

ника / Березинский заповедник. - Минск: Изд-во Уражай. -1970. - Вып. 1. С. 155-179. 6. Карасев Н.Ф. Экологический анализ гельминтофауны млекопитающих / Березинский заповедник. - Минск: Изд-во Уражай. - 1972. - Вып. 2. - С. 181-185. 7. Карасев Н.Ф. Цестоды хищных Березинского биосферного заповедника. - Минск: Изд-во Уражай. - 1975. - Вып. 4. - С. 221-223. 8. Кеннеди К.Р. Экологическая паразитология. - М. -1978. 9. Кичоть В.И. Альвеококкоз диких млекопитающих на юге Дальнего Востока / Гельминтозы Дальнего Востока. - 1976. - Ч. 3. - С.38-41. 10. Козло П. Г., Банад Э. Б. Волк. Происхождение. Систематика. Экология. Морфология. - М. -1985. - 483 с. 11. Морозов Ф.Н. Гельминты волков Мордовского государственного заповедника / Труды ГЕЛАН. - 1951. - Т. 5. - С. 146 -149. 12. Шахматова В.И. Гельминты плотоядных Таймыра / Экология гельминтов позвоночных Сибири. 1989. - Новосибирск. - С. 179-189. 13. Шималов В. Т., Шималов В. В. К изучению эпизоотии диких псовых в Белоруссии: Биологические основы борьбы с гельминтами животных и растений / Тезисы конф. ВОГ. - М. - 1983. - С. 100 -101. 14. Шималов В. Т., Шималов В. В., Савицкий Б.П. Гельминтоценозы псовых в Белоруссии / Тез. Докл. 6 зоолог. конф. - Минск. -1989. - С. 189-190. 15. Шималов В.В., Шималов В.Т. Дикие псовые Белорусского Полесья - источники распространения, гельминтов, паразитирующих у человека/ Современная паразитология: проблемы и перспективы. Витебск. - 1999. - С. 15 - 19. 16. Шималов В.Т., Шималов В.В., Савицкий Б.П. Гельминтоценозы псовых в Белоруссии // Динамика зооценозов, проблемы охраны и рационального использования животного мира Беларуси: Тезисы докладов 6 зоологической конференции. - Минск: «Наука и техника», 1989. - С.189-190. 17. Шималов В.Т. Значение диких млекопитающих Белоруссии в распространении некоторых гельминтозов у человека и домашних животных // Весці Акадэміі Навук Беларускай ССР. - 1965. - №1. - С.120-123. 18. Casarosa U. Le radiazioni ionizzanti applicate in helminthologia / 1964. -P. 137-139. 19. Shimalov V.V., Shimalov T.V. Helminth fauna of the wolf (*Canis lupus L.*, 1758) in Belorussian Polesie // *Parasitol. Res.* -2000. -No 86. - P. 163-164.

### ИЗУЧЕНИЕ ИЗМЕНЧИВОСТИ МИКОБАКТЕРИЙ ТУБЕРКУЛЕЗА В ОЧАГАХ НА МЕСТЕ ИХ ПЕРВИЧНОЙ ЛОКАЛИЗАЦИИ

Субботина С.Г., Жмуров Н.Г., Сапожкова О.А., Жмуров Н.Н., Куликов К.В., ВГАУ, г. Воронеж

Современная лабораторная диагностика туберкулеза не должна основываться лишь на выявлении классических возбудителей: она должна предусматривать индикацию различных морфологически измененных вариантов микобактерий, что особенно важно при изучении нативного биоматериала.

В наших исследованиях основной задачей являлось выяснение возможности и частоты индикации возбудителя туберкулеза в очагах на месте их первичной локализации, зависимость его обнаружения от метода исследования, структуры очага, а также изучение некоторых форм его изменчивости со стороны морфологии, тинкториальных и культуральных свойств.

Существующие в настоящее время методы бактериологической диагностики туберкулеза не лишены недостатков, значительно снижающих их надежность, отличаются продолжительностью выполнения (3-6 мес.) и относительно низкой эффективностью, особенно при исследовании биоматериалов с низкой степенью их контаминирования, а также в случае ослабленной жизнеспособности микобактерий.

Разрабатываемый нами метод микрокультур микобактерий на твердом парафиновом носителе в жидкой питательной среде позволяет до известной степени избежать вышеуказанные недостатки, так как с помощью этого метода можно в весьма ранние сроки, обнаружить самый начальный рост микобактерий туберкулеза, выявить наличие возбудителя в туберкулезных очагах, с различной их морфологической структурой даже в тех случаях, когда он может находиться в атипичной форме и обладает минимальной жизнеспособностью.

В своих исследованиях мы применили комплексный метод исследования изучаемого материала включающий бактериоскопию, посев на оптимальные плотные питательные среды и метод микрокультур на твердом парафиновом носителе в жидкой питательной среде, с тем чтобы выявить основные признаки туберкулезных микобактерий – морфологические свойства, тинкториальные кислотоустойчивость и культуральные особенности.

Выполнение микробиологических исследований являлось основной нашей задачей, однако, кроме этих исследований, необходимо было ориентироваться и в самой структуре очагов, являющихся средой обитания микобактерий туберкулеза, для чего нами были проведены элементарные патологоанатомические и гистологические исследования очагов широко используемыми методами.

Материалом для наших исследований послужили 120 проб биоматериала (лимфоузлы) от 120-ти голов, реагировавшего на туберкулин крупного рогатого скота, из 5-ти неблагополучных по туберкулезу животноводческих хозяйств Воронежской и Липецкой области и убитого в условиях мясокомбинатов, находящихся на территориях этих областей.

При послеубойном осмотре туш 120 животных у 18-ти (15%) из них, были обнаружены специфические туберкулезные изменения возникшие в связи с развитием неполного первичного комплекса с характерным поражением только лимфатических узлов, при отсутствии изменений в органах.

В нашем случае местами локализации туберкулезных изменений являлись лимфатические узлы: средостенные (66,7%), бронхиальные (16,6%), заглочные (5,6%) и мезентериальные (11,1%)

У остальных 102-х животных результаты патологоанатомических изменений во всех случаях были отрицательны, поэтому от этих животных для бактериологического исследования были отобраны только лимфоузлы: заглоточные, подчелюстные, бронхиальные, средостенные и брызжечные.

Макроскопическое исследование показало, что все исследуемые 18 очагов туберкулеза относятся к категории железистых компонентов первичного комплекса.

В отношении морфологии исследовавшиеся очаги находились в следующих соотношениях: обызвествленные (бугорковая форма) – 14 очагов (77,8); казеозные (лучистый казеоз, диффузная форма) – 2 очага (11,1%); казеозно-обызвествленная (смешанная форма) – 2 очага (11,1%).

К проявлениям неспецифического характера мы относили отек и гиперемии окружающей ткани, лимфоидные инфильтраты и др. Проводимая во всех случаях окраска на туберкулезные бактерии позволила их обнаружить в очагах, казеоза, клетках гранулем, в ретикулярных клетках, расположенных вдалеке от специфических изменений. В то время как их не удалось обнаружить в лимфоузлах, не имеющих специфических изменений.

Для проведения бактериологического исследования использовали метод микрокультур на парафиновом носителе в жидких питательных средах.

Для микроскопии из каждого лимфоузла готовили по 2 мазка путем тщательного растирания материала между двумя предметными стеклами. Мазки высушивали на воздухе, фиксировали над пламенем, окрашивали по Циль-Нильсену.

Для посева на плотную стандартную яичную среду Левенштейна-Иенсена исследуемые материалы обрабатывали по методу А.П. Аликаевой.

Применение в комплексе указанных методов исследования для индикации микобактерий в очагах на месте их первичной локализации имело следующие преимущества: во-первых, одновременное применение трех методов (бактериоскопия, микрокультивирование и посев на плотные питательные среды) способствовало получению более достоверных результатов исследования. В то время как использование только одного метода не всегда обеспечивало возможность обнаружения микобактерий туберкулеза; во-вторых, при этом возможно максимальное использование всего исследуемого материала, что позволяет обнаружить микобактерии даже при незначительном их количестве в ткани очага. Кроме того, одновременное применение нескольких методов исследования позволяет сравнить эффективность каждого из них.

Применив комплексный метод микробиологического исследования очагов различной морфологической структуры (обызвествленные, казеозно-обызвествленные и казеозные), туберкулезные микобактерии нами были обнаружены в 100% случаев, а исследования этих очагов каждым методом в отдельности подтвердило преимущество комплексного метода и метода микрокультур перед другими использованными нами методами.

Сравнивая результаты изучения очагов первичного комплекса с различной морфологической структурой мы убедились, что в каждом из них существуют жизнеспособные микобактерии туберкулеза, что говорит об их биологической активности. Наиболее высокая степень контаминирования микобактериями наблюдалась в казеозных очагах, затем в казеозно-обызвествленных и самая низкая – в обызвествленных.

В наших исследованиях мы в подавляющем большинстве случаев наблюдали различные морфологические изменения микобактерий, выделенные из различных типов очагов. Это в свою очередь полностью оправдало применение нами комплекса методов исследования, позволившего выявить ряд интересных особенностей в свойствах микобактерий.

Применяя метод микрокультур мы обнаружили, что микобактерии туберкулеза располагались отдельными клетками или небольшими кучками, и развитие их выражалось лишь в количественном увеличении особей по мере удлинения срока роста (чаще после 6-7 суток выращивания). Иногда при просмотре мазка микобактерии обнаруживали в 5-10 полях зрения. Кроме того, все обнаруженные бактерии не были по морфологическим признакам типичными микобактериями туберкулеза. Как правило, у них отмечалась зернистость, неравномерная окраска. Иногда имели место кокковидные кислотоустойчивые образования и кислотоустойчивые зерна (темноокрашенные и красные). Следует также отметить, что микобактерии туберкулеза, выделенные из казеозно-обызвествленных и обызвествленных очагов, несколько отличались друг от друга. Это отличие заключалось в том, что в первом случае наблюдались как гомогенно окрашенные, так и зернистые формы бактерий, а во втором – преобладали зернистые палочки. Такие же измененные формы микобактерий были обнаружены в мазках приготовленных из материалов лимфоузлов, в которых не установлены типичные туберкулезные изменения.

Параллельное изучение исследуемых очагов простым бактериоскопическим методом во всех случаях дало отрицательный результат, т.к. мы сочли возможным не учитывать в мазках полиморфные единичные микобактерии в форме зерен (1-5 зерен темно-красного цвета).

При посевах на плотную среду Левенштейна-Иенсена типичный рост микобактерий туберкулеза в виде шероховатой, морщинистой колонии желтоватого цвета наблюдали лишь в 12 случаях из 27. В остальных случаях микобактерии не были обнаружены даже в мазках из соскобов с поверхности питательной среды.

Известно, что вегетативные формы микобактерий туберкулеза возникают не только в результате их деления, но и путем развития из зерен. Поэтому, увеличение количества микобактерий туберкулеза в сроки микрокультивирования, свидетельствует об их усиленном размножении на поверхностях парафиновых дисков. Исследование развития различных форм микобактерий туберкулеза помогает изучению условий, от которых зависит количественные и качественные изменения этих форм. Учитывая количественные и качественные соотношения различных форм микобактерий туберкулеза в патологических материалах от животных, можно судить об иммунном состоянии организма.

Из применявшихся трех методов микробиологического исследования наиболее эффективным методом микробиологического исследования всех морфологических форм туберкулезных очагов является метод микрокультур, позволяющий: 1) в большом проценте случаев обнаружить микобактерии туберкулеза; 2) определить степень контаминирования ими исследуемых биоматериалов; 3) изучить морфологические, тинкториальные свойства микобактерий туберкулеза в различные сроки культивирования.

В то же время четко выраженной зависимости явлений их изменчивости от морфологии очагов (обызвествленные, казеозно-обызвествленные и казеозные) нами не установлено.

Литература: 1. Модель Л.М. Биология и биохимия микобактерий, М., 1952. 2. Хайкин Б.Я. Лабораторная диагностика туберкулеза / Б.Я. Хайкин, Н.М. Колычев, Н.С. Боганец // Рекомендации. – Омск, 1988. – 65 с

### ВЛИЯНИЕ ЛЕЙКОВОРИНА НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ИНТОКСИКАЦИИ $CCl_4$

Сутько И.П., Мельниченко Н.Г., Зверинский И.В., Институт биохимии НАН Беларуси, Гродно

Печень вовлечена во многие патологические процессы, и ее повреждения вызывают серьезные нарушения метаболизма, иммунного ответа и детоксикации. Печень относится к органам, способным к регенерации после повреждений, благодаря клеточной кооперации, наличию молекулярных механизмов реакции острой фазы и синтезу ряда веществ протекторной природы. Наиболее часто повреждения печени реализуются через химические и иммунологические механизмы [16].

Исследования репаративной способности печени после введения  $CCl_4$  с различными сроками введения показали, что при разных вариантах схемы эксперимента резкий подъем числа гепатоцитов, интенсивно синтезирующих ДНК, происходит всегда на 2-е сутки после очередной инъекции  $CCl_4$ , а точнее через 24-36 часов после введения [10, 11]. Подъем интенсивности синтеза ДНК происходит в сохранившихся печеночных клетках и представляет собой их компенсаторную реакцию в ответ на дистрофические и некротические изменения печеночной ткани, возникающие под влиянием  $CCl_4$  [8]. Ранее этого начинает компенсаторно усиливаться синтез РНК. Интенсивный синтез ДНК и РНК обеспечивает в этих условиях деление гепатоцитов, т.е. клеточную (тканевую) регенерацию [10, 11]. Такие процессы ведут к повышенной утилизации коферментных форм фолиевой кислоты, участвующей в синтезе ДНК и РНК [19].

К ранним нарушениям при тетрахлорметановом поражении печени относится ингибирование ферментных систем, структурно и функционально связанных с мембранами эндоплазматического ретикулума, в частности - ингибирование цитохром Р450 - содержащих монооксигеназ [3]. Эти нарушения связывают, как с липидной дезорганизацией мембран эндоплазматического ретикулума, нарушением молекулярной организации систем в них, так и с инаktivацией самого цитохрома Р450 [21]. Учитывая важную роль фолиевой кислоты в реакциях синтеза предшественников нуклеиновых кислот, белка и в обмене фосфолипидов [1, 12, 13], способность витамина ускорять процессы регенерации, а также повышать каталитическую активность микросомальных монооксигеназ [4, 18], представлялось целесообразным изучить влияние коферментной формы фолиевой кислоты - 5-формилтетрагидрофолата (лейковорина) на функциональное состояние печени крыс при интоксикации  $CCl_4$ .

Целью эксперимента было исследовать функциональное состояние печени крыс после 2-х месячного введения тетрахлорметана, а также способность лейковорина "защищать" печень от токсического действия  $CCl_4$ .

Материалы и методы исследований. Исследования проведены на 34 крысах-самцах породы Wistar начальной массой 145-165 гр. Животные были разбиты на две опытные группы. Животным из первой группы вводили тетрахлорметан 2 раза в неделю с интервалом 48 часов, в виде 30% раствора на оливковом масле, внутривнутрибрюшинно, в дозе 1 мг/кг (n=12). Второй группе также вводили тетрахлорметан по той же схеме, как и первой группе, а через 6 и 24 часов после  $CCl_4$  вводили лейковорин в дозе 17.5 мг/кг, внутривнутрибрюшинно (n=10). Контрольной группе назначали оливковое масло и физиологический раствор в объемах эквивалентных при введении тетрахлорметана и лейковорина (n=12). Через 8 недель после начала эксперимента животных декапитировали. Производили забор крови. Вскрывали брюшную полость, печень промывали 1.15% раствором KCl. Методом дифференциального центрифугирования, выделяли мик-