

УДК 637.5:574.2

ВПЛИВ ЕЛЕКТРОМАГНІТНОГО ПОЛЯ АНТРОПОГЕННОГО ПОХОДЖЕННЯ НА АДАПТИВНИЙ ПОЛІМОРФІЗМ МІКРОБАКТЕРІЙ

Власенко В.В., Власенко І.Г., Волянський А.Ю.
Винницький національний аграрний
університет

Дія електромагнітного випромінювання (неіонізуюча радіація) розглядається як один з глобальних екологічних факторів, який впливає на організм людини й тварин, проте залежність адаптивних та компенсаторних реакцій від умов неіонізуючого опромінення залишається недостатньо з'ясованою. Вивчення впливу радіації на розвиток мікобактерій туберкульозу представляє собою актуальну проблему, оскільки має значення для обґрунтування біобезпеки тваринницької харчової сировини, адже мікобактерії здатні тривалий строк зберігати вірулентність завдяки високому вмісту ліпоїдних речовин (36,6–38,9%) п'ятишаровій клітинній стінці та іншим мікроструктурам [1].

Оскільки електромагнітні хвилі поширюються по всій земній кулі, висловлюється думка, що людство в недалекому майбутньому здатне вступити в еру енергетичного забруднення довкілля, яке можна порівняти з хімічним забрудненням у наші дні [2].

У лабораторних умовах при опроміненні електромагнітними хвилями мікобактерії без пересівання на свіже середовище зберігали життєздатність від 2 до 10 років, тобто утворювались адаптивні форми, які на тваринницьких дворах зберігались трохи менше, а у висушених фекаліях мікобактерії туберкульозу виживали від 30 до 502 днів [3].

Під впливом солей радіоактивного кобальту, які додавали до живильних середовищ, одержано мутанти вірулентних штамів мікобактерій, які принципово відрізнялися від вихідних штамів. Одержані мутанти (адаптивні форми) викликали генералізований процес і загибель морських свинок через 3 тижні, тоді як тварини, заражені вихідними культурами, гинули через 8–14 тижнів [2].

Запропоновано метод "радіаційної стерилізації мікобактерій" у процесі промислового виготовлення туберкуліну виявився помилковим, так як після такої стерилізації збудник туберкульозу не росте на яєчних середовищах, але проростає на середовищах ВКГ, Влакон та інш. Недостатньо обґрунтовані докази дії радіації на бацилярні форми збудника туберкульозу [4,5]. Але українськими вченими доведена стадійність розвитку мікобактерій, які при несприятливих умовах здатні утворювати (адаптивні форми) артроспоролподібні утворення [6,7].

Таким чином, дія іонізуючої та неіонізуючої радіації недостатньо вивчена в харчовій сировині, що отримана від тварин при латентній формі туберкульозу. Виникає необхідність вивчення розвитку адаптивних форм збудника туберкульозу в організмі тварин, що знаходяться на територіях, забруднених неіонізуючою та іонізуючою радіацією. Це має важливе значення для біобезпеки отриманої харчової сировини.

Вивчення біології популяцій патогенних бактерій дозволило отримати ряд нових фактів, узагальнення яких призвело до обґрунтування можливостей виживання окремих адаптивних форм патогенних бактерій в зовнішньому середовищі, а відповідно і визнання резервної функції збудника інфекції. Мобільність біологічних властивостей популяції адаптивних форм, що проявляється на рівні окремих штамів з індивідуальним набором вірулентних та авірулентних ознак, виступає гарантом збереження виду в мінливих умовах організму хазяїна [8].

Трансформація збудників ряду інфекційних хвороб, яка відбувається сьогодні ускладнюється різноманітністю шляхів і способів їх передачі, тривалістю персистування в зараженому організмі, накопиченням адаптивних форм мікробів у зовнішньому середовищі [9].

Для вивчення впливу дії електромагнітних хвиль на розвиток мікробіоти ми в роботі використано авірулентний штам *M. bovis* (БЦЖ), *M. bovis*-8, *M. tuberculosis*. Накопичення бактеріальної маси проводили на живильних середовищах Левенштейна-Йенсена та Павловського. Для вивчення впливу електромагнітного поля антропогенного походження на розвиток мікробіоти (збудника туберкульозу) за умов *in vitro* змиви піддавали дії змінним магнітним полем. Для цього використовували апарат низькочастотної магнітотерапії портативний МАГ-30-4. Амплітудне значення магнітної індукції на робочі поверхні складало (30±9) мТл протягом 60 хв. Після опромінення змиву культур їх висівали на середовища Левенштейна - Єнсена та ВКГ згідно наказу МОЗ № 245. Контролем служили ті ж культури, які не опромінювались. При проведенні досліджень враховували методологічну особливість роботи з бактеріями, а саме: чутливість бактерій до опромінення традиційно визначається методом «макроколоній» (за здатністю опромінених клітин до «безмежного розмноження»). Клітинне розмноження, як відомо, складний процес, для здійснення якого необхідні як синтез основних макромолекул, так і нормальна функція регуляторних механізмів. Як відомо, не тільки мутаційне порушення синтезу нуклеїнових кислот та білку, а й функціонування життєво необхідних структур мікробної клітини, зокрема клітинних мембран та їх ліпідних компонентів, впливає на здатність мікобактерій до росту.

Результати досліджень опромінених і неопромінених культур авірулентних штамів *M. bovis* (БЦЖ) свідчать, що мікобактерії мають вигляд коротких овоїдних паличок (рис.1.).

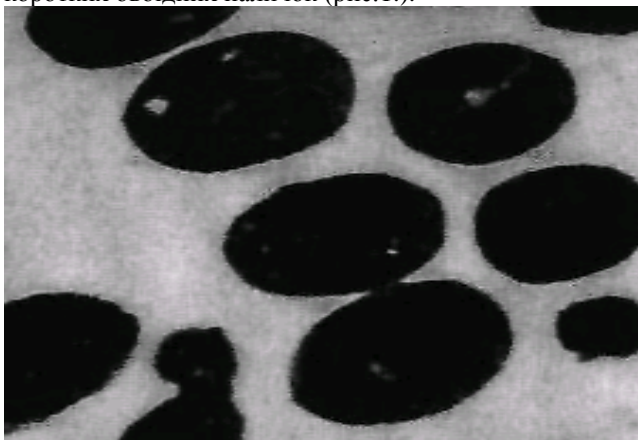


Рис.1. Мікобактерії мають вигляд коротких овоїдних паличок (x 35000)

Відзначається значний поліморфізм мікобактерій, що залежить від терміну вирощування та середовища культивування.

У цитоплазмі старих культур помітна зернистість - зерна Муха, більшість яких являють собою коковидні утворення розташовані, як правило, ближче до полюсів клітин у молодих і по всій довжині палички - в старих культурах (рис.2.). В препаратах з опромінених мікобактерій, мікроструктура мікробних клітин аналогічна контрольним (неопроміненим).

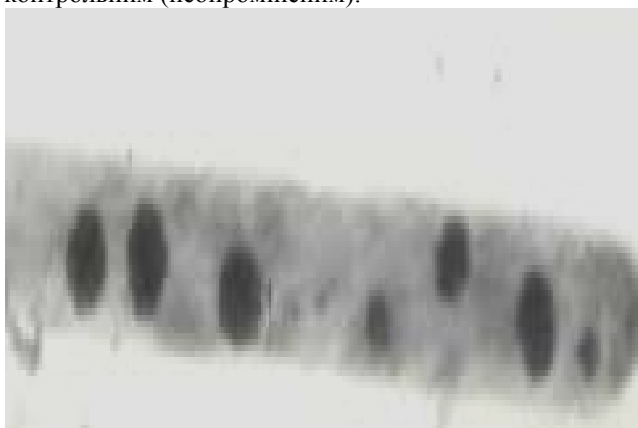


Рис. 2. В цитоплазмі старих культур коковидні утворення (зерна Муха x 50 000.)

В деяких овоїдних клітинах помітна бугриста нерівна поверхня мікробних клітин, міжклітинні ретикулярні тяжі. На коковидних мікробних клітинах в стадії репродукції можна бачити початок брунькування (рис.3.), що свідчить про тенденцію до інтенсивного розвитку та розмноження опромінених культур.

В препаратах з культур опромінених протягом 60 хв. звертає на себе увагу переважання подовжених паличководних форм. Структура клітинної стінки й цитоплазма мікробних клітин

лишаються типовими, але в деяких паличководних клітинах кокоподібні структури (зерна Муха) можуть утворювати три і більше перетинок (рис.4), що ділять зерна Муха на декілька частин (дроблення) (рис 4), а потім паличководна клітина звільняється від стінки-проходить лізис стінки мікобактерії (рис.5-7).

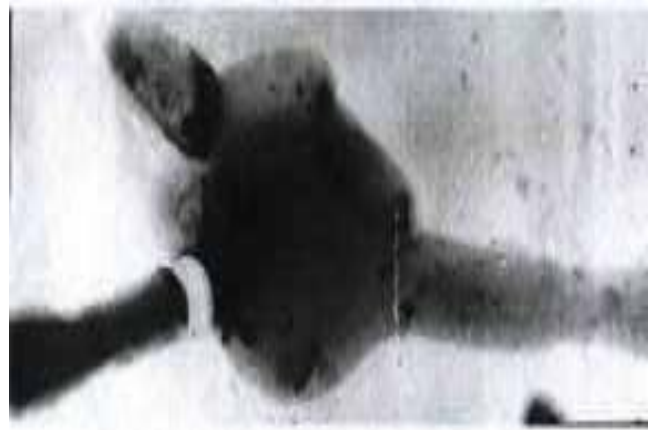


Рис.3.. Стадії брунькування *M. bovis* (x 65000).



Рис. 4. Утворення перетинок в зернах Муха мікобактерії. Роздроблені коковидні утворення (X.50000)



Рис. 5. Утворення в мікобактерії самостійних коковидних клітин зі зерен Муха (X.60000)



Рис.6. Загальний вид лізису стінок мікобактерії (X 35000)



Рис. 7. Звільнення новоутворених клітин зі зерен Муха (X 35000)

Можна думати, що в основі лізису оболонки мікобактерії лежить неіонізуюче радіаційне ураження, а саме утворення вільних радикалів H^+ та OH (переважно з води), які мають високу біологічну активність. Відомий цілий ряд мутагенних факторів неіонізуючої радіації, що впливають на ДНК, тобто утворення адаптивних форм мікобактерій. Місцем

синтезу білка та зосередженням спадкових ознак є ядерна субстанція мікобактерій (нуклеоїд), яка представлена поодинокими хромосомами, не ізольованою від цитоплазми мембраною. Місце реплікації ДНК завжди пов'язане з мембраною. Вплив радіації на ультраструктуру і функціональні особливості мікобактерій і відзначають в своїх працях ряд авторів[8,9].

Лізована клітинна стінка в подальшому служить матриксом, в якому "уламки" зерен Муха продовжують подальший розвиток за сприятливих умов (рис. 3.10).

Уламки, які утворились при дробленні зерен Муха і звільнилися від оболонки мікобактерій в подальшому в сприятливих умовах утворюють кокоподібні клітини (рис.9).

Слід зазначити, що в сприятливих умовах з кокоподібних клітин утворюється зерниста паличка, (рис.10) де коковидні утворення (зерна Муха) розташовані, як правило, ближче до полюсів клітин (рис.11).

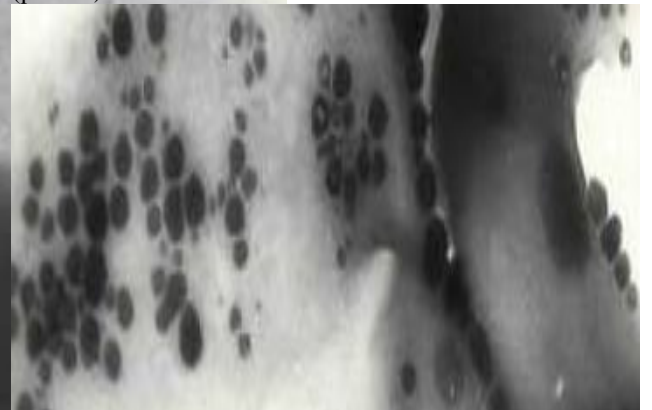


Рис.8. Дозрівання "уламків зерен Муха" в лізованій клітині - матрикс після лізису (x 35000)



Рис.9. Утворення овоїдних клітин з уламків зерен Муха (X 50000).



Рис. 10. Утворення зернистої палички з кокоподібної клітини (Зб. 100 тис.)



Рис. 11. Утворення палички Коха та зерен Муха (x45000)

Таким чином, результати досліджень показали, що мікроструктура мікобактерій туберкульозу після опромінення магнітною індукцією (30±9) мТл протягом 60 хв. не порушується, а репродуктивна активність зростає.

Для підтвердження нашої гіпотези, що неіонізуюча радіація підсилює репродуктивну активність мікобактерій туберкульозу, ми в подальшому використали різні середовища. В ході дослідження нами було зроблено змив культур тест-штамів *M. tuberculosis* H37RV, *M. bovis* 8, *M. bovis* BCG і проведено опромінення (магнітною індукцією) неіонізуючою радіацією (30±9) мТл протягом 60 хв. В якості контролю використовували неопромінені культури. Результати досліджень наведені в таблиці 1.

Таблиця 1. Результати досліджень впливу опромінення на ріст культур мікобактерій

Назва дослідного матеріалу	Кількість проб	Бактеріологічні дослідження росту не опромінених культур (контроль)				Бактеріологічні дослідження росту опромінених культур (дослід)			
		Середовище Левенштейна – Йенсена		Середовище «ВКГ»		Середовище Левенштейна – Йенсена		Середовище «ВКГ»	
		Факт	%	Факт	%	Факт	%	Факт	%
<i>M. tuberculosis</i> H37	5	5/25	100	5/5	100	5/15	100	5/2	100
<i>M. bovis</i> 8	10	10/35	100	10/5	100	10/21	100	10/4	100
<i>M. bovis</i> BCG	10	10/37	100	10/5	100	10/20	100	10/3	100

Примітка: чисельник - кількість проб з яких отриманий ріст; знаменник - на яку добу отриманий ріст

Як видно з результатів бактеріологічних досліджень (табл.1.), опромінені тест-культури значно швидше проявляли ріст (на 10-17 діб на середовищі Левенштейна-Йенсена) в порівнянні з контрольними. В препаратах з мікобактерій, опромінених стимулюючими дозами, виявлені розсипи коків, ди - і тетракоків, у великій кількості - палички різної величини із зернистістю, а також інші форми червоних кольорів. Мікроструктура мікробних клітин аналогічна контрольним (неопроміненим).

Після посіву досліджуваних проб на середовищі ВКГ через 2-4 доби з'являлися круглі до 4х з'їзду мікробіологів, епідеміологів, паразитологів України «ПРОБЛЕМИ ТА ЕВОЛЮЦІЯ ЕПІДЕМІЧНОГО ПРОЦЕСУ І ПАРАЗИТАРНИХ СИСТЕМ ПРОВІДНИХ ІНФЕКЦІЙ СУЧАСНОСТІ», 23-25 Листопада 2011 Р., М. ХАРКІВ

напівпрозорі дрібні колонії сіро-білих кольорів, іноді - з жовтуватим відтінком, що легко знімаються із середовища при приготуванні мазків. В процесі перегляду мазків, з отриманих колоній, що виростили на 2-4 добу виявлені поліморфні форми: дрібні коки палички різної величини, прямі й вигнуті, із зернистістю (при фарбуванні за Ціль – Нільсеном - від рожевого до червоно-фіолетових кольорів). При перегляді мазків культур, вирощених на середовищі ВКГ протягом 1,5 міс. і пофарбованих за Ціль - Нільсеном, виявлені розсипи коків, ди - і тетракоків, у

великій кількості - палички різної величини із зернистістю, а також інші форми червоних кольорів.

Висновки

1. Одержані морфологічні дані відповідають результатам культуральних досліджень, які свідчать про прискорення репродуктивної активності опоміненних культур мікобактерій електромагнітним полем, що можна розглядати як стимулюючий фактор росту збудника туберкульозу. 2. Результати досліджень показали, що мікроструктура мікобактерій туберкульозу після обробки неіонізуючим опроміненням не порушується, а репродуктивна активність зростає, що відповідає результатам культуральних досліджень.

Список літератури

1. Бибилова М. В. Особенности клеточной стенки возбудителя туберкулеза *Mycobacterium tuberculosis* / М. В. Бибилова, Н. А. Борисова, С. Н. Орехов // Антибиотики и химиотерапия. – 2006. – Т. 51, № 6. – С. 23-26.
2. Дегодюк Е.Г., Дегодюк С. Е. Еколого – техногенна безпека України / Е.Г. Дегодюк, С. Е. Дегодюк – К:ЕКМО, 2006.– 306 с.
3. Колычев Н. М. Выживаемость микобактерии в опилках при разных температурных режимах / Н. М. Колычев, Л. М. Каримова // Диагностика, патогенез и лечение инфекционных и инвазионных заболеваний с.-х. животных. – Омск, 1994.– С. 36-38.
4. Чернушенко К. Ф. Мікробіологічна діагностика туберкульозу в сучасних умовах / К. Ф. Чернушенко, М. Т. Клименко, О. А. Журило // Журнал практичного лікаря. – 2000. – №3. – С. 13-17.
5. Власенко В.В. Микробиология туберкулеза в фокусе проблем современности / Власенко В.В. – Винница: Гипанис, 1999.– С.25-48.
6. Власенко В. В. Современная микробиология туберкулёза. / Власенко В.В., Колос Ю. А., Големблиевский Б. С. – К. : Абрис, 1999. – 192 с.
7. Власенко В.В. Изучение термической устойчивости возбудителя туберкулеза в автоклавированных препаратах / В.В. Власенко, И.Г. Власенко, С.А. Колодий. // Научно-технический бюллетень. Х., 2006. – №94 – С. 71-76.
8. Литвин В. Ю. Факторы патогенности бактерий - функции в окружающей среде / В. Ю. Литвин, В. И. Пушкарева // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 1994. – № 1. – С. 83-87.
9. Власенко В.В. Мікробіологічна експрес-діагностика туберкульозу / Власенко В.В. Конопко І.Г. Василенко С. П. Вінниця: [б.в.], 2000. – С.41-45.
10. Кассич В.Ю. Ультраструктура и функциональные особенности облученных гамма-радиацией микобактерий / В.Ю. Кассич, В.П. Невзоров // Ветеринарна медицина: – Х., 2000.– 78 (I).– С. 132-140.
11. Овдиенко Н.П. Микробиология туберкулеза в условиях воздействия ионизирующей радиации / Н.П.

Овдиенко, В.Ю. Кассич // Ветеринария. – 2002. – №9. – С.11-14.

INFLUENCE OF ANTHROPOGENIC ELECTROMAGNETIC FIELDS ON THE ADAPTIVE MYCOBACTERIUM'S POLYMORPHISM

Vlasenko V.V., Vlasenko I.G., Volyanskiy A. Yu.

In this article the features of development of exciter of tuberculosis are lighted at the action of the electromagnetic field of antropogenic origin subject to the condition in vitro. It is shown that the microstructure of pathogenic of tuberculosis after treatment an ionizing and unionizing irradiation is not violated, and reproductive activity grows, that is confirmed the results of cultural researches and electronic and computer microscopy.

ВПЛИВ ЕЛЕКТРОМАГНІТНОГО ПОЛЯ АНТРОПОГЕННОГО ПОХОДЖЕННЯ НА АДАПТИВНИЙ ПОЛІМОРФІЗМ МІКОБАКТЕРІЙ

Власенко В.В., Власенко І.Г., Волянський А.Ю.

У дані статті висвітлюються особливості розвитку збудника туберкульозу при дії електромагнітного поля антропогенного походження за умов in vitro. Показано, що мікроструктура збудника туберкульозу після оброблення неіонізуючим опроміненням не порушується, а репродуктивна активність зростає, що підтверджується результатами культуральних досліджень і електронною та комп'ютерною мікроскопією.

Ключеві слова: електромагнітні поля, радіація, поживні середовища, культури збудника туберкульозу.

ВЛИЯНИЕ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ПОЛЯ АНТРОПОГЕННОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ НА АДАПТИВНЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ МИКОБАКТЕРИЙ

Власенко В.В., Власенко Н.Г., Волянский А.Ю.

В данные статьи освещают особенности развития возбудителя туберкулеза при действии электромагнитного поля антропогенного происхождения при условиях in vitro. Показано, что микроструктура возбудителя туберкулеза после обрабатывания неионизирующим облучением не нарушается, а репродуктивная активность растет, что подтверждается результатами культуральных исследований и электронной и компьютерной микроскопией.