УДК 619:616.99:637.1.05

ДОСЛІДЖЕННЯ ЕКОФУНЦІОНАЛЬНОЇ СТІЙКОСТІ МІКОБАКТЕРІЙ В КОНТЕКСТІ БІОБЕЗПЕКИ ПРОДУКТІВ ХАРЧУВАННЯ

Рецензент: д.-тор мед. наук, професор Палій Г.К.

І.Г. Власенко, В.В. Власенко, С.Д. Мельничук
Подільський науково - дослідний центр туберкульозу
О.П. Лисенко
Інститут експериментальної ветеринарії ім. С.Н. Вишелеського, НАН Бєларусі

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

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

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

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

У зв'язку з тим, що Україна увійшла в СОТ, великої гостроти набула проблема своєчасного виявлення збудника туберкульозу у продуктах харчування тваринного походження. Вона водночас віддзеркалює й основні проблеми, що суттєво впливають на захворюваність та смертність людей від туберкульозу. Окремі аспекти контролю якості продукції розглядались у багатьох працях вітчизняних та зарубіжних авторів [2-9].

Метою нашої роботи було дослідити екофункціональну стійкість

мікобактерій у контексті біобезпеки продуктів харчування при туберкулінодіагностиці корів.

Матеріали та методи досліджень. Досліди проводили у Іллінецькому науково-дослідному господарстві Вінницького державного аграрного університету, де Іллінецькою лабораторією державної ветеринарної медицини проведена планова туберкулінізація корів туберкуліном ППД Сумської біофабрики, серії 45.

Для дослідження відбирали молоко від 15 корів через 5 діб після туберкулінодіагностики за загальноприйнятою методикою (із використанням молочного катетера в стерильний посуд) та молоко того стада – 15 голів, яким туберкулінодіагностику не проводили. Після цього молоко піддавали пастеризації - нагрівання до 63-65 °С протягом 30 хв. У подальшому для виявлення фільтруючих форм (артроспор) збудника туберкульозу використовували молоко, яке пропускали через бактеріальний фільтр Millpore з діаметром 0,22 мікрона.

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

Результати досліджень. Посів фільтрату молока після туберкулінодіагностики на поживне середовище Влакон показав (табл. 1), що через 2 -3 доби виявився ріст колоній всіх проб.

1. Результати бактеріологічного дослідження з виявлення мікобактерій у фільтраті молока

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

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

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

Після 24 годин інкубації туберкуліну в стимуляторі росту виявлена трансформація шароподібних структур - біполярні палички (рис. 1, 2). Контрольні дослідження туберкуліну ППД для ссавців також проводили комісійно ученими

Бєларусі (О.П. Лисенко та ін.). Результати цих досліджень підтверджують наявність у туберкуліні живого збудника туберкульозу (акт досліджень додається).

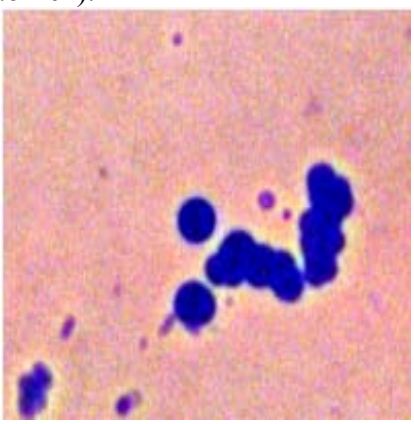

Рис.1. Мазок із осаду (PPD) *Mycobacterium bovis*, фарбування по Ціль-Нільсену (х1000).

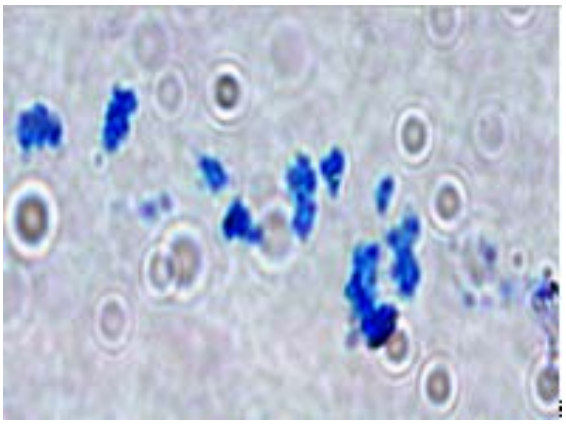

Рис.2. ППД туберкулін у стимуляторі росту, фарбування по Ціль-Нільсену (х1000).

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

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

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

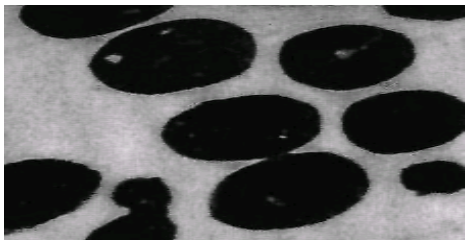

Рис. 3. Мікобактерії мають вигляд коротких овоїдних паличок (комп'ютерна мікроскопія).

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

Рис. 5. Утворення паличкоподібної клітини та зерен Муха (комп'ютерна мікроскопія).

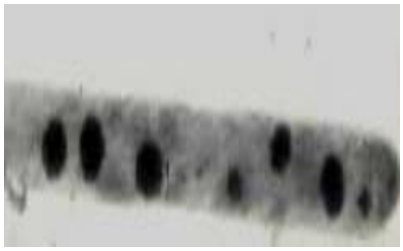

Рис. 6. У цитоплазмі палички (зерна Муха) кокоподібні утворен-ня(комп'ютерна мікроскопія).

Висновки:

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

2. Встановлено, що при стерилізації туберкуліну ППД для ссавців та пастеризації молока гинуть вегетативні форми патогенних мікобактерій і з'являються біологічні структури збудника туберкульозу (артроспори), які мають екофункціональну стійкість у довкіллі. Попадаючи в організм людини чи тварини, артроспори патогенних мікобактерії розпочинають свій біологічний цикл розвитку, при цьому може розвиватись латентний перебіг захворювання. Ось чому виникає необхідність контролю біобезпеки пастеризованого молока.

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

Бібліографічний список

1. До питання діагностики туберкульозу в тварин /Колос Ю., Стець В., Титаренко В. [та ін.]// Ветеринарна медицина України - 2006- №11-С. 10-12.

2. Якобз Б. Безопасность продуктов питания в ЕС /Барбара Якобз // Продукты и ингредиенты .-Київ. - 2005. -№7(16).- С.64-66.

3. Мельничук С.Д. Якість і безпека продукції тваринництва: сучасний стан і перспективи /Мельничук С.Д., Хмельницький Г.О., Якубчак О.М. // Сучасна ветеринарна медицина. - Київ. - 2005. - №4.-С. 6-7.

4. Матеріали міжнародного інституту природничих наук (ILSI). Оценка безопасного для здоровья содержания химических соединений в продуктах питания // Пищевые ингредиенты сырье и добавки. - 2005. Москва. -№1.-С.68-69.

5.Гойчук О.І. Продовольча безпека та її забезпечення в Україні /Гойчук О.І. //Вісник аграрної науки Причорномор'я. -Вип.,4.- Миколаїв, 2001.- С. 205-211.

6.Пароля О.Б. Качество пищевой продукции как элемент государственной политики в сфере повышения уровня здоровья нации. Международный научно-теоретический журнал /Пароля О.Б. //Эпизоотология, иммунобиология, фармакология, санитария .-№ 3.- 2004. - С.68-70.

7.Власенко В.В. Туберкулез в фокусе проблем современности /Власенко В.В.- Винница: Наука, 1998. -35 с.

8. Патент Украины № 43467. Стимулятор роста возбудителя туберкулеза «Ридын», питательная среда для выделения возбудителя туберкулеза, способ получения питательной среды, способ выделения возбудителя туберкулеза на питательной бреде /Власенко В.В., Багрий П.И.; Бюллетень № 11;17.12.2001.

9. Экологический мониторинг при туберкулинодиагностике крупного рогатого скота /Власенко В.В., Лысенко А.П., Дзюмак М.А. [и др.] //Агроекологічний журнал. -2003. -№ 1. -С. 76-79.

ИССЛЕДОВАНИЕ ЭКОФУНЦИОНАЛЬНОЙ СТОЙКОСТИ МИКОБАКТЕРИЙ В КОНТЕКСТЕ БИОБЕЗОПАСНОСТИ ПРОДУКТОВ ПИТАНИЯ

Власенко И.Г., Власенко В.В., Мельничук С.Д., Подольский НОЦ туберкулеза

Лысенко О.П., Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелеского, НАН Беларуси

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

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

FUNCTIONAL MICRO-BACTERIA STABILITY INVESTIGATION FOR FOODSTUFF SAFETY

Vlasenko I., Vlasenko V., Podilya scientific-research center of tuberculosis, Ukraine; Melnychuk S., Lysenko O., Institute of experimental veterinary affiliated to Byelorussia national academy of sciences

This article highlights the experimental research results on modern state and quality improvement prospects for foodstuffs safety in Ukraine. The new methods were elaborated for tuberculosis pathogen detection in foodstuff of animal origin. The new technique procures tuberculosis pathogen identification at any developmental stage in animal organism during 2-3 days. 30-90 detection days are needed by conventional technique use. Vegetative forms of pathogenic micro-bacteria proved to be liquidated by PPD tuberculin sterilization and milk pasteurization for the mammals. Biological structures of tuberculosis pathogen appear to possess functional stability in environment.

Key words: foodstuff quality, safety, tuberculosis pathogen, milk, tuberculin diagnostics.