізрозчином, центрифугують. Досліджують осад і прошарок вершків.

Олія (2-4 г) вносять у стерильну пробірку, заливають гарячою водою, закривають гумовим корком, струшують 5-10 хв., перевертають пробірку, ставлять у штатив, залишають у прохолодному місці. Коли олія застигне, обережно відкривають корок, рідину виливають у центрифужні пробірки, далі досліджують, як молоко.

Фекалії (50 г) розтирають у стерильній ступці з 18 % розчином сірчаної кислоти, фільтрують через марлю, центрифугують, досліджують осад, як у попередніх випадках.

Метод флотації – досліджуваний матеріал підготовляють, як звичайно. Потім у колбу з вузьким горлом вносять 10 мл матеріалу, додають 10 мл 1 % розчину NaOH, щільно закривають і струшують 10 хв. Після цього суспензію розводять 1:10 дистильованою водою, додають 1 -2 мл ксилолу (петролейного ефіру або бензину), знову струшують 5-10 хв., доливають дистильовану воду до рівня горлечка колби і витримують 30 хв. при кімнатній температурі. Крапельки, що спливли, ксилолу (ефіру, бензину) захоплюють за собою мікобактерії, створюючи флотаційне кільце, вміст якого висівають.

Культуральне дослідження дає позитивні результати при наявності 20-100 мікобактерій в 1 мл досліджуваного матеріалу.

Для вирощування мікобактерій туберкульозу використовують щільні яєчні поживні середовища: Петроньяні, (150 мл молока, 6 г картопляного крохмалю, 1г пептону, одна невеличка картоплина, нарізана на дрібні шматочки. Все це нагрівають 10 хв. у водяній бані при перемішуванні залишають у ній на 1год., продовжуючи помішувати, для охолодження до 50 С. Потім додають цілком чотири яйця й один жовток, 12 мл гліцерину, 10 мл 2 % водяного розчину малахітової зелені. Усе старанно перемішують, фільтрують через марлю, розливають по пробірках і в похилому положенні дробово стерилізують в апараті Коха), середовище Левенштейна - Йенсена, Гельберга і рідкого середовища Школьникової, звичайна картопля, просочена 3-4 % гліцеринном, на гліцериновому МПБ і МПА.

Оброблений досліджуваний матеріал висівають в 5-10 пробірок на елективні живильні середовища. Посів проводять платиновою петлею або пастерівською піпеткою, обережно втираючи по всій поверхні середовища. пробірки кладуть у наклонне положення і ставлять у термостат при 37-38⁰С. Через 2 доби посіви переглядають, враховують відновлення кольору середовища. Якщо колір середовища не відновився, обробку і посів проводять повторно. Пробірки, у яких з'явився ріст сторонньої мікрофлори, знищують; в

інших ватно-марлеві корки парафінують.

Посіви інкубують протягом 3 місяців. Для виявлення початкового росту мікобактерій пробірки з посівами переглядають не рідше одного разу на тиждень. Ріст мікобактерій бичачого виду частіше виявляється на 20-60 добу, людського – на 20-30, пташиного – на 10-20 добу, атипові мікобактерії – у різні строки.

M. tuberculosis на щільних середовищах проявляє збагачений ріст, колонії сухі бородавчасті або зморшкуваті, іноді у вигляді вузликів, кремового кольору. На середовищі Петраньяні колонії сірувато-жовті.

M. bovis росте у вигляді зеленуватих колоній на середовищі Петраньяні. У рідкому середовищі утворює плівку тонку, ніжну, іноді сітчасту, що не покриває всієї поверхні середовища. На щільних середовищах ріст убогий, колонії сухі, дрібні, зернисті, сірувато-білі.

M. avium у рідких середовищах утворює спочатку суху, що потім ослизується плівку по всій поверхні бульйону. На щільних середовищах - вологий і слизуватий наліт. Колонії сірувато білого або жовтуватого кольору, за формою можуть нагадувати гудзикоподібні круглі узвишся, іноді кратероподібні поглиблення. На середовищі Петраньяні колонії золотаві. *M. avium* росте швидше, чим мікобактерії інших видів.

Характерним для патогенних штамів мікобактерій є їхня особливість росту на середовищах у вигляді кісок, (корд-фактор), що пов'язано з наявністю міколової кислоти.

У отриманих первинних культур вивчають і враховують властивості за наступною схемою:

- строки виявлення первинного росту;
- характеристика колоній (форма, поверхня);
- консистенція (крихкувата, ослизла, в'язка);
- пігментоутворення;
- здатність до емульгації у фізіологічному розчині;
- тінкторіальні властивості за Цилєм-Нільсеном;



Рис. 13.2. Колонії *M. tuberculosis* на середовищі Левенштейна-Йєнсена

– морфологія мікобактерій.

Для подальшого вивчення культуральних властивостей проводять пересів отриманих колоній на яєчне середовище з саліцилатам натрію і культивують їх при температурах: 20-25°C, 37-38°C, 45°C.

Культури мікобактерій не пігментовані, які ростуть при 37-38°C на яєчних середовищах без саліцилату натрію довше ніж через 20 діб і не ростуть у МПБ піддають дослідженню біологічним методом.

Біологічне дослідження.

Біопробу використовують для виявлення збудника хвороби в досліджуваному матеріалі та визначення його видової належності. Для біопробу використовують морських свинок, кролів і курей. Цей метод дає позитивні результати при наявності у матеріалі 5 мікобактерій туберкульозу. Біопробу ставлять паралельно з культуральними дослідженнями.

Біопробу проводять при діагностичному дослідженні матеріалу від ссавців – на двох морських свинках, від курей – на двох курках.

Для визначення виду збудника туберкульозу заражають двох морських свинок і двох кролів.

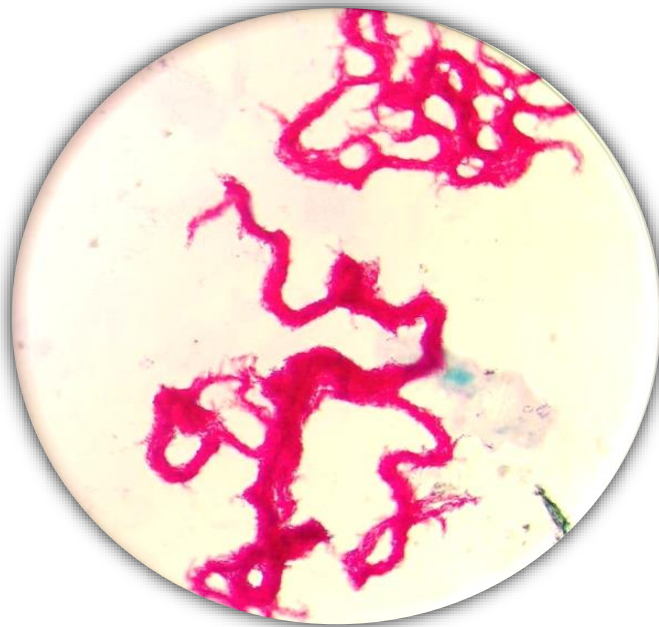


Рис. 13.3. Корд-фактор при мікроскопії

Суспензію досліджуваного матеріалу вводять по 1-2 мл морським свинкам підшкірно у пахову область, кролям - внутрішньовенно. У морських свинок у позитивних випадках (патогенний штам) через 2-3 тижні на місці введення утворюється ущільнення, потім – виразка, з одночасним збільшенням регіонарних лімфовузлів. Цим свинкам через 30 діб підшкірно вводять туберкулін (алерген - фільтрат вбитих мікобактерій), що призводить до бурхливої генералізації процесу і загибелі тварин.

При наявності характерних туберкульозних змін з уражених органів і лімфатичних вузлів готують мазки і фарбують за Циєм – Нільсеном.

M. bovis викликає генералізований процес туберкульозу в кролів і морських свинок. *M. tuberculosis* патогенний лише для морських свинок, викликаючи захворювання в період від 3 тижнів до 3 мес після зараження. *M. avium*, як правило, обумовлює у кролів септичний процес без утворення специфічних туберкул і призводить до швидкої загибелі тварин (особливо при внутрішньовенному зараженні).

Контрольні запитання.

1. Морфологічні, тінкторіальні особливості патогенних мікобактерій.
2. Живильні середовища для культивування мікобактерій, культуральні властивості мікобактерій туберкульозу.
3. Диференціація мікобактерій від кислотостійких сапрофітів.
4. Особливості біопроби при діагностиці туберкульозу
5. Патологічний матеріал, його підготування для бактеріологічного дослідження.

13.3. ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ

Паратуберкульоз (*Paratuberculosis*, хвороба Іоне) – хронічна контагіозна хвороба жуйних тварин, що характеризується специфічним продуктивним ентеритом з інфільтрацією слизової й підслизової оболонок переважно клубової та порожньої кишок, характерною їх зморшкуватістю й утворенням туберкулоподібних вузликів, але без казеозного розпаду, з періодичною діареєю та прогресуючим виснаженням.

Поширення хвороби. Паратуберкульоз реєструється в більшості країн світу, у тому числі й в Україні, завдаючи неблагополучним господарствам значних економічних збитків, які складаються з вартості загиблої або вимушено забитої худоби, порушення племінної роботи, зниження продуктивності тварин, затрат на проведення оздоровчих і карантинно-обмежувальних заходів.

Збудник хвороби – *Mycobacterium paratuberculosis* – дрібна, (0,5x1,5) (0,2x0,5) мкм, нерухома кислото-спирт стійка паличка, яка добре фарбується за методом Циль- Нільсена. Спор і капсул не утворює. У мазках з патологічного матеріалу має вигляд невеликих скупчень бактерій, диплококів чи окремих паличок, забарвлених у червоний колір. Виділення чистої культури збудника і подальше його вирощування пов'язане зі значними труднощами. Для цього використовують спеціальні живильні середовища. Мікобактерії паратуберкульозу не патогенні для лабораторних тварин.

Епізоотологія хвороби. У природних умовах на паратуберкульоз найчастіше хворіють велика рогата худоба віком 3 – 6 років, рідше вівці. Джерелом збудника інфекції є клінічно хворі тварини, а також тварини з латентним перебігом хвороби, які виділяють велику кількість бактерій з фекаліями, молоком, сечею, плодовими водами та спермою.

Зараження відбувається аліментарно, особливо у стійловий період.

Інфекція розвивається повільно, здебільшого з латентним перебігом. Під дією провокувальних факторів, які знижують резистентність організму (пологи, неповноцінна годівля та інші стресові ситуації), інфекційний процес активізується і зумовлює клінічний прояв хвороби. У стаціонарно неблагополучних господарствах паратуберкульоз спостерігається впродовж багатьох років, переважно у вигляді спорадичних випадків, рідше — ензоотій, з летальністю до 25 %.

Лабораторна діагностика полягає в мікроскопічному та гістологічному дослідженні патологічного матеріалу, взятого від хворих або вимушено забитих тварин, а в разі необхідності — виділенні чистої культури паратуберкульозних бактерій. У лабораторію для зажиттєвої діагностики надсилають зіскрібки зі слизової оболонки прямої кишки, проби калу з грудочками слизу й домішками крові, відібрані з прямої кишки, сироватки крові хворих тварин; для посмертних досліджень — відрізки уражених ділянок клубової та порожньої кишок і окремо мезентеріальні (брижові) лімфовузли.

Диференціальна діагностика передбачає необхідність виключення туберкульозу кишок, ентеритів незаразної етіології, кокцидіозу, глистних інвазій.

Імунітет при паратуберкульозі не стерильний. Ефективної вакцини для профілактики хвороби не запропоновано.

Актиномікоз — хронічна інфекційна хвороба тварин і людини, що спричиняється променистими грибами актиноміцетами і характеризується утворенням гранульоматозним ураженням (актиномікоз) у різних органах і тканинах.

Збудник хвороби — променистий гриб *Actinomyces bovis*, який досить поширений у природі і часто паразитує на злакових рослинах. Штучно його можна культивувати в анаеробних умовах на агарі Сабуро. Гриб росте дуже повільно і про його наявність можна робити висновок лише через 10 – 45 діб після висіву, коли в товщі агару з'являються невеликі білі або жовті колонії. Актиноміцети добре пристосовуються до різних умов існування в зовнішньому середовищі, стійкі проти дії сонячного випромінювання, а у висушеному стані можуть зберігатися впродовж кількох років.

Епізоотологія хвороби. На актиномікоз найчастіше хворіє велика рогата худоба, переважно у 1 – 5-річному віці, значно рідше — свині, як виняток — вівці, кози, коні, м'ясоїдні, кролі. Зараження відбувається при згодовуванні тваринам контамінованих актиноміцетами грубих кормів, які спричинюють поранення слизової оболонки ротової порожнини або глотки, забезпечують проникнення і розвиток грибів в організмі. Як правило, прямий контакт з хворою твариною не призводить до зараження.

Діагноз ґрунтується на основі характерної клінічної картини (актиномікоз шкіри, язика, щелеп, міжщелепового простору) та в разі потреби — лабораторної діагностики, яка передбачає мікроскопію препаратів з патологічного матеріалу для виявлення друз променистого гриба. До лабораторії надсилають гній із абсцесів, регіонарні лімфатичні вузли,

шматочки уражених органів і тканин.

Диференціальна діагностика передбачає необхідність виключення актинобацилльозу, збудником якого є анаеробна паличка *Actinobacillus lignieresii*, до якої дуже чутливі самці морських свинок, а також лейкозу великої рогатої худоби на підставі результатів клініко-гематологічних та серологічних досліджень. Туберкульоз диференціюють за допомогою алергічної проби.

Імунітет при актиномікозі вивчений недостатньо. Наявність у крові перехворілих тварин аглютининів, преципітинів та комплементзв'язувальних антитіл не є показником стійкості організму до патогенних актиноміцетів, тому можливе повторне захворювання.

Питання для самоконтролю:

1. Збудник паратуберкульозу.
2. Яка схема лабораторної діагностики паратуберкульозу?
3. На яких живильних середовищах культивують атипові мікобактерії?
4. На яких живильних середовищах культивують збудника паратуберкульозу?
5. Що таке актиноміцети?
6. Яка роль актиноміцетів у кругообізі речовин у природі?
7. Які захворювання викликають патогенні актиноміцети?
8. Розповсюдження актиноміцетів в природі.
9. Які морфологічні ознаки актиноміцетів?
10. Яка схема лабораторної діагностики актиномікозу?

13.4. ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ

1. Який метод у лабораторній діагностиці туберкульозу самий чутливий?

А. Мікроскопічний	Б. Культуральний
В. Біологічний	Г. Серологічний

2. На яких живильних середовищах культивують мікобактерії?

- А. МПБ, МПА Б. агар Левенштейна В. Ендо В. ЖС Цейслера

3. Атипові фотохромогенні мікобактерії:

- А. При доступі світла утворюють жовтий або оранжевий пігмент.
Б. Утворюють жовто-оранжевий пігмент як на світлі, так і в тем-ноті.
В. Не утворюють пігмент.
Г. Утворюють колонії на 2 - 3-й день.

4. Атипові скотохромогенні мікобактерії:

- А. При доступі світла утворюють жовтий або оранжевий пігмент.
Б. Утворюють жовто-оранжевий пігмент як на світлі, так і в темноті.

- В. Не утворюють пігмент.
Г. Утворюють колонії на 2 - 3-й день.

5. *Mycobacterium tuberculosis* у морської свинки викликають:

- А. Інтенсивний туберкульозний процес, тварини гинуть на 20-90 день після зараження;
Б. Поодинокі туберкули в легенях і нирках;
В. Генералізований септичний процес і загибель на початку третього тижня;
Г. Не викликають захворювання.

6. *Mycobacterium bovis* у морської свинки викликають:

- А. Інтенсивний туберкульозний процес, тварини гинуть на 20-90 день після зараження;
Б. Поодинокі туберкули в легенях і нирках;
В. Генералізований септичний процес і загибель на початку третього тижня;
Г. Не викликають захворювання.

7. Актиноміцети мають будову:

- А. Грамнегативних бактерій
В. Мікроскопічних грибів
Б. Грампозитивних бактерій
Г. Паличкоподібних бактерій

8. За Цілем-Нільсеном фарбують:

- А. Кислото лугостійкі бактерії
Б. Актиноміцети
В. Мікроскопічні гриби
Г. Дріжджі

9. Туберкулін – це:

- А. Вакцина
Б. Сироватка
В. Антиген
Г. Алерген

10. Оптимальна температура росту *Mycobacterium bovis*:

- А. 36-37⁰С
Б. 37-38⁰С
В. 38-39⁰С
Г. 39-41⁰С

ТЕМА 14. ПАТОГЕННІ ВІБРІОНИ І СПРОХЕТИ

14.1. ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА

14.1.1. Біологічні властивості збудників кампілобактеріозу

Виділено й описано вісім видів кампілобактерів (греч. *kampylos* - вигнутий, *bakterion* - паличка), але патогенними для тварин і людини є лише

тільки три.

Кампілобактеріоз – інфекційна хвороба великої рогатої худоби, вівців, свиней, можуть уражатися і курки. У ссавців відзначають аборти, тимчасове безплідність, затримка посліду, вагініти, метрити, народження нежиттєздатного молодняку; у курок - зниження приросту маси бройлерів, яйцєносності курок несучок і падіж курчат. Ця хвороба реєструється у всіх країнах світу.

Збудника виділили й ідентифікували Мак. Федисен, Штокман (1913) і Смес (1918). У нас у країні кампілобактеріоз (вібріоз) уперше установив В. Л. Якімов (1926), а пізніше Е. В. Козловський (1938).

Кампілобактери віднесені до родини *Spirillaceae* і виділені в рід *Campylobacter*.

Основні види даного роду:

C. fetus (підвиди *C. fetus venerealis* і *C. fetus fetus*),

C. jejuni;

C. sputorum (підвиди *C. sputorum sputorum*, *C. sputorum bubulus*, *C. sputorum mucosalis*)

C. coli.

Морфологія. Кампілобактери – поліморфні, тонкі, вигнуті палички у вигляді коми, чайки, що летить, букви V, спіралі з одним або декількома завитками, довжиною 0,5-8 і товщиною 0,2-0,8 мкм. У старих культурах бактерії сферичної або коковидної форми. Рухливі, мають один полярний джгутик (монотрих), рідше - по одному на кожному з кінців клітини (амфітрих); рух гвинтоподібний. Капсул і спор не утворюють.

Грамнегативні, спиртово-водні розчини анілінових барвників сприймають із трудом, у зв'язку з чим кампілобактерії фарбують розведеним 1:5 карболовим фуксином Циля.

Культивування. Хемоорганотрофи, мікроаерофіли або анаероби. Оптимум росту *C. fetus* відзначається при концентрації атмосферного кисню 5-6 % і температурі 37,5 С; елективне значення р 7,0-7,2.

Для одержання культур збудника кампілобактеріозу використовують напіврідкий 0,15-0,2 %-вий м'ясо печінковий пептонний агар (ПЖА), 2-3 %-вий м'ясо-печінковий пептонний агар (МППА), приготовлені на основі екстракту м'яза серця великої рогатої худоби, сафраніно-залізоновобіоцинове середовище (СЗН). Культури також одержують на агарі Мартена і середовищі Кітта - Тарощі без олії.

На ПЖА через 2-7 діб з'являється ріст в пробірці біля самої поверхні середовища у вигляді сірувато-блакитнуватого диска товщиною від 1 до 4 мм; на щільному середовищу кампілобактерії утворюють ніжний дрібно росянковий наліт або окремі блакитнуваті дрібні колонії; на СЗН при рості чистої культури рожевий цвіт середовища не змінюється, при змішаному зростанні або розмноженні тільки інших видів мікробів середовище стає яскраво-жовтим.

Біохімічні властивості. Кампілобактери не ферментують вуглеводи і сечовину, дезамінують глютамінову й аспарагінову кислоти,

оксидазопозитивні, індол не виділяють. Утворюють сірководень, за винятком підвиду *C. fetus venerealis*. Желатинів не розріджують, молоко не згортають, не викликають гемолізу на середовищах із кров'ю. Реакції з метиловим червоним і Фогеса - Проскауера негативні. Підвиди *C. fetus* синтезують каталазу і не редукують нітрати.

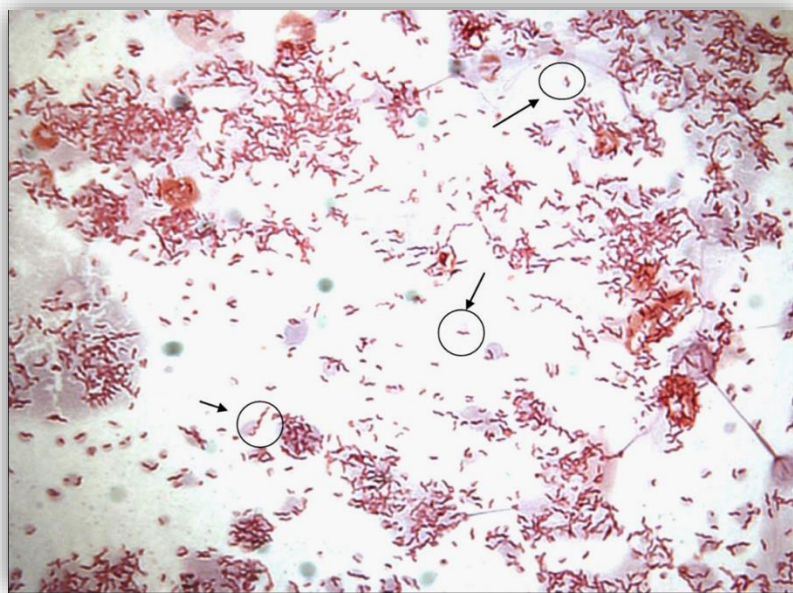


Рис.14.1. Кампілобактери (фарбування за Грамом)

Антигенна структура. У антигенному відношенні кампілобактерії неоднорідні: вони чітко диференціюються в реакціях аглютинації і непрямій гемаглютинації. Для їхнього типування приготовлені моноспецифічні сироватки.

У *C.jejuni* виявлено 25 сероварів; 1, 2 і 3-й із них – найбільше часті збудники кампілобактеріозу людини. Антигенний склад підвидів венереаліс і фетус вивчений недостатньо, проте в них установлені сероваріантні розходження. Виявлено також антигенний зв'язок кампілобактерів із бруцелами.

Стійкість. У сіні, підстилці, гної, ґрунті, воді кампілобактерії залишаються життєздатними при температурі 18-27 С до 20 днів, при 6 С – до 1 міс; у гниючому матеріалі руйнуються швидко. До заморожування витривалі: в інфікованих тканинах матки і плодів при температурі мінус 20 С зберігаються 5-6 міс. Висушування їх убиває через 3 год., при 55 С гинуть протягом 10 хв.

Розчини їдких лугів, хлорного вапна, свіже загашеного вапна в концентраціях, застосовуваних для дезінфекції, убивають їх за 5-10 хв.

Патогенність. У природних умовах кампілобактеріозом хворіють велика рогата худоба й вівці, рідше кози. Основний збудник кампілобактеріозу великої рогатої худоби – підвид венереаліс, вівців – фетус. Від великої рогатої худоби також виділяють підвид фетус, кампілобактер єюні і сапрофітний підвид бубулюс. Описано випадки діареї в корів, вівців, кіз, свиней і собак,

викликані кампілобактером єюні. Захворювання свиней можуть обумовити підвиди венереаліс і мукозаліс. Для птиці патогенний кампілобактер єюні.

У людини процес викликається кампілобактером єюні і протікає як гостре шлунково-кишкове захворювання, є повідомлення про виділення підвидів венереаліс і фетус. Встановлено, що патогенність кампілобактера єюні пов'язана з продукцією термолабільного ентеротоксину.

До експериментального зараження культурою кампілобактерів сприйнятливі тільки вагітні тварини: вівця, кози, морські свинки, хом'яки. Матеріал їм уводять підшкірно, внутричеревно, інтравагінально або орально.

Патогенез. У биків збудник кампілобактеріозу локалізується в слизовій оболонці препуциальної порожнини, і уретри, сім'яниках, їхніх придатках, тривалий час зберігається і виділяється зі спермою. Попавши в піхву корови, кампілобактери розмножуються і проникають у матку, викликаючи запальні процеси (вагініт, ендометрит). У результаті чого запліднена яйцеклітина не приживається або ж на самому початку розвитку ембріон гине. Якщо ембріон продовжує розвиватися, кампілобактерії впроваджуються в материнську плаценту і плодові оболонки, що призводить до запалення, порушенню плацентарного кровообігу й у результаті до абортів.

Вівці заражаються аліментарно, і збудник гематогенним шляхом потрапляє в матку вагітних тварин, викликає запалення й абортів.

Лабораторна діагностика. У лабораторію спрямовують абортований плід з оболонками або голову, шлунок, печінка; легкі плоду, частину плаценти; від корів – слиз із шийки матки або цервікально-вагінальної області; від биків – препуциальну слиз, сперму, секрет підрядний статевих залоз; від убитих із діагностичною ціллю тварин – матку, яєчники, піхва, лімфовузли тазової порожнини.

Лабораторні методи діагностики кампілобактеріозу включають мікроскопію, одержання культур, ідентифікацію виділених сероварів і серологічні дослідження.

Мікроскопія. Мазки фарбують розведеним 1:5 фуксином Циля 1-2 хв. При позитивному результаті в препаратах виявляють типові по морфології кампілобактерії. При позитивному результаті в препаратах виявляють типові по морфології кампілобактерії.

Виділення культур. Досліджуваний матеріал висівають у 5 пробірок із ПЖА і СЖН (краще висівати одночасно на два середовища). Посіви поміщають у мікроанаеростат із 10-15 % вуглекислого газу, інкубують при температурі 37 С до 10 днів, продивляючись кожні 3 дня. Первинні культури часто бувають, забруднені сторонньою мікрофлорою. Тому з метою їх очищення застосовують: розсів забрудненої культури на чашки Петрі з щільним середовищем (МППА) із наступним відсівом окремих колоній на ПЖА; посів культур на ПЖА або СЖН із «підсосом» і інші методи.

Диференціацію сероварів *C. fetus* і *C. sputonim*, виділених від тварин, проводять за культуральними, біохімічними і серологічними властивостями збудника.

Серологічна ідентифікація культур виконується зі стандартними

моноспецифічними сироватками орієнтовно по краплинній РА й остаточно по пробірковій РА.

Для виявлення й ідентифікації збудників кампілобактеріозу в культурах і патологічному матеріалі застосовується також прямої метод реакції імунофлюоресценції з бівалентною (до сероварів венереаліс і фетус) і моновалентною (до серовару бубулюс) люмінесціюючими сироватками.

Серологічне дослідження. Серологічна діагностика кампілобактеріозу в корів проводиться за допомогою реакції аглютинації з вагінальним слизом (РАВС), а в вівців – РА із сироваткою крові.

Вагінальну слиз беруть марлевым тампоном, що поміщають у пробірку з формалінізованим 3 %-вим розчином хлористого натрію. Тампон віджимають пінцетом, і рідина центрифугують. Супернатант розводять 1:50, 1:100, 1:200 і 1:400. Реакцію ставлять із кампілобактеріозним антигеном. Оцінку ведуть по 4-бальній системі: позитивна - добре виражена аглютинація (4 або 3 плюса) у всіх чотирьох пробірках або тільки в першій і другий; сумнівна - аглютинація <2 або один плюс) у першій і в другий пробірках; негативна - відсутність аглютинації у всіх пробірках (мінус).

РА із сироваткою крові вівців ставлять у розведеннях 1:100, 1:200 і 1:400. Результат вважають позитивним, якщо випробувані сироватки в розведенні 1:200 і вище дають аглютинацію в 4 або 3 плюса, сумнівним - 4 або 3 плюса в розведенні 1:100 або 2 або один плюс у розведенні 1:200, негативним - аглютинація відсутніх або не вище 2 і одного плюса в розведенні 1:100.

14.1.2. Біологічні властивості збудників лептоспірозу

Лептоспіри викликають лептоспіроз – інфекційну природно-осередкову хворобу тварин і людини, що характеризується короткочасною лихоманкою, анемією, жовтухою, гемоглобінурією, геморагічним діатезом, некрозом слизових оболонок і шкіри, атонією органів травлення, абортами.

Хвороба може протікати безсимптомно. Збудника відкрили Інад і Ідо у 1914-1915 рр.

Лептоспіри відносяться до сімейства *Leptospiraceae* (leptos - тонкий, spira - виток, спіраль) і роду *Leptospira*, що включає два види: патогенний *L. interrogans* і сапрофітний *L. biflexa*. Патогенний вид поданий 183 сероварами, що по складу антигенів об'єднані в 25 серологічних груп.

У інфекційній патології тварин найбільше значення мають серогрупи: *Pomona*, *Tarassovi*, *Hebdomadis*, *Grippotyphosa*, *Icterohaemorrhagiae*, *Canicola*.

Морфологія. Лептоспіри – спіралеподібна бактерія діаметром 0,1-0,25 і довжиною 6-15- 30 мкм., що утворюють біля 20 дрібних, тісно розташованих первинних завитків і 1-2 повторних, що надають клітині форму букв Г, S, С. Осьова нитка складається з двох фібрил. У темному полі вони мають вид тонких, срібlistих ниток із стовщеними і загнутими у виді гачків. У клітин

деяких штамів кінці прямі.



Рис. 14.2. Лептоспіри

Для лептоспир характерна активна рухливість. Головний тип руху – обертово-поступальний. Спор не утворюють. Грамнегативні, погано фарбуються аніліновими барвниками, але фіксація різко змінює їхню морфологію; використовують також метод імпрегнації сріблом.

Культивування. Лептоспіри – хемоорганотрофні факультативно-анаеробні бактерії. Культивують їх в аеробних умовах при температурі 28-30°C на спеціальних середовищах, що містять 5-10 % сироватки кролю або вівці, дистильовану, водопровідну, криничну воду або фосфатний буфер (pH 7,2-7,6). До них відносять середовища: Уленгута, Терскіх, Ферворта - Вольфа, Любашенко й ін. Розмноження лептоспир звичайно починається через 7-20 днів, іноді 1-2 міс. Середовище при цьому не змінюється і наявність росту визначають мікроскопією в темному полі. На щільних середовищах (Коксу, ВГНКІ) лептоспіри утворюють колонії S-, O- і R-форм. S-Форма - типова вірулентна, її колонії прозорі, у виді диска з рівним краєм.

Біохімічні властивості. Вивчені недостатньо. Ферментація вуглеводів не доведена; виявлені каталаза, оксидаза, ліпаза й ін.

Токсиноутворення. Істинний екзотоксин лептоспир не синтезують. Вони мають ферменти патогенності: гемолізину, фібринолізини, плазмокоагулазу, гіалуронідазу, ліпазу, що виділяються в результаті лізису лептоспир. Вірулентними є свіжоотримані штами лептоспир, при культивуванні ж на живильних середовищах ця властивість відносно швидко губиться.

Антигенна структура. Лептоспіри мають загальний білковий соматичний антиген, що визначає їхню видову специфічність. Поверхневі поліцукридні антигени служать критеріями групової і сероваріантної диференціації. Антигенні властивості лептоспир вивчають у реакції

мікроаглютинації і методом імуноадсорбційного аналізу.

Стійкість. У воді відкритих водойм патогенні лептоспіри зберігаються від 7 до 30 днів і більш; будучи типовими гідрофілами, у ґрунті, перенасиченим водою, виживають до 280 днів; у свіжому молоці – 8-24 год.; у нирках забійних тварин при температурі 0-4 °C – до 28 днів; у замороженому м'ясі гинуть через 10 днів. Чутливі до дії повареної солі; у засоленому (4,8 % NaCl) м'ясі великої рогатої худоби гинуть через 10 днів; у гіпертонічному розчині повареної солі (2,8 %) – через 15 хв.

При кип'ятінні гинуть миттєво, при 56-58°C – протягом 25-30 хв. Швидко гинуть при висушуванні і під впливом прямого сонячного світла. Розчини (0,1 %--вий соляної кислоти, 0,5 %--вий фенолу) інактивують лептоспіри за 20 хв.

Патогенність. До лептоспірозу найбільше сприйнятлива велика рогата худоба (серогрупи помона і гебдомадіс), свині (серогрупи помона і тарассові), лисиця, песці, менше - коня, коли. вівця, буйволи, верблюди, олені, осли, собаки, кішка, курки. Хворіє і людина. Основними носіями лептоспір у природних осередках є: сірі і водяні полівки, сірі пацюки, будинкові миші, землерийки.

До експериментального зараження найбільше чутливі золотисті хом'яки, крильчата-сосунки і молоді морські свинки.

Лабораторна діагностика. Матеріалом для дослідження служать:

При житті: кров (краще брати на 3-5-й день хвороби при підвищеній температурі тіла), сеча,

При забої: шматочки паренхіматозних органів, нирка, транссудат із грудної і черевної порожнин, сечовий пухир із умістом, абортований плід. Патологічний матеріал відбирається не пізніше 2 годин після загибелі тварини. Сеча збирається при природному сечовипусканні й у літню пору досліджується протягом 3 годин.

Мікроскопія. Досліджують сечу, цитратну кров, тканинну суспензію (корковий прошарок нирки, печінка, у плоду - із всіх органів). Мікроскопію проводять у роздавленій краплі з конденсором «темного поля». Типові лептоспіри активно рухливі і мають форму прямої або S-образної з загнутими у виді гачків кінцями сріблито-білої нитки. Лептоспір також можна виявити в зрізах з органів після імпрегнації сріблом.

Виділення культур. Матеріал засівають по 1-3 краплі в 3-5 пробірок із спеціальним живильним середовищем і інкубують при температурі 28-30 °C протягом 3 міс. Лептоспіри починають розмножуватися через 7-20 днів, іноді через 1-2 і дуже рідка - 3 міс. Наявність росту визначають темнопольною мікроскопією роздавлених крапель, що готують через 3, 5, 7, 10 днів і далі через кожні 5 днів. При виявленні розмноження лептоспір роблять пересівання в 3-5 пробірок із свіжим середовищем. Одержати культури лептоспір вдається не завжди.

Біологічна проба. Метод більш чутливий, чим культуральний; проводиться з метою виділення й очищення культур лептоспір, визначення їхньої вірулентності і диференціації від сапрофітів.

Заражають золотистих хом'яків 20-30-денного віку і крильчат-сисунів у

віці 10-20 днів. На кожен пробу беруть двох тварин, на 4-5-й день убивають першого, на 14-16-й день - другого, якщо воно не загинуло раніш. З серця, печінки і нирок убитих або полеглих тварин проводять посіви. Сироватку крові убитої через 14-16 днів тварини досліджують у реакції мікроаглютинації (РМА) із лептоспірами 13 серогруп. Позитивна РМА в розведенні 1:10 і вище вказує на наявність лептоспір у досліджуваному матеріалі.

Серологічне дослідження. Для серологічної діагностики лептоспірозу використовують РМА і реакцію аглютинації (РА). Проби крові беруть на 5-7-й день хвороби і при дослідженні окремих тварин повторно через 7-10 днів. Необхідно пам'ятати, що антитіла в крові у видужалих тварин можуть зберігатися до двох і більш років.

РМА ставлять у лунках аглютинаційних платівок із плексигласу. У якості антигенів беруть живі 5-15-добові культури лептоспір 13-16-й серогруп. Сироватку досліджують з антигенами кожної серогрупи в розведеннях 1:100, 1:500, 1:2500, при необхідності реакцію ставлять у розведеннях 1:100, 1:200 і т.д. до титру. У лунки вноситься по 0,1 мл розведеної сироватки і 0,1 мл антигену. Контролем служить антиген із фізіологічним розчином по 0,1 мол. Реакцію витримують при температурі 30°C протягом 1 год. і враховують її результати в препаратах роздавлена крапля в мікроскопі з конденсором темного поля. Аглютинація виявляється в склеюванні лептоспір і утворенні «павучків», що складаються з 3-5, декількох десятків і більш бактерій. Вільні кінці лептоспір зберігають рухливість. Оцінюється реакція в плюсах по 4-бальній системі. Позитивної вважають реакцію не менше чим два плюси при відсутності аглютинації в контролі.

РА ставлять на скляній платівці, на яку наносять краплю розведеної 1:100 досліджуваної сироватки і додають рівну кількість антигену. Лептоспірознi антигени для РА випускаються шести серогруп (для кожної окремо) і являють собою концентровану суспензію лептоспір в альбуміновому живильному середовищі. При наявності в сироватці специфічних антитіл настає аглютинація. Оцінка результатів провадиться в плюсах по 4-бальній системі. Позитивної вважають реакцію в два плюси і вище, сумнівної - в один плюс.

Для виявлення лептоспір у крові, сечі, паренхіматозних органах, у тканинах абортіваного плоду, у воді і ґрунті запропонований імунофлюоресцентний метод.

14.2. ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ

Дизентерія свиней – інфекційне захворювання свиней, яке характеризується кривавим проносом і некротичними ураженнями товстого кишечника. Поширена в усіх країнах світу.

Інкубаційний період триває від кількох діб до 3 міс. Перебігає гостро, підгостро й хронічно. Головна ознака хвороби – діарея. Фекалії з домішками слизу, крові, плівок фібрину. Колір від темно-сірого до темно-коричневого. Спочатку перебіг хвороби гострий, температура тіла підвищується до 40,5°C, далі нормалізується. Хворі пригнічені, втрачають апетит, худнуть.

Летальність молодняку 90-100%, дорослих тварин 40-50%. При підгострому перебігу спостерігаються виснажливий пронос, спрага, порушення координації рухів, схуднення. Смерть настає через 2-3 тижні. Хронічний перебіг триває тижні й призводить до розладу діяльності травного каналу (пронос, який змінюється запорами), виснаження та загибелі тварини.

Патологічні зміни. Труп виснажений, у ділянці вух і хвоста шкіра посиніла. Спостерігаються катаральне чи катарально-некротичне запалення слизової оболонки товстого кишечника, при затяжних випадках — геморагічне, некроз слизової оболонки кишечника. В печінці виявляють застійні явища й дрібні вогнища некрозу. Серцеві м'язи рихлі, бліді. Легені набряклі. Оболонка головного мозку гіперемійована, інколи з ознаками крововиливу.

Діагноз ставлять на основі епізоотологічних, клінічних, патологоанатомічних і бактеріологічних даних. Диференціюють від чуми, сальмонельозу, колібактеріозу, гастроентериту, анаеробної дизентерії та харчових токсикозів.

Питання для самоконтролю:

1. Назвіть збудника дизентерії свиней.
2. Які морфологічні ознаки та основні біологічні властивості збудника дизентерії свиней?
3. Який патматеріал надсилають у лабораторію при підозрі на дизентерію свиней?
4. На яких живильних середовищах культивують збудника дизентерії свиней?

14.3. ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ

1. Звивисті мікроорганізми, мають центральну осьову нитку, навколо якої гвинтоподібно намотана цитоплазма належать до:

- А. Бацил Б. Спірохет В. Актиноміцетів Г. Мікоплазм

2. Для діагностики яких хвороб використовується реакція мікроаглютинації?

- А. Бруцельозу Б. Сальмонельозу В. Лептоспірозу Г. Сибірки

3. До якої морфологічної групи належать лептоспіри:

- А. Кулеподібні мікроорганізми.
Б. Ниткоподібні мікроорганізми
В. Паличкоподібні мікроорганізми
Г. Незвичайні форми

4. Лептоспіри належать до відділу:

- А. Gracilicutes Б. Firmicutes В. Tenericutes Г. Mendosicutes

5. На якому поживному середовищі культивують лептоспіри?

А. МПА	Б. МПБ
В. Уленгута	Г. Цейслера

6. До патогенних лептоспир належать:

А. <i>Leptospira interrogans</i>	Б. <i>Leptospira biflexa</i>
В. <i>Leptospira</i>	Г. <i>Spirocheta</i>

7. До сапрофітних лептоспир належать:

А. <i>Leptospira interrogans</i>	Б. <i>Leptospira biflexa</i>
В. <i>Leptospira</i>	Г. <i>Spirocheta</i>

8. Які патогенні мікроорганізми розглядають живими при темнопольному конденсорі?

А. Сальмонели	Б. Мікоплазми
В. Лептоспіри	Г. Псевдомонади

9. Збудник дизентерії свиней:

А. Псевдомонади	Б. Трепонеми
В. Мікоплазми	Г. Лептоспіри

10. Збудник вібріозу:

А. Трепонеми	Б. Псевдомонади
В. Кампілобактери	Г. Лептоспіри

ТЕМА 15. ПАТОГЕННІ МІКОПЛАЗМИ, РИКЕТСІЇ І ХЛАМІДІЇ

15.1. ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ

15.1.1. Мікоплазми (плевропневмонієподібні організми) – велика група надзвичайно поліморфних 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 якимись особливими мікроорганізмами, а з грибами, тому й дали назву збуднику згаданого захворювання *Micromyces 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.

Нині мікоплазми та спричинені ними захворювання інтенсивно вивчають.

Класифікація. Мікоплазми належать до класу *Mollicutes*, який входить до відділу *Tenericutes*.

Клас *Mollicutes* об'єднує прокаріотичні організми, які не мають істинно клітинної стінки, а оточені лише тришаровою мембраною, здатні рости на штучних живильних середовищах.

Порядок *Mycoplasmatales*. Родина: мікоплазми (*Mycoplasmataceae*). До родини мікоплазм входять рід мікоплазма – *Mycoplasma*, що налічує 69 видів

Морфологія. Мікоплазми надзвичайно поліморфні мікроорганізми. Зустрічаються клітини кулясті, паличко-, спірале-, кільце-, зірко-, ниткоподібні та інших форм. Ступінь поліморфізму пов'язаний з видом мікоплазм, характеристикою середовища, у якому вони розвиваються, віком культури та іншими факторами.

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. 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.

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. У деяких видів виявляють капсули ліпідної, полісахаридної або ж ліпопрлісахаридної 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. Серед мікоплазм є аероби, анаероби та факультативні анаероби. Переважають останні. 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: хотингерівський ферментативний гідролізат тканини серця великої рогатої худоби та мартенівський – стінки шлунку 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. З метою пригнічення можливого росту сторонніх мікроорганізмів до середовища часто додають пеніцилін, ацетат талію. Патогенні мікоплазми погано адаптуються до умов вирощування.

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 мм. Зустрічаються і значно менші. 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, може проявлятися від ледь помітної опалесценції до інтенсивного помутніння середовища. Деякі мікоплазми утворюють на поверхні останнього тоненьку плівку, інші — осад (пилоподібний, у вигляді пластівців або слизу).

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 ферментативне активні та ферментативне інертні. Перші можуть ферментувати глюкозу, фруктозу, крохмаль, глікоген та інші вуглеводи. Зустрічаються мікоплазми з ознаками протеолітичної активності.

Патогенність. Більшість мікоплазм 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 секретують гемолізени.

Основні види мікоплазм — збудників захворювань сільськогосподарських тварин:

M. mycoides subsp. mycoides – контагіозна плевропневмонія великої рогатої худоби;

M. bovis – запалення статевих органів у великої рогатої худоби,

мастити;

M. bovirhmis – бронхопневмонії у телят;

M. agalactae bovis – мастити у корів;

M. mycoides var capri – плевропневмонія кіз;

M. agalactiae – агалактія вівців і кіз;

M. hyorhina – артрити, серозити свиней;

M. suis – ензоотична пневмонія свиней;

M. gallisepticum – респіраторний мікоплазмоз птиці.

Резистентність. Більшість мікоплазм термолабільні. При 60°C вони гинуть протягом 10-15 хв. Надзвичайно чутливі мікоплазми до висушування. Під дією більшості дезінфікуючих 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.

15.1.2. Рикетсії і хламідії об'єднують велику групу мікроорганізмів, у яку входять роди порядків *Rickettsiales* і *Chlamydiales*. Вони займають проміжне положення між бактеріями та вірусами. Рикетсії є одним із самих дрібних мікроорганізмів. Основна відмінність від інших бактерій – це облигатний внутрішньоклітинний паразитизм.

Порядок *Rickettsiales* включає роди:

Rickettsiae – збудники рикетсіозів (висипного тифу, плямистих кліщових лихоманок, Ку-гарячки й ін.);

Ehrlichia - ерліхії;

Cowdria - коудрії;

Neorickettsia - неорикетсії.

Рикетсії названі на честь американського мікробіолога У. Риккетса, що відкрив збудника плямистої лихоманки Скелястих гір і загинув від висипного тифу. Відомо 12 видів рикетсій. Рикетсії – облигатні внутрішньоклітинні паразити широкого кола тварин. Характерний паразитизм у членистоногих. Рикетсії – це мікроорганізми, кокоподібної, паличкоподібної, бацилярної і ниткоподібної форми. Не мають джгутиків, нерухомі, грамнегативні. Розмножуються бінарним розподілом тільки в живих або тканинах.

Рикетсіоподібні (ерліхії, коудрії, неорикетсії, бартоNELI) мають виражені розходження в біологічних властивостях, природних переносниках і носіях, що викликається патології.

Ерліхії – дрібні мікроорганізми, що розмножуються в цитоплазмі лейкоцитів сприйнятливих хазяїв. Описано цикл розвитку: елементарне тільце - ініціальне тільце (ретикулярне) - проміжне тільце - елементарне тільце. Грамнегативні, фарбуються за Гімзою-Романовському в синій колір, нерухомі. Не ростуть у неклітинних середовищах або на курячих ембріонах. Збудники хвороб великої рогатої і дрібної рогатої худоби, коней, представників сімейства псячих.

Коудрії – кокоподібні або еліпсоподібні мікроорганізми, 0,2-0,5 мкм у поперечнику. Розмножуються в цитоплазмі ендотелію судин жуйних.

Нерухомі, грамнегативні. Фарбуються в синій колір за Гімзою - Романовському. Не ростуть у безклітинних середовищах. Переносяться іксодовими кліщами роду *Amblyomma*. Викликають серцеву водянку – септичну хворобу домашніх жуйних в Африці. Вірулентні штами викликають загибель 20-95 % тварин.

Неорикетсії – дрібні організми 0,3-0,4 мкм у поперечнику, розмножуються переважно в цитоплазмі ретикулярних клітин лімфоїдних тканин у собак. Грамнегативні, нерухомі. Фарбуються аніліновими барвниками в синій цвіт. Не ростуть на безклітинних живильних середовищах або на курячих ембріонах. Переносник – трематоди. Викликають захворювання сімейства собачих на середньому і західному узбережжі США.

Бартонели – паразити еритроцитів людини й інших хребцевих. Округлі й еліпсоїдні форми або тонкі, прямі, криві або вигнуті палички усередині еритроцитів або на їхнє поверхні розміром менше 3 мкм у діаметрі. Фарбуються аніліновими барвниками, найкраще за Гімзою після фіксації метиловим спиртом. У результаті в них не виявляється еукаріотичного ядра, що відрізняє їх від найпростіших, що паразитують в еритроцитах. Грамнегативні. Культивують на середовищах без живих клітин. Рід *Bartonella* має клітинну оболонку. Розмножуються бінарним розподілом У культурах утворюють джгутики на однім полюсі Викликають бартонельоз людини. Виявлені в москітів. Хвороба відома на Південноамериканському континенті.

Анаплазми – облігатні паразити еритроцитів диких і домашніх хребцевих. Паличкоподібні, сферичні, коковидні 0,2-0,4 мкм у діаметрі. Фарбуються за Гімзою аніліновими барвниками в червоний колір. Грамнегативні.

Ку-гарячка викликається *Coxiella burnetii* (*Rickettsia burnetii* і *R. diaporica*). Відрізняється від видів роду *Rickettsia* тим, що розмножується у вакуолях цитоплазми, а не у цитоплазмі або в ядрі клітин хазяїна, а також надзвичайною стійкістю до впливу різноманітних фізичних і хімічних агентів.

Дана хвороба – зооноз, що уражає тварин (у тому числі і птиць), а також людину. У тварин Ку-гарячка не виявляється у виді клінічно вираженого захворювання. Можуть розвиватися риніти, мастити, спостерігаються аборти, але, як правило, у природно заражених тварин при наявності рикетсій у плаценті аборти рідкісні, лейкоцитоз і стан молочних залоз у нормі. Експериментальна інфекція у тварин протікає важко, з ураженням селезінки й інших внутрішніх органів, абортами.

Хвороба вперше описана Дериком в Австралії в 1937р як лихоманка скотобоєн. Згодом названа гарячкою Ку по першій букві англійського слова «неясний, невизначений».

Морфологія і тінкторіальні властивості. *C. burnetii* – плеіоморфний мікроорганізм, переважають коковидні і паличкоподібні форми розміром 0,2-0,4 х 0,4-1,0 мкм. Мікроби фарбуються фуксином у рожевий колір. Грамнегативні, при деяких умовах фарбуються за Грамом позитивно. Розмножуються бінарним розподілом. Нерухомі. Не мають джгутиків.

Культитивування. Використовують тільки живі клітини. Розмножуються в жовточних мішках курячих ембріонів при температурі 35°C, клітинних

культурах, органах і тканинах лабораторних тварин.

Стійкість. До впливу різноманітних агентів зовнішнього середовища стійкі, у висохлій крові зберігаються 180 днів, у сухих фекаліях кліщів – 586 днів, у молоці при 4°C – від 40 до 150 днів, у молоці після кип'ятіння (при 63 °C) упродовж 30 хв, в олії і сирі при 4°C – біля 40 днів, у сечі і гної – декілька тижнів. Не гинуть від впливу 1 %-вого фенолу або 1 %-вого формаліну протягом 24 годин.

Патогенність обумовлена, певне, ендотоксином. У природних умовах оказують зараженість ссавців 70 видів, 50 видів птахів і 40 видів іксодових і аргалових кліщів.

Патогенез при Ку-гарячці вивчений на моделях людини й експериментальних тварин. Вхідними воротами інфекції є ушкоджені шкірні покриви і слизуваті оболонки верхніх дихальних шляхів, око, органи травлення. Характерна генералізована інфекція з розмноженням рикетсії в ретикуло - ендотеліальній системі. Для Ку-гарячки характерні аборти, виділення рикетсій з околоплодної рідиною, плацентою, молоком

Антигенна структура відмінна від р. *Rickettsia* і серологічних перехрестів з іншими рикетсіями не встановлено. Виявлено утворення фаз, аналогічних гладким і шорсткуватим формам бактерій. Фаза I - природна форма існування цього мікроорганізму, вона виділяється від хворих людей, тварин, кліщів. Фаза II утворюється в результаті пасажів на курячих ембріонах і, у свою чергу, переходить у фазу I в результаті пасажів через організми сприйнятливих тварин. Встановлено розходження фаз у тонкій будівлі, патогенних, антигенних властивостях і ін.

Рикетсії у фазі I містять поверхневий поліцукридний антиген, у фазі II - корпускулярний антиген. Реакція зв'язування комплекменту з антигеном із фази I стає позитивною на 40-60-й день, а з антигеном із фази II на 7-10-й день. Високий титр антитіл із фази I свідчить про хронічну інфекцію і використовується в діагностичних цілях. Патогенні і імуногенні властивості рикетсії у фазі I більш виражені, чим у фазі II

Імунітет вивчений недостатньо. Відзначена схильність до хронічного перебігу інфекційного процесу, рецидивам захворювання і випадкам повторного зараження.

Діагностика Ку-гарячки у тварин здійснюється за допомогою реакції зв'язування комплекменту, методу імунофлуоресценції, методом біопроб.

Хламідії – облигатні внутрішньоклітинні паразити еукаріот, на відміну від рикетсій не паразитують у членистоногих. При розвитку (як і в ерліхій) відбувається закономірне перетворення інфекційного елементарного тільця у вегетативну форму - ініціальне (ретикулярне) тільце, що через проміжні форми знову перетворюється в елементарне. Цикл розвитку відбувається у фагоцитарних вакуолях, оточених плазмалемою. Елементарне тільце має сферичну форму біля 0,3 мкм у поперечнику. Грамнегативні. Культивують у жовточному мішку РКЕ і культурі клітин.

Хламідії відносять до порядку *Chlamydiales*, родини *Chlamydiaceae*, роду *Chlamydia* з двома видами *Chl. trachomatis*, *Chl. psittaci*.

Вид *Chl. trachomatis* об'єднає збудників, що викликають у людей трахому, уrogenітальну інфекцію, венеричну лімфогранульому, неонатальну пневмонію, а також ендемічну пневмонію у мишей.

Збудники, що об'єднані у вид *Chl. psittaci* викликають хламідіози сільськогосподарських, промислових і диких тварин, а також орнітоз птахів.

Морфологія. Хламідії як облигатні 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, величина яких коливається в межах 250-450. Вони оточені двома тришаровими мембранами, які нагадують клітинну стінку й цитоплазматичну мембрану грамнегативних бактерій. Всередині тілець ексцентрична розміщується електронно щільний нуклеоїд овальної або півмісяцевої форми і дифузний матеріал, що містить гранули типу рибосом.

При розмноженні елементарні тільця проникають у клітину шляхом фагоцитозу, де вони перетворюються на ініціальні або ретикулярні тільця величиною 400-800 нм. Інколи утворюються гігантські тільця діаметром 2-3 мкм. Як ініціальні, так і гігантські тільця діляться бінарне і проміжні форми, що утворилися, поступово сконденсуються до зрілих елементарних тілець.

Хламідії слід розглядати як грамнегативні, нерухливі бактерії, що не утворюють спор і капсул. Є повідомлення про можливість ураження хламідій фагом.

Культуральні властивості. Хламідії як облигатні внутрішньоклітинні паразити не можуть культивуватися на штучних живильних середовищах. У зв'язку з цим 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.

Біохімічні властивості. Вони не здатні окислювати майже усі амінокислоти, у зв'язку з чим ці мікроби є повністю залежними від клітини живителя.

Стійкість хламідій проти фізико-хімічних і біологічних факторів. Нагрівання до 55°C хламідії витримують 45 хв.; при 75°C вони інактивуються менше ніж за 1 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. У тваринницьких приміщеннях у висушеному стані хламідії зберігаються близько 6 міс.

Чутливість хламідій до антибіотиків виявилася неоднаковою. Незначний вплив на них зумовлюють пеніцилін, стрептоміцин, поліміксин, мономіцин, неоміцин. Сильну бактеріцидну дію щодо них мають антибіотики тетрациклінового ряду, зокрема окситетрациклін, а також рондоміцин, олемофоциклін, тилозин, ахроміцин.

Антигенна структура хламідій складна. Порівняно добре вивчено

груповий термостабільний антиген, характерний для усіх представників роду *Chlamydia*. Він витримує автоклавування при 135°C.

Термолабільний антиген характерний лише для конкретного виду, тобто є видоспецифічним. Шляхом постановки реакції нейтралізації у курячих ембріонах хламідії розмежували не лише на види, а й на серовари. При постановці РЗК з типоспецифічними антигенами Іразер і Берман розділили 14 штамів хламідій різного походження на сім серологічних підгруп. Антигенне віддаленими виявилися також штами хламідій збудників абортів і штами, що виділяються з уражених суглобів. У середині виду *Chl. trachomatis* також виділено три групи штамів, що спричиняють у людей різні захворювання з розмежуванням цих штамів на імунотипи (імуноваріанти).

Патогенність. У природних умовах хламідії уражають практично всі види сільськогосподарських, багато видів диких тварин і птицю. Частіше хламідіоз уражає вівців, кіз, свиней, велику рогату худобу, коней, у яких захворювання описувалося як вірусний аборт вівців, ензоотичний аборт свиноматок, спорадичний енцефаломієліт великої рогатої худоби та ін. Сумарно хламідіозна інфекція виявлена більше ніж у 130 видів із 28 родин птахів і у 20 видів ссавців.

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.

Патогенез. Постійним 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 органи дихання, 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, клінічне проявляється у вигляді кон'юнктивіту, бронхопневмонії, ентериту.

Інфіковані хламідіями клітини розпадаються внаслідок вивільнення лізосомних ферментів і елементарних тілець, що нагромадилися.

Із місця первинної локалізації хламідії проникають у кров і заносяться нею в паренхіматозні органи, лімфатичні вузли, суглоби, деякі залози внутрішньої секреції і навіть у мозок. Там вони негативно впливають на ендотелій кровоносних судин. Внаслідок порушення кровообігу в різних місцях організму виникають набряки, в грудну і черевну порожнину випотіває транссудат з домішками фібрину. В паренхіматозних органах, головному та спинному мозку, шкірі спостерігаються крововиливи.

В наступній фазі хламідії розмножуються в гепатоцитах, альвеолярних макрофагах, епітеліальних клітинах нирок, у клітинах синовіальних оболонок суглобів, спленоцитах. У період вагітності хламідії розмножуються в плацентарній тканині, проникають у плід. Зумовлюють дистрофічні й некротичні зміни в паренхіматозних органах, що призводить до аборту. У самців хламідії розмножуються в слизовій оболонці сечовивідного каналу, в тканині сім'яників. Виникає хронічний уретрит, вогнищевий орхіт, простатит.

У новонароджених тварин за рахунок ураження основних систем організму розвиваються клінічні прояви хламідіозу у вигляді гострого ентериту, бронхопневмонії, кон'юнктивіту, артриту, енцефаломієліту.

Діагностика хламідіозу ґрунтується на проведенні комплексних досліджень і спостережень. Залежно від епізоотологічної обстановки захворювання може перебігати в гострій, хронічній і латентній формах. В усіх випадках ураховують те, що інфекція уражає 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.

При підозрі на хламідіоз у лабораторію відправляють такий патологічний матеріал: ділянки плаценти з вогнищами геморагічної інфільтрації, виділення із родових шляхів від маток, які абортували, паренхіматозні органи абортіваних плодів або молодняка перших днів життя, проби сперми від плідників. Для серологічної діагностики від дорослих тварин беруть проби крові.

Із патологічного матеріалу готують мазки, які фарбують методами Стемпа, Макіавеллі, Романовського-Гімза, толуюдиновим 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.

Методами Стемпа і Макіавеллі тільця хламідій фарбуються у червоний колір на синьому фоні, за Романовським-Гімза – в синьо-фіолетовий.

Важливе діагностичне значення має реакція РІФ. Виділяти хламідії можна лише в спеціальних режимних лабораторіях. З цією метою спеціально обробленою суспензією патологічного матеріалу, звільненого від бактерій і грибів, у жовтковий міхур заражають 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 хламідії, які частіше розміщуються у вигляді намиста по периферії епітеліальних клітин.

Питання для самоконтролю:

1. Що таке мікоплазми?
2. Які морфологічні ознаки, культуральні і антигенні властивості мікоплазм?
3. Розповсюдження мікоплазм в природі.

4. Які захворювання викликають патогенні мікоплазми?
5. На яких живильних середовищах культивують збудників плевропневмонії кіз, інфекційної агалакції вівців і кіз, респіраторного мікоплазмозу птиці?
6. Яка схема лабораторної діагностики мікоплазмозів?
7. Класифікація, біологічні властивості патогенних рикетсій і хламідій.
8. Опишіть морфологічні ознаки рикетсій та хламідій.
9. Де культивують патогенні рикетсії і хламідії?
10. Яка схема лабораторної діагностики Ку-риккетсіозу, ерліхіозу, коудріозу, неориккетсіозу, анаплазмозу.
11. Яка схема лабораторної діагностики хламідіозі?

15.2. ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ

1. Для яких мікроорганізмів відсутність клітинної стінки є видовою ознакою?

А. L – форми бактерій	Б. Мікоплазми
В. Актиноміцети	Г. Мікроскопічні гриби

2. Мікроорганізми, які не мають клітинної стінки належать до відділу:

А. Gracilicutes	Б. Firmicutes	В. Tenericutes	Г. Mendosicutes

3. Рикетсії - поліморфні мікроорганізми, які:

- А. Рухливі, утворюють спору і капсулу
- Б. Нерухомі, утворюють спори не утворюють капсулу
- В. Не мають джгутиків і ворсинок, не утворюють капсулу і спори
- Г. Належать до актиноміцетів

4. Патогенні мікоплазми викликають у ВРХ захворювання:

А. Плевропневмонію	Б. Ентерит
В. Мастит	Г. Бурсит

5. До облигатних паразитів належать:

А. Мікоплазми	Б. Рикетсії
В. Актиноміцети	Г. Лептоспіри

6. Складний тип розвитку мають:

А. Рикетсії	Б. Хламідії
В. Мікоплазми	Г. Лептоспіри

7. Хламідії належать до відділу:

А. Gracilicutes	Б. Firmicutes	В. Tenericutes	Г. Mendosicutes

8. Проміжний хазяїн є у:

А. Рикетсій
В. Мікоплазм

Б. Хламідій
Г. Лептоспир

9. Збудники інфекційного гідроперикардиту:

А. Рикетсії
В. Мікоплазми

Б. Хламідії
Г. Лептоспіри

10. Ретикулярне і елементарне тільце утворюють:

А. Рикетсії
В. Мікоплазми

Б. Хламідії
Г. Лептоспіри

ТЕМА 16. ПАТОГЕННІ ГРИБИ – ЗБУДНИКИ МІКОЗІВ

16.1. ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ

16.1.1. Мікози – це специфічні хвороби різних видів сільськогосподарських тварин, риб, бджіл, рослин та людини, які викликаються мікроскопічними грибами.

Мікози відомі давно, однак етіологія їх була встановлена тільки після відкриття збудників дерматофітозів – фавусу в 1839 р. і мікроспорії в 1843 р. Досі визнаної класифікації мікозів не існує.

Відомі три групи мікозів тварин, що викликаються патогенними грибами, які поражають ті або інші тканини.

Перша група – поверхневі мікози шкіри і її похідних (волосся, кігті). Збудники – гриби з видів *Trichophyton*, *Microsporum* і *Achorion*.

Друга група – глибокі мікози шкіри, які характеризуються появою вузлів власно в шкірі і утворенням виразок по ходу лімфатичних судин. Збудник епізоотичного лімфангоїту.

Третя група – вісцеральні мікози з локалізацією процесу в органах дихання або інших органах. Збудники гістоплазмозу, кокцидіоідомікозу, аспергильозу, мукормікозу.

Дерматоміцети. Це збудники трихофітії, мікроспорії і фавусу, входять в групу недосконалих грибів – *Fungi imperfecti*. Морфологія цих грибів неоднакова в культурах і патологічному матеріалі, що слідє мати на увазі при мікроскопічному дослідженні.

В патологічному матеріалі дерматоміцети представлені (за рідким винятком) несептованим міцелієм, інколи розгалуженим.

При культивуванні на живильних середовищах вони утворюють добре розвинутий міцелій різноманітної конфігурації – у вигляді рогів північного оленя, гребінцеві органи, канделябрі, булавовидні закінчення міцелію або в вигляді дубинок, вузуваті і веретеноподібні органи.

Трихофімія – *Trichophytia* (стригучий лишай), мікозне захворювання, що характеризується появою на шкірі різко обмежених безволосяних осередків або з вираженою запальною реакцією шкіри і фолікулів.

Трихофітію у тварин викликають гриби, які відносяться до роду *Trichophyton*. У великої рогатої худоби трихофітію викликають *Tr. faviforme* і *tonsurans*. В нашій країні велика рогата худоба найчастіше уражується грибом *Tr. verrucosum*.

Збудник паразитує у волоссі і на шкірі у вигляді розгалуженого септованого міцелію, що розпадається на спори.

Коней уражають гриби *Tr. equi* і *Tr. gypseum*, вівці – *Tr. verrucosum* var. *autotrophicum*.

Культивування. Здійснюють на глюкозному агарі, с. Сабуро або сусло-агарі з оптимальним рН 6,5-6,8, при температурі 26-28°C або кімнатній (18-20°C).

Tr. faviforme – гриб, який росте повільно. На агарі Сабуро утворює шкіряні колонії, гудзикові в центрі з глибоким вrostанням в живильне середовище. На сусло-агарі колонії жовтувато-білі, воскоподібні, в центрі піднесені, з глибокими нерівними складками і щільними променевими краями. Інколи колонії шкіряні, покриті з поверхні білосніжним низьким густим пушком. Гриб формує міцелій різноманітної товщини і округлі або чотирьох кутні артроспори, розташовані ланцюжками.

Tr. tonsurans (*Tr. crateriforme*) на агарі Сабуро утворює колонії білого або жовтого забарвлення, округлої форми, в центрі кратероподібні, борошністі, по периферії бархатисті. В культурах міцелій гіллястий, з численними грушоподібними спорами, розташованими у вигляді грон на гілках міцелію або на ньому безпосередньо. На сусло-агарі колонії густо-борошністі, по периферії бархатисті, поверхня їх складчаста, часто з кратер подібною западиною в центрі. Колір колоній білий, з віком стає кремовим.

Tg. equi на агарі Сабуро формує колонії у вигляді ніжно-білого пухнастого килиму, з зворотної сторони вони мають яскраво вишневе забарвлення.

На сусло-агарі колонії білі, бархатисті, плоскі, з віком з'являються радіальні бороздки. Старі колонії борошністі. По бокам гіф формуються хламідоспори.

Tg. gypseu – швидко росте, поліморфний. На сусло-агарі колонії плоскі, рівні, піднесені в центрі у вигляді маленького бугорка, з борошністою поверхнею білого кольору з переходом в жовтий, з зворотної сторони колонії мають червону пігментацію. В культурах міцелій гриба тонкий, розгалужений, з рясними спіральними і кільцеподібними закінченнями гіф.

На середовищі Сабуро колонії правильної округлої форми, борошністі, немов би посипані гіпсом. Колір білий, зворотна сторона колоній жовта або коричнева. В центрі колоній гудзикоподібне піднесення.

T. verrucosum (var. *autotrophicum*) – колонії з'являються на сусло-агарі на 20-25-у добу. Первинна культура має вигляд білих, тонких і округлих колоній і бархатисто-пухнастою поверхнею. Інколи колонії опуклі, пухкі або плоскі в діаметрі від 5-7 до 10-25 мм, з рівним краєм.

Міцелій септований, прямий, зогнутий, хвилястий діаметром 3-9 мкм, що містить поодинокі артроспори. Мікроконідії округлої, грушоподібної, паличкоподібної форми, шириною 1,5-2,5 і довжиною 5-7 мкм. Макроконідії з

обрубаними краями і однією перегородкою, овальної або невірної форми, розміром 3,5 X 15-25 мкм.

Стійкість. Знаходячись під захистом рогових мас волосу, збудники трихофітії зберігають вірулентність до 4-7 років, а спори – до 9-12. При температурі 60-62°C гриб гине на протязі 2 год., а при 100°C – упродовж 15 - 20 хв.

При впливі лужного розчину формальдегіду, в співвідношенні 1 : 2, гарячого 10%-ного розчину сірчано-карболової суміші при дворазовому нанесенні гриби гинуть на протязі 1 год..

Патогенність. На трихофітію хворіють велика рогата худоба, особливо телята, лошаки, собаки, кішки, осли, мули, свині, вівці. З лабораторних тваринних – морські свинки, кролі, миші, щури, кури.

У людини трихофітію викликають *Tr. tonsurans*, *Tr. rubrum*, *Tr. mentagrophytes* і ін. Також людина може заразитися і від тваринних збудників – *Tr. faviforme*, *Tr. gypseum*, *Tr. verrucosum*.

Імунітет і засоби специфічної профілактики. Тварини, що перехворіли в перший рік життя, повторно не хворіють. Зареєстровані окремі випадки природньої несприйнятливості тварин як до трихофітії, так і до мікроспорії.

Біопрепарати. Для специфічної профілактики трихофітії в неблагополучних господарствах використовують вакцини ТФ-130 або ЛТФ-130, «Трихобен» «Вермет», «Триховак».

Мікроспорія – Microsporiasis (стригучий лишай) – хронічна висококонтагіозна грибкова хвороба котів, собак, хутрових звірів та коней, що характеризується осередковим поверхневим запаленням шкіри та обламуванням на її уражених ділянках волоссяного покриву, а іноді й кігтів. Захворювання реєструється в усіх країнах світу. На мікроспорию хворіє людина.

Збудник хвороби — патогенні грибки з роду *Microsporum*: у коней – *M. equinum*, у собак, котів, кролів, свиней, хутрових та хижих звірів, морських свинок, оленів, мавп – *M. lanosum* (*M. canis*, *M. pelineum*), у котів, собак, коней, телят, морських свинок, щурів, мишей – *M. gypseum* (*Achorion gypseum*, *M. lanosum* Bodin), у свиней – *M. nanum*. У патологічному матеріалі мікроспорами знаходяться всередині ураженої волосини у вигляді септованого міцелію та округлих одноклітинних спор діаметром 2 – 3 мкм, що розміщуються мозаїчно у вигляді чохла біля основи зовнішнього боку волосини. Грибки легко культивуються в лабораторних умовах на глюкозному агарі Сабуро та сусло-агарі при 26 – 28°C. Ріст *M. equinum* спостерігається на 6 – 7-му добу після посіву у вигляді складчастих, сірувато-жовтих колоній, які щільно прилягають до середовища і вкриті сіро-білим повітряним міцелієм. Під час мікроскопічного дослідження колоній виявляється гіллястий септований міцелій, поодинокі грушоподібні багатоклітинні мікроконідії розміром (1-2) × (3-5) мкм. Макроконідії багатоклітинні, мають овальну або веретеноподібну форму з 2 – 3 перегородками, розміром (5-8) × (15-35) мкм. Хламідоспори інтеркалярні, рідше термінальні.

M. lanosum на 3–5-ту добу після посіву формує округлі з концентричними

колами сірувато-білі або жовті колонії з борошnistим центром, які стеляться пухким міцелієм. Під час мікроскопічного дослідження колоній виявляється гіллястий септований міцелій, а також мікроконідії розміром $(1-3) \times (1,5-5,0)$ мкм, які мають овально-грушоподібну форму. Макроконідії численні, веретеноподібної форми, ворсинчасті або з шипоподібною двоконтурною стінкою, багатокамерні, звужені з обох кінців, розміром $(11-16) \times (53-85)$ мкм.

M. gypseum утворює плоскі, згодом борошnistі колонії жовто-брунатного кольору, з невеликим заглибленням у центрі. Під час мікроскопічного дослідження колоній виявляється рівний септований ракетоподібний міцелій, а також мікроконідії грушоподібної форми або видовжені, розміром $(3-5) \times (2,5-3,5)$ мкм. Макроконідії багатокамерні, товстостінні, мають овальну або веретеноподібну форму. Уражене грибом волосся флуоресціює, що пов'язано з продукцією флуоресціюючого пігменту інтеридину.

M. papit утворює жовтуваті або темно-червоні, пухкі в центрі колонії. Під час мікроскопічного дослідження виявляється септований ракетоподібний міцелій, мікроконідії поодинокі, овальні або видовжені, розміром $(4-5) \times (1,5-2)$ мкм. Макроконідії рясні, грушоподібної або овальної форми, багатокамерні, розміром $(12-20) \times (4-14)$ мкм. Спори всіх грибків мікроспорії надзвичайно стійкі в зовнішньому середовищі. В ураженому волоссі та зіскрібках зі шкіри зберігаються 2 - 5 років, у шерсті – 2 – 7 років, гної та гноївці – до 8 міс, у паперових пакетах за кімнатної температури – 3 – 4 роки. Стійкі до заморожування, висушування та дії прямого сонячного випромінювання. Під дією сухої пари при 110°C спори руйнуються через 30 хв, при 80°C – через 2 год, при кип'ятінні інактивуються через 2 – 3 хв. Вегетативні форми грибків руйнуються 1 – 3 %-м розчином формальдегіду впродовж 15 хв, 5 – 8 %-м розчином лугів – 20 – 30 хв.

Епізоотологія хвороби. На мікроспорію найчастіше хворіють коти, собаки, коні, хутрові звірі, кролі; рідше – вівці, кози, свині, олені, мавпи, морські свинки, щури, миші, хижі звірі. Більш сприйнятливі до мікроспорозу молоді тварини. Джерелом збудника інфекції є хворі тварини та носії, які виділяють збудник з ураженими волосинками та шкірними лусочками після підсихання і надовго контамінують предмети навколишнього середовища. Особливо небезпечними в підтриманні епізоотичного осередку є бездомні коти й собаки, а також гризуни, у яких встановлено тривале носійство *M. gypseum*.

Зараження відбувається в разі спільного утримання хворих тварин зі здоровими, а також через інфіковані корми, воду, підстилку, предмети догляду, одяг та взуття обслуговуючого персоналу. Собаки й коти інфікуються під час обнюхування, облизування та бійки. Захворювання проходить спорадично або у вигляді незначних ензоотій. У густонаселених міських районах мікроспорія може набувати значного поширення серед бездомних бродячих собак і котів, уражати велику кількість тварин, включаючи кімнатних, які заражаються під час прогулянок та тічки. Характерною особливістю мікроспорії є висока контагіозність, постійна циркуляція збудника мікроспорії в інфікованих осередках серед бродячих собак і котів,

тривале збереження грибків у зовнішньому середовищі. Найбільша кількість хворих реєструється восени. Тривалість хвороби – від 3 до 10 тижнів. Вважається, що близько 85 % випадків захворювання людей пов'язано із зараженням від котів.

Патогенез. Внаслідок розвитку грибка в роговому шарі епідермісу виникає поверхнєве запалення та злушення шкіри, порушення живлення волосся, яке стає сухим і легко ламається. Утворюються обмежені безволосі ділянки шкіри різних розмірів та форми. Інкубаційний період триває 22 – 47 діб. Розрізняють поверхнєву, глибоку, стерту та приховану форми хвороби. У собак і котів реєструється прихована форма хвороби, інколи поверхнєва. При прихованій формі хвороби ураження волосся можна виявити лише за допомогою люмінесцентного та мікроскопічного дослідження. Поверхнєва форма часто трапляється у кошенят. Під час клінічного огляду на шкірі лап, морди, хвоста виявляють плями округлої форми, вкриті лусочками, іноді білувато-сірими кірочками з рідко розміщеними волосинками, що легко обламуються. На деяких ділянках спостерігається повне облісіння шкіри. У собак численні осередки ураження спостерігаються на морді, спині, тулубі, рідко – на лапах.

У хутрових звірів мікроспорія має приховану форму і виявляється лише люмінесцентним методом. У цуценят при поверхнєвій формі навколо очей, біля основи вух, на лобі, передніх та задніх лапах відмічаються плями з дрібними пухирцями та сірувато-жовтими кірками.

У коней ураження локалізуються в ділянці голови, шиї, холки, лопаток, спини, крупа, іноді кінцівок. Частіше спостерігається поверхнєва форма хвороби, що характеризується утворенням безволосих плям різної форми діаметром 3 – 4 см, обламуванням волосся поблизу верхніх шарів шкіри, відсутністю свербежу. При глибокій формі розвивається чітко виражений запальний процес, утворення на поверхні шкіри кірок із засохлого ексудату, різних розміру і форми плям з обламаним волоссям. При атиповій формі виявляються безволосі ділянки шкіри, осередкове злушення поверхнєвого шару шкіри. У поросят грибкові ураження локалізуються на вухах, шиї, спині, боках. Спостерігається переважно глибока форма, що проявляється утворенням овальних, різко обмежених плям червонуватого кольору, місцями вкритих товстими коричневими кірками, випаданням щетини, облісінням.

Діагностика. Діагноз установлюють на підставі епізоотологічних даних, клінічного обстеження хворих тварин, мікроскопічного дослідження волосся та кірок з уражених ділянок шкіри. У разі підозри щодо мікроспорії у собак і котів застосовують метод люмінесцентної діагностики.

Лабораторна діагностика. Включає люмінесцентний та мікроскопічний методи дослідження. До лабораторії у пробірках з пробками або в невеликих целофанових пакетах надсилають волосся, лусочки, кірочки, а також зіскрібків з країв різних уражених нелікованих ділянок шкіри.

Люмінесцентний метод передбачає дослідження волоссяного покриву хворої тварини або ураженого волосся в затемненому приміщенні, під час якого виявляється специфічне смарагдово-зелене світіння ураженого

мікроспорумами волосся. При трихофітії світіння волосся не спостерігається. Не люмінесціює також уражене грибом мікроспорії волосся тварин чорної масті. Як джерело ультрафіолетового випромінювання використовують ртутно-кварцеві лампи зі світлофільтрами, які здатні затримувати видиму частину спектра і пропускати ультрафіолетову. Дослідження проводять до лікування тварин різними препаратами, оскільки деякі з них (саліцилова кислота, риванол, вазелін та ін.) флуоресціюють.

Мікроскопічні дослідження для виявлення грибка проводять безпосередньо в господарстві чи зональній лабораторії. Відібрані зразки волосся, лусочки, зіскрібки ураженої шкіри подрібнюють препарувальними голками, заливають на 5 - 10 хв. 1 - 2 краплями 10 %-го розчину їдкого натру або калі. Потім переносяться на предметне скло у краплю 50 %-го водного розчину гліцерину, трохи підігрівають над спиртівкою, розглядають за малого й великого збільшення мікроскопа. У позитивних випадках знаходять характерний гіллястий міцелій грибка з рідкими перегородками, а також мозаїчне розміщення невеличких (2 – 3 мкм) спор усередині та на поверхні волосини.

Диференціальна діагностика Передбачає необхідність відрізнити мікроспорію від трихофітії й корости. При трихофітії у коней спостерігається сильний свербіж і не буває світіння ураженого волосся при люмінесцентному обстеженні. Мікроскопією виявляють всередині волосини правильні ряди гіфів з перегородками, ланцюжки великих спор на волосині та біля її основи. При корості завжди спостерігається сильний свербіж, мікроскопією виявляють кліщів.

Епізоотичний лімфангоїт (Lymphangitis epizootica) – хронічна хвороба однокопитних тварин, що характеризується гнійним запаленням лімфатичних судин шкіри й підшкірної клітковини та регіонарних лімфовузлів.

Збудник хвороби – грибок *Histoplasma farciminosum* (*Cryptococcus farciminosus*) – в організмі тварин трапляється тільки у формі криптококів. У міцелярній формі грибок знаходиться в зовнішньому оточенні та при вирощуванні його на спеціальних живильних середовищах. У мазках з гною виразок збудник хвороби має вигляд овальних клітин – криптококів розміром (3-4)×(2,4-3,6) мкм, з чітко вираженою двоконтурною оболонкою та цитоплазматичними включеннями. Криптококи часто розміщуються всередині лейкоцитів або купками чи поодинокі поза клітинами. Забарвлюються усіма аніліновими фарбами, за Грамом – позитивно. Для лабораторних тварин грибок не патогенний. Криптококи культивують на спеціальних живильних середовищах (агар Сабуро з кров'ю, кров'яний агар) в атмосфері, що містить 15 % CO₂. У культурі криптококи мають круглу або овальну форму, інколи зустрічаються хламідоспори та короткі нитки міцелію. Міцелярна форма грибка вирощується на агарі Сабуро, пептонно-печінковому агарі, яєчних середовищах, краще з додаванням 2 % глюкози, 1 % гліцерину та конячої чи бичачої крові за температури 22 - 30°C. Ріст грибка виявляється через 15 – 20 діб у вигляді сіро-жовтих пухких нальотів на поверхні живильних середовищ. Згодом колонії грибка стають щільними, складчастими, набувають

жовто-брунатного кольору. Під час мікро-скопичних досліджень виявляють септований міцелій і хламідоспори збудника хвороби.

Міцеллярні форми грибка в замороженій культурі, а також у гною та землі зберігаються до 3 міс. Пряме сонячне проміння інактивує грибок через 10 діб, а нагрівання до 60°C – через 5 хв. Криптококова форма грибка більш стійка і не руйнується в угноєній землі при 30°C впродовж 11 – 18 діб, у піску – 2 - 3 міс, у сухому стерильному гною – 9 міс і довше.

Епізоотологія хвороби. До захворювання сприйнятливі однокопитні тварини — коні, мули, віслюки, лошаки, іноді верблюди. Епізоотичний лімфангоїт частіше уражає дорослих тварин, а лошаки, не- зважаючи на контакт з хворими кінями, захворюють рідко.

Джерелом збудника хвороби є хворі тварини, які виділяють величезну кількість криптококів разом з гноем абсцесів та виразок. Факторами передачі збудника є гній, підстилка, сіно, предмети догляду за тваринами, контаміновані гноем. Зараження виникає переважно в разі використання знеособлених предметів догляду та збруї, що були контаміновані гноем хворих коней, а також при спільному утриманні здорових тварин з хворими. Захворювання спостерігається впродовж усього року, однак частіше восени та взимку. Хвороба поширюється повільно, трапляється спорадично або у вигляді невеликих спалахів. Проте в разі незадовільних умов утримання та експлуатації коней (відсутність індивідуального догляду за кінями, тяжкі травми шкірного покриву, випасання по жорсткій траві, чагарниках, надмірна робота) хвороба може набувати швидкого поширення і злоякісного прояву. Летальність коливається в межах 10 - 50 %.

Патогенез. На місці проникнення збудника (холка, спина, голова, кінцівки) виникає специфічний запальний процес з ураженням лімфатичних судин та утворенням вузликів і гнійних фокусів завбільшки з просiane зерно чи горошину. В резистентному організмі подальше поширення патологічного процесу не відбувається, гнійні фокуси розсмоктуються або інкапсулюються, виразки швидко загоюються. У разі зниження резистентності організму збудник проникає в підшкірну клітковину, зумовлює виникнення численних нових гнійних фокусів розміром від лісового горіха до гусячого яйця. Після їх розкривання утворюються глибокі виразки, які, зливаючись, уражають значні ділянки шкіри, слизових оболонок дихальних шляхів, рота, статевих органів. Одночасно вражаються регіонарні лімфовузли, які збільшуються в розмірі, стають щільними й болісними, в них утворюються гнійні фокуси та нориці. Нерідко захворювання ускладнюється умовно-патогенною мікрофлорою. В разі проникнення криптококів у кров відбувається генералізація процесу, виникнення гнійних фокусів у внутрішніх органах, що зумовлює сепсис і швидку загибель тварини.

Патологоанатомічні зміни. При розтині трупів по ходу уражених лімфатичних судин виявляють різного розміру вузли, гнійні фокуси та виразки. Сірувато-жовті вузлики та виразки спостерігаються і на слизових оболонках носової порожнини, гортані, трахеї, статевих органів. За злоякісної форми гнійні фокуси виявляються також у легенях, печінці, селезінці та

нирках.

Діагноз установлюють на основі епізоотологічних даних, клінічних ознак хвороби та результатів лабораторних досліджень.

Лабораторна діагностика. Передбачає мікроскопічні й бактеріологічні дослідження патологічного матеріалу з метою виділення та ідентифікації збудника хвороби. Для дослідження в лабораторію у стерильних пробірках направляють проби гною, відібраного з не- розкритих гнійних фокусів та виразок. Наявність у гною криптококів підтверджує клініко-епізоотологічний діагноз.

Диференціальна діагностика. Потребує виключення сапу та виразкового лімфангоїту. Проводять алергічну пробу (офтальмопробу) на сап та бактеріологічні дослідження для виключення збудника псевдотуберкульозу.

Питання для самоконтролю:

1. Яка класифікація мікозів?
2. Назвіть збудників поверхневих мікозів.
3. Назвіть збудників глибоких мікозів.
4. Які особливості морфології і культивування збудників поверхневих мікозів?
5. Який патматеріал надсилають у лабораторію при підозрі на мікоз?
6. На яких живильних середовищах культивують збудників мікозів?
7. Особливості лабораторної діагностики мікозів.
8. Що таке кандидамікоз?
9. Назвіть збудників епізоотичного лімфангоїту, кандидамікозу.
10. Особливості морфології і культивування збудників епізоотичного лімфангоїту, кандидамікозу.

16.2. ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ

1. Гриб розташовується всередині і на поверхні ураженої волосини у вигляді правильних рядів септованого міцелію належить до:

- А. Трихофітону Б. Мукору В. Мікроспору Г. Пеніциліну

2. При люмінесцентному аналізі гриб світиться смарагдово-зеленим кольором:

- А. Трихофітон Б. Мукор В. Мікроспор Г. Пеніцилін

3. При люмінесцентному аналізі гриб не світиться:

- А. Трихофітон Б. Мукор В. Мікроспор Г. Пеніцилін

4. На яких живильних середовищах культивують патогенні гриби?

- А. МПБ Б. Левенштейна. В. Картопля Г. Сабуро

5. Назвіть хвороби, які відносяться до дерматомікозів.

А. Лімфонгаїт
В. Аспергильоз

Б. Мікроспорія
Г. Кандидомікоз

6. *Aspergillus* відноситься до грибів:

А. Вищих Б. Нижчих В. Дерматомікозів Г. Їстівних

7. *Mucor* відноситься до грибів:

А. Вищих Б. Нижчих В. Дерматомікозів Г. Їстівних

8. За Цілем-Нільсеном фарбують:

А. Кислото лугостійкі бактерії
Б. Актиноміцети
В. Мікроскопічні гриби
Г. Мікоплазми

9. Вісцеральні мікози викликають гриби з роду:

А. Trchophytia Б. Microsporum
В. Achorion Г. Aspergillus

10. *Stachybotrys alternans* викликає:

А. Мікоз Б. Мікотоксикоз
В. Запалення Г. Алергію

ВИКОРИСТАНА ТА РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Бортнійчук В.А., Скибицький В.Г., Ібатуліна Ф.Ж. Практикум з ветеринарної мікробіології / За редакцією В.А. Бортнійчука. Навчальний посібник. 2-ге вид. і доп. Вінниця: Нова Книга, 2007. 240 с.
2. Ветеринарна мікробіологія та імунологія / А.В. Демченко, В.О. Бортнійчук, В.Г. Скибицький, В.М. Апатенко. Київ: Урожай, 2006. 368 с.
3. Ветеринарна мікробіологія. / Скибицький В.Г., Власенко В.В., Козловська Г.В., Ібатуліна Ф.Ж., Ташута С.Г., Мельник М.В. Київ: ТОВ «ДорадоДрук», 2012. 367 с.
4. Ветеринарна мікробіологія: підручник /Скибицький В.Г., Власенко В.В., Козловська Г.В., Ібатуліна Ф.Ж., Ташута С.Г., Мельник М.В. Київ: ТОВ «ЗАТ Нічлава», 2015. 367 с.
5. Векірчик К.М. Мікробіологія з основами вірусології. Підручник. Київ: Либідь, 2001. 312 с.
6. Векірчик К.М. Практикум з мікробіології. Київ: Вища школа, 2003 р..
7. Вершигора А.Е., Баранцевич Л. Г. и др. Общая микробиология. К.: Выща шк., Гол. изд-во, 1988. 343 с.
8. Власенко В.В., Конопко І.Г., Березовський І.В. Мікробіологія м'яса та м'ясопродуктів. Вінниця: Гіпаніс, 2005 р. 306 с.
9. Власенко В.В., Гирич С.В., Конопко І.Г. Практикум з мікробіології (Навчальний посібник). Вінниця: Гіпаніс, 2002. 136 с.
10. Ветеринарно-санітарна мікробіологія: навчальний посібник / Козловська Г. В., Івченко В. М., Скибицький В. Г. Київ: НУБіП України, 2019. 410 с.
11. Галатюк О. Є., Радзиховений М. А. Організація профілактичних та оздоровчих заходів при інфекційних хворобах тварин [Методичний посібник]. Житомир Рута. 2013. 456 с.
12. Галатюк О. Є., Передера О. О., Лавріненко І. В., Жерносик І. А. Інфекційні хвороби собак. Навчальний посібник для вузів II–IV рівнів акредитації. Житомир: ПП «Рута». 2018. 276 с.
13. Грегірчак Н.М. Мікробіологія харчових виробництв: навч.посіб. Київ: НУХТ. 2009. 302 с.
14. Грегірчак Н.М., Тетеріна С.М., Нечипор Т.М. Мікробіологія, санітарія і гігієна виробництв з основами НАССР: навч. посібн. Київ: НУХТ. 2018. 274 с.
15. Іерсиніози тварин: навчальний посібник. Київ: «ЦП» «Компринт». 2016. 161 с.
16. Калініна О.С., Панікар І.І., Скибицький В.Г. Ветеринарна вірусологія. Київ: «Вища освіта». 2004. 432 с.
17. Карчевська Т.М., Чумаков К.А. Інфекційні хвороби собак: навч. посібн. Кам'янець-Подільський: ФОП Сисин Я.І. 2017. 160 с.
18. Коваленко В.О., Євлаш В.В., Чернова Л.О. Мікробіологія молока і молочних продуктів: [Текст] навчальний посібник. Харків: ХДУХТ. 2011. 136 с.
19. Коваленко Т.М., Пінчук Н.В., Вергелес П.М. Мікробіологія та вірусологія: Навч. посіб. За ред.. Пінчук Н.В. Вінниця: ВНАУ. 2020. 346 с.

20. Мікробіологія: Підручник для студентів вищих навчальних закладів / І. Л. Дикий, І. Ю. Холупяк, Н. Ю. Шевельова, М. Ю. Стегній, Н. І. Філімонова; За ред. І. Л. Дикого. Харків: Вид-во НФаУ; Оригінал. 2006. 432 с.
21. Мікробіологія м'яса та м'ясопродуктів (практикум) /В.В. Власенко, В. Г. Скибіцький, І.Г. Власенко, Ф. Ж. Ібатулліна, Г. В. Козловська, М. В. Мельник. Вінниця: «Едельвейс і К». 2008. 132 с.
22. Мікробіологія молока та молочних продуктів. Скибіцький В. Г., Власенко В. В., Власенко І. Г. та ін. Вінниця: Едельвейс і К., 2008. 412 с.
23. Мікробіологія, вірусологія, імунологія : підручник. В.В. Данилейченко, С.І. Климнюк, О.П. Корнійчук та ін. / за заг. ред. В.В. Данилейченка, О.П. Корнійчука. Вінниця: Нова Книга, 2017. 376 с.
24. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики: справочник / Под ред. проф. И.П. Кондрахина. Колос. 2004. 132 с.
25. Определитель бактерий Берджи. В 2-х т.: Пер. с англ. / Под ред. Дж. Хоулта, Н. Крига. Мир, 1997. 432 с.
26. Пирог Т.П. Загальна мікробіологія. Київ: НУХТ, 2004. 470 с.
27. Плахтій П.Д., Михальський А.В., Супрович Т.М. Мікроорганізми, харчування і здоров'я людини: Навчальний посібник. Кам'янець-Подільський: ПП. Буйницький О.А., 2006. 192 с.
28. Скибіцький В.Г., Козловська Г.В., Ташута С.Г., Ібатулліна Ф.Ж., Яблонська О.В. Ветеринарна мікробіологія. Київ, 2009. 638 с.
29. Скибіцький В.Г., Власенко В.В., Ібатулліна Ф.Ж., Козловська Г.В., Ташута С.Г., Мельник М.В. Ветеринарна мікробіологія: підручник / За ред. Скибіцького В.Г., Власенко В.В. (2-е вид., змін. і доповнене. Київ: ЦП Компрінт. 2016. 422 с.
30. Санітарна мікробіологія: навчальний посібник / Козловська Г.В., Мельник М.В. Київ: НУБіП України, 2019. 167 с.
31. Соломон А.М., Казмірук Н.М., Тузова С.Д. Мікробіологія харчових виробництв: навчальний посібник для студентів наряду підготовки «Харчові технології». Вінниця: РВВ ВНАУ. 2020. 312 с.
32. Фурзікова Т.М., Сергійчик М.Г., Власенко В.В., Швець Ю.В., Позур В.К. Мікробіологія. Практикум. Київ: Фітоцентр, 2006. 210 с.
33. Хвороби собак: Довідник / Упоряд. проф. А.І. Майоров. Колос. 2001. 472 с.
34. Якубчак О.М., Хоменко В.І., Мельничук С.Д., Кравців Р.Й., Микитюк П.В., Козак М.В., Олійник Л.В. Ветеринарно-санітарна експертиза з основами технології і стандартизації продуктів тваринництва: підручник. Київ, 2005. 800 с.

СЛОВНИК ТЕРМІНІВ

Агар-агар – продукт, який одержують з морських водоростей і використовують для надання твердості поживним середовищам, що використовуються в мікробіології та мікробіологічній промисловості. Являє собою жовтувато-білий порошок або пластинки.

Агресини – поверхневі речовини, екзоферменти мікроорганізмів, які інтерферують із захисними факторами організму хазяїна і різко посилюють вірулентність мікроба. Мають полісахаридне або білкове походження, добре розчиняються у рідинах організму, легко відділяються від бактерій і здатні до поширення по організму.

Адаптація – процес зміни властивостей окремих клітин або популяцій мікроорганізмів, внаслідок чого вони стають більш пристосовані до нового або зміненого середовища проживання. Механізм адаптації має фенотипову або генотипову природу.

Аероби – облигатні аеробні мікроорганізми – різнорідна група мікроорганізмів, які використовують аеробний (окислювальний) тип біологічного окислення субстратів.

Алергія – одна із форм імунної відповіді, що закінчується формуванням гіперчутливості організму до речовин різного складу та походження.

Антибіотики – хіміотерапевтичні речовини мікробного, напівсинтетичного або синтетичного походження, які в малих концентраціях зумовлюють гальмування розмноження або загибель чутливих до них мікробів та пухлинних клітин у внутрішньому середовищі організму.

Атипові мікобактерії – мало патогенні або непатогенні для морських свинок види роду *Micobacterium*, які за певних умов спричиняють у людей захворювання, що нагадує туберкульоз.

Bacillus – паличкоподібні спорогенні, в основному рухливі, грампозитивні варіабельні хемоорганотрофи, аеробні або факультативно анаеробні бактерії родини *Bacillaceae*. Діаметр ендоспори не перевищує діаметра вегетативної клітини.

Бактерії – група одноклітинних мікроорганізмів. Разом з синьо-зеленими водоростями бактерії становлять царство та надцарство прокаріотів. Будова вегетативної стадії бактерій типова для прокаріотів: клітинна стінка, цитоплазматична мембрана, цитоплазма, нуклеоїд. У частини бактерій додатково є капсула, війки, джгутики, включення. Хімічний склад бактерій подібний до хімічного складу представників рослинного світу. За типом дихання виділяють аероби, анаероби, факультативні анаероби та мікроаерофіли. Для бактерій, як і для інших організмів, характерні ріст, розмноження.

Бактеріоскопічний (мікроскопічний) метод – сукупність способів виявлення та вивчення за допомогою мікроскопії морфологічних та тінкторіальних властивостей бактерій у лабораторній культурі, патологічному матеріалі або в пробах із зовнішнього середовища. Застосовують для встановлення діагнозу інфекційного захворювання або іншого, спричиненого

мікробами, процесу, а також для ідентифікації виділеної чистої культури.

Берджі визначник – систематизований перелік назв таксонів бактерій з описом морфологічних, фізіологічних та екологічних властивостей і ключів до ідентифікації виділених культур бактерій.

Біфідобактерії – рід поліморфних аспорогенних грампозитивних некислотостійких хемоорганотрофних анаеробних бактерій порядку *Actinomycetales*. Ростуть в анаеробних умовах. Є фоновими бактеріями товстої кишки людини та ссавців.

Бродіння – окисно-відновний процес анаеробного розщеплення органічних речовин (в основному вуглеводів), за допомогою якого мікроорганізми отримують необхідну їм енергію.

Вакцини – препарати з мікроорганізмів, які використовують для штучного утворення специфічного набутого імунітету проти певних видів мікроорганізмів або токсинів. Необхідні для специфічної терапії інфекційних захворювань. Виділяють чотири типи вакцин: вакцини із убитих мікроорганізмів, живі, хімічні та анатоксини.

Висяча крапля – спосіб виявлення рухливості деяких мікроорганізмів.

Вірулентність – властивість, яка визначає ступінь або міру патогенності окремих штамів мікроорганізмів. Зазнає виразної мінливості. Виділяють високо- помірно-, слабо вірулентні та авірулентні штами.

Дезінфекція – захід, спрямований на повне знищення вегетативних та тих, що перебувають у спокої, форм певних груп мікроорганізмів на об'єктах зовнішнього середовища.

Джгутики – органи руху бактерій. Являють собою тонкі довгі ниткоподібні структури білкової природи.

Ендоспори – спори, що утворюються в цитоплазмі бактерій та грибів.

Ендотоксини – токсичні субстанції, що входять до структури бактерій (напр., до клітинної стінки) і вивільнюються з них після лізису бактерій. Цю назву часто використовують щодо ЛПС клітинної стінки грамнегативних бактерій.

In vitro – в умовах пробірки.

In vivo – в умовах живого організму.

Ідентифікація мікробів – встановлення систематичного положення виділеної з будь якого джерела культури до рівня виду чи варіанту. Ідентифікація необхідна для встановлення мікробіологічного діагнозу.

Імерсійна олія – олія, яка застосовується для мікроскопії імерсійними об'єктивами мікроскопів. Імерсійна олія повинна бути прозорою, мати показник заломлення світла, який дорівнює показнику заломлення скла лінзи і предметного скла.

Імунізація – спосіб штучного створення імунітету. Застосовують для специфічної профілактики інфекційних хвороб людей, тварин, для отримання лікувальних, профілактичних, діагностичних сироваток.

Імунітет – сукупність захисно-адаптаційних реакцій і пристосувань, спрямованих на збереження сталості антигенного складу внутрішнього середовища організму шляхом розщеплення, нейтралізації, блокування або

вилучення паразитів, сторонніх клітин і речовин антигенної природи.

Імунітет гуморальний – імунітет, основним ефектором якого є антитіла.

Імунітет клітинний – імунітет, основним ефектором якого є сенсibilізовані лімфоцити та лімфокіни, що продукуються ними. У розвитку клітинного імунітету основна роль належить Т-системі лімфоцитів, а контролю за ним – тимусу.

Імунітет місцевий – складова частина загального імунітету, яка забезпечує захист окремих частин тіла від ушкоджуючої дії паразитів та речовин антигенної природи.

Імунітет набутий – форма імунітету, яка набувається в процесі індивідуального розвитку організму внаслідок контакту з паразитами та речовинами антигенної природи.

Імунітет природний – форма імунітету, зумовлена бар'єрними та антимікробними властивостями шкіри та слизових оболонок, конкурентною здатністю нормальної мікрофлори тіла, ареактивністю тканин до дії ушкоджуючих факторів, фагоцитарною активністю макрофагів і поліморфно-ядерних лейкоцитів, комплементом, лізоцимом, інтерфероном, іншими антимікробними білками. Механізми його формуються під контролем генома в процесі розвитку організму незалежно від контакту з антигеном.

Імунна відповідь – складна багатокomпонентна кооперативна реакція імунної системи організму, індукована антигеном і спрямована на вилучення антигена.

Індол – отруйний для тварин продукт неповного розпаду білків, які містять триптофан. Пробу на індол використовують для ідентифікації бактерій, які його утворюють.

Інфекція – від лат. *Infectio* (зараження). Активне проникнення патогенного мікроорганізму в макроорганізм, наслідком чого є розвиток інфекційного процесу.

Clostridium – рід паличкових перитрихіальних спорових грампозитивних анаеробних бактерій родини *Bacillaceae*.

Капсула – структура бактеріальної клітини, розташована поверх клітинної стінки. Залежно від товщини шару і міцності з'єднання з тілом розрізняють капсулу, видиму в світловий мікроскоп, мікрокапсулу (К-антиген), невидиму в світловий мікроскоп, але яку можна виявити серологічними та хімічними методами, і слизовий шар, який складається з екстрацелюлярних речовин мікроба, що тимчасово утримується на поверхні бактерії.

Кауффмана середовище – селективне бактеріологічне середовище для виділення сальмонел із контамінованих матеріалів (фекалій, сечі).

Клітинна стінка бактерій – структура бактерій і грибів, що знаходиться над цитоплазматичною мембраною.

Коагулаза бактерій – плазмокоагулаза. Група бактеріальних протеїназ, які призводять до згортання плазми крові. Належить до ферментів патогенності.

Коки – збірна назва еубактерій, які мають правильну або неправильну

сферичну форму.

Колі індекс – кількість бактерій групи кишкової палички в 1 л води, 1 кг харчового продукту або 1 г ґрунту. Визначають методом мембранних фільтрів. Використовують як показник фекального забруднення води, харчових продуктів, ґрунту.

Колі-титр – найменший об'єм води в мілілітрах або речовини з великою густиною в грамах, у яких виявляють одну кишкову паличку. Визначають методом мембранних фільтрів або методом бродіння.

Колонії – видимі неозброєним оком скупчення бактеріальних клітин на поверхні або в товщі щільного поживного середовища. Як правило, колонії є наслідком розвитку однієї бактерії, тому їх склад однорідний.

Коменсалізм – форма міжвидових відношень симбіозу, за якої одна популяція (організм) існує за рахунок іншої, не завдаючи їй ніякої шкоди. Густина першої популяції при співіснуванні підвищується, а другої не змінюється.

Кров'яний агар – спеціальне бактеріологічне середовище, яке використовують для виділення бактерій і встановлення їх гемолітичної активності.

КТО, колонієтвірна одиниця – показник, що свідчить про число бактерій в 1 мл досліджуваного матеріалу, які утворюють колонії на поживному середовищі.

Культура бактеріальна – сукупність бактеріальних індивідумів одного виду чи варіанту (чиста) або різних видів (змішана), що перебуває в фазі росту або спокою в певному об'ємі щільного, напіврідкого або рідкого поживного середовища.

Культуральні властивості бактерій – поживні потреби, умови і характер росту бактерій на бактеріологічних середовищах.

Lactobacillaceae, молочно-кислі бактерії – родина паличкоподібних аспорогенних нерухливих грампозитивних факультативно-анаеробних бактерій. Мають форму прямих або зігнутих паличок, кокобацил, розташовуються поодинокі або ланцюжками.

L-Форми бактерій – адаптивні або інволюційні форми бактерій, які повністю або частково втратили здатність до синтезу компонентів клітинної оболонки, особливо пептидоглікану, але які зберегли, на відміну від протопластів та сферопластів, здатність до тривалого виживання як в організмі, так і на поживних середовищах.

Лакмусове молоко – бактеріологічне середовище для вивчення біохімічної активності бактерій. Середовище набуває червоного кольору в процесі утворення кислоти з лактози або синього кольору під час виділення аміаку внаслідок гідролізу казеїну.

Левіна середовище – лактозо-еозинметиленовий агар. Диференційно-елективне середовище для виділення ентеробактерій.

Люголя розчин – 5%-ний розчин йоду у 10%-ному розчині йодиду калію. У мікробіології застосовується для фарбування за методом Грама.

Mycobacterium – рід бактерій родини *Mycobacteriaceae*, збудники

туберкульозу та прокази.

Mycoplasma – рід дрібних аспорогенних, які не мають ригідної клітинної оболонки, грамнегативних аеробних або анаеробних організмів порядку *Mycoplasmatales*.

Мазок – мікроскопічний препарат, який виготовляють із тканин чи бактеріального росту на твердих поживних середовищах. Мазок висушують на повітрі, фіксують різними фіксаторами, забарвлюють та мікроскопують.

Мезосоми – мембранні структури прокаріотів, які виконують функцію генерації енергії, аналоги мітохондрій еукаріотів, які беруть участь у каріокінезі бактерій.

Мезофільні мікроорганізми – група мікроорганізмів, оптимальна температура росту яких дорівнює температурі тіла теплокровних тварин (35–38°C).

Метиленова синька – темно-синя основна фарба з групи фенотіазину. Добре розчиняється в гарячій воді й гарячому спирті. Застосовується для вітального фарбування мікробів, фіксованих бактеріальних препаратів та як антисептик.

Мікробіологія – комплекс біологічних наук, що вивчають морфологію, фізіологію, генетику та екологію мікроорганізмів. Залежно від об'єкту вивчення виділяють: бактеріологію, вірусологію, мікологію, протозоологію та альгологію; залежно від поставленої мети: загальну, медичну, санітарну, ветеринарну, промислову, сільськогосподарську, морську, космічну.

Мікробне число – один з лабораторних санітарно-гігієнічних показників, які свідчать про загальну кількість мікроорганізмів в 1 мл води, 1 г твердого продукту чи ґрунту.

Мікромметр, мкм – одиниця виміру довжини, що дорівнює 10^{-6} м.

Мікроскопія – дослідження за живими та неживими об'єктами та їхніми структурними елементами за допомогою складного оптичного пристрою.

МПА – аббревіатура м'ясо-пептонного агару – основного твердого поживного середовища для вирощування хемоорганотрофних бактерій.

МПБ – аббревіатура м'ясо-пептонного бульйону – основного рідкого поживного середовища.

Нуклеоїд – ядерна субстанція прокаріотів, бактеріальний генофор.

О-антиген, антиген соматичний – ЛПС клітинної стінки грамнегативних бактерій, який сприяє швидкому синтезу антитіл у високому титрі, що використовується для діагностики ряду інфекційних захворювань.

Органойди – постійні структури бактеріальної клітини, які виконують спеціалізовані функції (нуклеоїд, цитоплазма, рибосоми, мезосоми, плазміді, ЦПМ, клітинна стінка, капсула, джгутики, фімбрії).

Пастерівська піпетка – неградуйована піпетка з тонкого легкоплавкого скла; використовується для перенесення і розкраплювання рідин, взяття матеріалу для дослідження. Перед використанням запаяний кінець стерильної піпетки відламують.

Патогенність – видова полідетермінантна ознака мікроорганізму, яка характеризує його потенційну здатність зумовлювати інфекційний процес.

Пептони – продукти неповного розщеплення білків. Випускаються у вигляді аморфного порошку, добре розчиняються у воді, не зсідуються під час нагрівання, широко використовуються як джерело азоту та вуглецю при виготовленні багатьох поживних середовищ.

Петля бактеріологічна – інструмент бактеріологічної лабораторії. Використовують для взяття матеріалу, перенесення, посіву, змішування, приготування мікропрепаратів.

Пілі, фімбрії, ворсинки – тонкі невеликі білкові трубчасті утворення, які вкривають поверхню клітини грамнегативних бактерій. За функціями розрізняють пілі статеві (секс-пілі), які забезпечують обмін генетичним матеріалом, та пілі загального типу, здатні до адгезії.

Плазмід – позахромосомні дрібні генетичні структури бактерій, які локалізовані в цитоплазмі. Вони є циклічно замкнутою молекулою ДНК, здатною до автономної від нуклеоїдного апарата реплікації та високої трансмісивності у процесі генетичного обміну. До плазмід належать фактор фертильності (F-фактор), фактор полірезистентності до хіміопрепаратів (R-), гемолітичний (Hly-), ентеротоксигенний (Ent-), коліциногенний (Col-) та інші фактори.

Плазмокоагулаза – група бактеріальних протеїназ, які призводять до зсідання цитратної плазми крові і належать до ферментів патогенності.

Поживні середовища бактеріологічні – рідкі, напіврідкі та тверді субстрати, які використовуються для вирощування мікроорганізмів у лабораторних та виробничих умовах, накопичення мікробної біомаси та продуктів біосинтезу.

Посіви бактеріологічні – нанесення (внесення) петлею, піпеткою чи іншим інструментом посівного матеріалу на поживне середовище з метою виділення чистої культури мікробів, її накопичення, зберігання, встановлення властивостей.

Прокаріоти – одне з двох надцарств органічного світу. Прокаріоти – доядерні організми, які, на відміну від еукаріотів, не мають типово оформленого ядра і ядерної мембрани. Генетичний матеріал типу нуклеоїда (генофора) складається з подвійної замкнутої макромолекули ДНК, зв'язаної з білком; хромосома одна, непарна (гаплоїдний набір генів). Внутрішня порожнина прокаріотів обмежена ЦПМ. Царство прокаріотів поділяється на два типи (розділи): фотобактерії з класами синьо-зелених водоростей, зелених та червоних фотобактерій та скотобактерій з класами бактерій, рикетсій і молікут.

Резистентність: 1) стан стійкості мікроорганізмів до пошкоджуючих факторів зовнішнього середовища різного походження: механічних, фізичних, хімічних. Резистентність до біологічних факторів називається несприйнятливістю (див. *несприйнятливість*); 2) рідше під резистентністю розуміють син. природний імунітет.

Рухливість мікробів – активне переміщення мікробної клітини в просторі, що є генетичною видовою ознакою і використовується з метою ідентифікації в умовах прямого спостереження під мікроскопом живої

культури в мікропрепаратах «роздавлена» та «висяча» краплі.

Salmonella – рід паличкоподібних рухливих аспорогенних грамнегативних гетеротрофних факультативно-анаеробних бактерій родини *Enterobacteriaceae*.

Staphylococcus – рід кулеподібних бактерій. У препаратах з чистих культур розміщуються у вигляді скупчень, що нагадують грона винограду. У мазках з патологічного матеріалу трапляються поодинокі або парні коки і короткі ланцюжки. Спор та капсул не утворюють, нерухливі, грампозитивні.

Streptococcus – рід кулястих або овальних аспорогенних грампозитивних хемоорганотрофних факультативно-анаеробних бактерій родини *Streptococcaceae*.

Сапрофіти – бактерії, гриби, найпростіші, які живляться органічними сполуками решток мертвих рослин і тварин або виділеннями живих. За типом живлення є гетеротрофами.

Селективні середовища – поживні середовища, які стимулюють ріст одних мікроорганізмів і пригнічують ріст інших.

Сепсис – тяжке генералізоване гостре або хронічне захворювання людини, збудник якого розмножується в кровоносній та лімфатичній системах.

Симбіоз – поширене в живій природі явище закономірного, не випадкового співжиття живих істот (симбіонтів), що належать до різних систематичних груп (таксонів). На відміну від вільних організмів симбіонти залежать не тільки від умов середовища в цілому, й перебувають у тривалому, найчастіше тісному контакті один з одним.

Спори бактерій – округлі або овальні утворення, що формуються всередині бактеріальної клітини, як правило, за несприятливих умов зовнішнього середовища і яким властивий стан спокою.

Стерилізація – це повне знищення мікробів та їхніх спор. Існують фізичні, хімічні та механічні методи стерилізації.

Тароцці середовище, Кітга–Тароцці середовище – рідке елективне середовище для анаеробів. До його складу входять: дрібно нарізана печінка, МПБ, глюкоза. Середовище зверху залите стерильною нейтральною олією.

Термостат (термостат) – апарат, що постійно підтримує задану температуру. В мікробіології використовують для культивування мікроорганізмів.

Тиндалізація – багатоетапна стерилізація матеріалів при температурі 56° – 58°C протягом 1 год 5–6 днів підряд. Застосовують для стерилізації речовин, які руйнуються при дії високої температури (сироватка крові, вітаміни тощо).

Тинкторіальні властивості – властивості бактерій, грибів та найпростіших, які характеризують їхню здатність вступати в реакцію з барвниками та забарвлюватися певним чином.

Умовно-патогенні мікроорганізми – велика група різнорідних за систематичним положенням мікроорганізмів, які вступають з організмом людини в одних випадках у відносини симбіозу як коменсали, мутуали, а в інших – у конкурентні відношення, які часто призводять до розвитку хвороби.

Патогенну дію на організм людини умовно-патогенні мікроорганізми спричиняють в умовах пасивного проникнення у внутрішнє середовище у великих кількостях та різкого зниження загального й місцевого імунітету людини, при порушенні цілісності покривів, бактерицидної активності секретів, зменшенні кількості мікробів-антагоністів тощо. Патогенний вплив на організм вони спричиняють за допомогою ендотоксину та ферментів патогенності.

Факультативний – термін, який указує на необов'язковість або альтернативність якого-небудь явища або властивості.

Ферменти мікроорганізмів – речовини, які визначають метаболізм клітини. Структура, властивості, синтез, функції та класифікація ферментів такі самі, як і в складніших організмів. середовища.

Фібрили – довгі молекули полімерів (кутину, флагеліну), з яких складається ряд органоїдів мікробної клітини: осьова нитка у спірохет, джгутики бактерій, капсули та пілі у бактерій тощо. Мають типову, видову та родову антигенну специфічність.

Фуксин – аніліновий барвник червоного кольору з групи розаніліну, поширений у мікробіології. Розрізняють фуксин основний та кислий. У бактеріології фуксин використовують для забарвлення бактерій та для додавання в поживні середовища.

Хемотрофи – група мікроорганізмів, які для біосинтезу використовують енергію, що міститься в хімічних речовинах. Виділяють дві групи хемотрофів: хемолітотрофи – автотрофи, які отримують енергію шляхом окислення відновлених неорганічних сполук; хемоорганотрофи – гетеротрофні організми, що отримують енергію з органічних сполук за допомогою аеробного або анаеробного окислення.

Хламідії – порядок дрібних нерухливих аспорогенних безкапсульних грамнегативних облігатно-внутрішньоклітинних паразитів ссавців і птахів класу рикетсій.

Чашки Петрі – скляні круглі дрібні ємності з плоским дном і кришкою, край якої заходить зовні на вертикальну стінку чашки і досягає дна.

Чиста культура – сукупність мікробів одного виду або варіанту, яка отримана з одного зразка матеріалу і міститься в певному об'ємі середовища.

Штам – нижча інфрапідвидова систематична категорія; чиста культура мікроорганізмів підвиду, варіанту, виділена з будь-якого середовища.