

М.В. Шевців

к. вет. н.

О.Г. Рудь

к. вет. н.

Рівненський державний гуманітарний університет

**ПЕРЕБІГ ПАТОМОРФОЛОГІЧНИХ ЗМІН ПРИ ЗАРАЖЕННІ РІЗНИМИ
ВИДАМИ МІКОБАКТЕРІЙ ТУБЕРКУЛЬОЗУ**

*У проведених дослідженнях на великій рогатій худобі, зараженій перорально мікобактеріями туберкульозу бичачого виду та атиповими мікобактеріями виду *M. intracellularea*, вивчено перебіг імунологічних та патоморфологічних змін. Установлено пряму залежність імунологічних та патоморфологічних реакцій макроорганізму щодо ступеня патогенності кислотостійких мікобактерій.*

© М.В. Шевців, О.Г. Рудь

Постановка проблеми

Проблема туберкульозу постійно знаходиться у полі зору учених та практиків. Особливе значення надається вивченню динаміки перебігу клітинних реакцій на той чи інший вид кислотостійких мікобактерій [1, 3, 4, 5, 6, 9]. Існують певні утруднення щодо біологічної специфіки впливу різних видів мікобактерій на організм, в першу чергу на правильну діагностику і на заходи боротьби з цим захворюванням. На сьогодні є ряд методів діагностики туберкульозу, які в комплексі дають змогу правильно встановити причину хвороби та її перебіг. Головним з ряду методів є патоморфологічний [2, 7].

Для туберкульозного запалення характерним є наявність специфічної гранульоми. На основі морфологічної картини таких гранулом у більшості випадків можна стверджувати про етіологію захворювання на туберкульоз без виявлення збудника.

Мета наших досліджень – вивчити перебіг імунологічних та морфологічних змін при патологічних станах та їх ступінь вираження залежно від патогенності різних видів кислотостійких мікобактерій і обґрунтувати можливість використання імунологічних та морфологічних показників для диференціації туберкульозних і нетуберкульозних патологічних змін в органах ВРХ.

Об'єкти та методика дослідження

Патоморфологічному дослідженню було піддано матеріал (легені, печінка, лімфатичні вузли) від 10 бичків чорно-рябої породи масою 100 кг, які були розподілені на 3 групи, з яких 2 групи – експериментальні (по 4 тварини у кожній) та 2 тварини – контрольна група. Першу експериментальну групу тварин заразили перорально мікобактеріями туберкульозу бичачого виду (епізootичний штаб) у дозі 1 мг/кг живої маси тіла, а другу – атипovими мікобактеріями виду *M. intracellularea* в дозі 2 мг/кг живої маси тіла. Тривалість дослідження – 100 днів.

Для прижиттєвого контролю за перебігом туберкульозного процесу використали імунологічні реакції пошкодження нейтрофілів [8] та агрегацію лейкоцитів до туберкулінації та після неї на 72 години через 30, 60 і 90 днів.

Після завершення експерименту було проведено забій тварин та відбір матеріалу з органів та лімфатичних вузлів з подальшими патологоанатомічним та гістологічним дослідженнями.

Результати досліджень

Дані дослідження свідчать про закономірність підвищення показника пошкодження нейтрофілів залежно від виду мікобактерій туберкульозу протягом усього дослідження (табл. 1). При цьому спостерігається деяка відмінність у показниках до і після туберкулінації. Ця відмінність особливо показова у перший місяць після зараження у групі тварин, які заражені мікобактеріями туберкульозу бичачого виду, де показник пошкодження нейтрофілів з ППД-туберкуліном для ссавців після туберкулінації

збільшується в 5 разів (різниця співставлення показників достовірна – $P < 0,01$), а з алергеном КАМ – у 3 рази (різниця співставлення показників недостовірна – $P > 0,05$).

У подальшому ця різниця дещо скорочується і на кінець досліджу складас: з туберкуліном – вища у 1,5 раза, а з КАМ – у 2 рази. Проте домінуюча закономірність полягає у тому, що протягом досліджу показник пошкодження нейтрофілів після туберкулізації при дії на сенсibiliзовані лейкоцити туберкуліном у 2 рази вищий, ніж з КАМ, і відповідно складає $0,44 \pm 0,10$ проти $0,20 \pm 0,10$ (різниця співставлення показників достовірна – $P < 0,05$).

У групі тварин, яким вводили *M. intracellularae*, цієї закономірності не спостерігалось. У цих тварин показник пошкодження нейтрофілів при дії *in vitro* на сенсibiliзовані лейкоцити обома алергенами приблизно однаковий і складає відповідно не вище $0,08 \pm 0,02$ з туберкуліном, проти $0,11 \pm 0,03$ з КАМ (різниця співставлення показників недостовірна – $P > 0,05$).

Таблиця 1. Результати дослідження пошкодження нейтрофілів

Групи тварин	Показник пошкодження нейтрофілів (ППН) при провокації алергенами											
	туберкулін						КАМ					
	30-й день		60-й день		90-й день		30-й день		60-й день		90-й день	
	до туберкулізації	після туберкулізації	до туберкулізації	після туберкулізації	до туберкулізації	після туберкулізації	до туберкулізації	після туберкулізації	до туберкулізації	після туберкулізації	до туберкулізації	після туберкулізації
M. bovis	0,03	0,15	0,03	0,11	0,33	0,44	0,02	0,07	0,03	0,05	0,10	0,20
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
M. intracellularae	0,02	0,02	0,02	0,01	0,05	0,05	0,01	0,02	0,02	0,02	0,02	0,05
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
Незаражені (контроль)	0,01	0,02	0,01	0,02	0,01	0,02	0,02	0,02	0,01	0,02	0,02	0,02
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01

Вищезгадані закономірності відмінностей показників при дії *in vitro* туберкуліном і КАМ до і після туберкулізації відмічені і при реакції агломерації лейкоцитів (табл. 2).

Наприклад, у групі тварин, що заражені мікобактеріями туберкульозу бичачого виду, показник агломерації лейкоцитів на 30-й день після зараження найвищий і з туберкуліном складає: до туберкулізації – 54 ± 24 , після неї – 100 ± 50 ; з КАМ – до туберкулізації майже однаково, після неї – вдвоє менший, ніж з туберкуліном, – 58 ± 25 . На 60-й день після зараження таких суттєвих відмінностей не виявлено. На 90-й день різниця в показниках до і після туберкулізації є суттєва.

Таблиця 2. Результати дослідження агрегації лейкоцитів

Групи тварин	Показник агрегації лейкоцитів (ПАЛ) при провокації алергенами											
	туберкулін						КАМ					
	30-й день		60-й день		90-й день		30-й день		60-й день		90-й день	
	до туберкулізації	після туберкулізації	до туберкулізації	після туберкулізації	до туберкулізації	після туберкулізації	до туберкулізації	після туберкулізації	до туберкулізації	після туберкулізації	до туберкулізації	після туберкулізації
M. bovis	54± 20	100± 50	24± 10	24± 10	3± 2	69± 20	40± 15	58± 25	40± 15	17± 8	3± 2	33± 10
M. intracellulareae	43± 20	30± 15	32± 10	33± 10	3± 3	40± 20	53± 25	40± 15	36± 15	22± 10	12± 5	56± 15
Незаражені (контроль)	10± 5	3±3	9±5	12± 5	7±1	8±2	3±2	12± 2	12± 5	10± 5	6±2	7±2

Наприклад, при дії *in vitro* туберкуліном на сенсibilізовані лейкоцити показник агрегації їх до туберкулізації надто низький – 3 ± 2 , з КАМ такий же – 3 ± 2 (різниця співставлення показників недостовірна – $P>0,05$). Після туберкулізації показник різко підвищений і складає: з туберкуліном – 69 ± 20 (різниця співставлення показників достовірна – $P<0,05$), а з КАМ – 33 ± 10 (різниця співставлення показників достовірна – $P<0,05$). Але все ж таки показник агрегації лейкоцитів з туберкуліном вдвоє вищий, ніж з КАМ.

Такої закономірності відмінностей у показниках агрегації лейкоцитів при провокації різними алергенами не спостерігається у групі тварин, сенсibilізованих *M. intracellulareae*. Протягом досліду показники агрегації лейкоцитів з двома алергенами приблизно однакові і складають на 90-й день при провокації туберкуліном 40 ± 20 , а КАМ – 56 ± 15 (різниця співставлення показників недостовірна – $P>0,05$). Порівняння показників цієї групи тварин із контрольною складає: з туберкуліном – 40 ± 20 проти 8 ± 2 – несуттєво (різниця співставлення показників недостовірна – $P>0,05$); з КАМ – 56 ± 15 проти 7 ± 2 – суттєво (різниця співставлення показників достовірна – $P<0,05$).

У контрольній групі тварин показники пошкодження нейтрофілів та агрегації лейкоцитів – у межах норми. Аналогічні результати були у крові тварин до зараження (різниця співставлення показників недостовірна – $P>0,05$).

Кореляційний взаємозв'язок між патогенними властивостями мікобактерій виду *M. bovis* та *M. intracellulareae* відзначена наступним: пошкоджуваність нейтрофілів – середньої позитивної кореляційної залежності ($r=0,4$); агрегація лейкоцитів – слабо вираженої кореляційної залежності ($r=0,2$).

Після завершення експерименту проведено патологоанатомічне дослідження внутрішніх органів і лімфатичних вузлів.

Так, у групи тварин, заражених *M. bovis* печінка була дещо збільшена, кровонаповнена, краї заокруглені, у паренхімі в ділянці ворітної вени знайдено декілька просовидних вузликів. Портальний лімфатичний вузол теж збільшений, у паренхімі – 3–4 просовидні вузлики. Брижові лімфатичні вузли були теж уражені поодиноким просовидними вузликами у центрі з некрозом. В інших органах та лімфатичних вузлах подібних туберкульозних уражень не було. Гістологічно у печінці та портальних і брижових лімфатичних вузлах виявлено дрібні (просовидні та міліарні) вогнища первинного казеозного некрозу тканини – некротичні вогнища. Ексудативні, особливо проліферативні, процеси при цьому є дещо пригнічені. Ексудативне туберкульозне запалення супроводжувалося вогнищевим скупченням у тканинах білкової рідини з домішкою клітин, зазвичай лімфоцитів та моноцитів – ексудативні вогнища. Тканина, просочена запальним ексудатом, здебільшого піддавалася звапнілому некрозу. При перевазі продуктивних змін утворюються епітеліоїдно-клітинні вогнища, або гранульоми. Центральна ділянка туберкульозної гранульоми складалася з епітеліоїдних і гігантських клітин Пирогова-Ланганса (рис. 1). По їх периферії виявляють лімфоїдні клітини, плазмоцити, окремі макрофаги та поліморфоядерні лейкоцити. Епітеліоїдні клітинні вогнища були багаті аргірофільними волокнами (рис. 2).

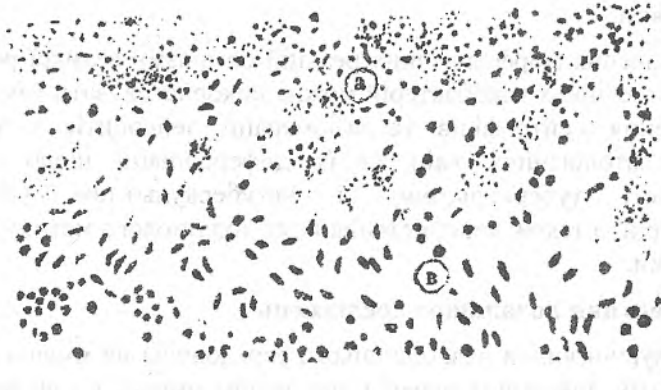


Рис. 1. Туберкульозна гранульома в лімфатичному вузлі:
а – звапніла ділянка некрозу; б – зона лімфоїдних клітин; в – зона проліферації епітеліоїдних клітин

У групі тварин, заражених *M. intracellulareae*, у внутрішніх органах видимих змін не виявлено, лише печінка була кровонаповнена. Брижові та портальні лімфатичні вузли були збільшені, на розрізі паренхіма соковита, вузлики гіперплазовані зі стертими межами. В інших лімфатичних вузлах видимих змін не спостерігали. Гістологічно лімфатичні вузлики були гіперплазовані за рахунок проліферації клітин лімфоїдно-гістіоцитарного типу.

У групі контрольних тварин видимих патологоанатомічних змін в органах та лімфатичних вузлах не виявлено.

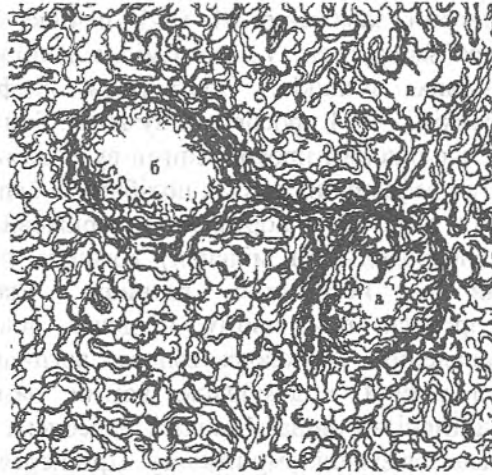


Рис. 2. Новоутворення в туберкульозній гранульомі лімфовузла:
а – проростання аргірофільних волокон у гранульомі;
б – центральна некротизована частина туберкула;
в – сітка аргірофільних волокон у тканині органа
(імпрегнація сріблом за Футом)

Висновки

Для вивчення морфологічних реакцій організму великої рогатої худоби на дію кислотостійких мікобактерій можна використовувати імунологічні реакції пошкодження нейтрофілів та агломерації лейкоцитів з метою вивчення перебігу патологічних змін та їх диференціації щодо різного ступеня патогенності туберкульозних і нетуберкульозних (атипових) форм мікобактерій, а також використання їх як додаткового методу диференціальної діагностики.

Перспективи подальших досліджень

Ураховуючи вплив навколишнього середовища на мінливість мікобактерій туберкульозу, зокрема їх перехід при певних умовах у L-форми, продовження вивчення нагальних питань у цьому напрямку має перспективу подальшого вивчення.

Література

1. *Авербах М.М.* Нейтрофилы в иммунологических реакциях при туберкулезе // Иммунология и иммунопатология туберкулеза. – М.: Медицина, 1976. – С. 141–151.
2. *Акулов А.В., Юдин Г.А., Земскова В.С.* Морфологические реакции у животных, вызванные кислотоустойчивыми сапрофитами // Ветеринария. – М., 1967. – № 9. – С. 43–46.
3. *Алексеева Г.В.* Показатель повреждаемости нейтрофилов при туберкулезе у детей // Матер. теорет. и клин. мед. – Томск, 1973. – Вып.4. – С. 29–31.

4. *Багинский С.Р.* Реакция лейкоцитов in vitro на антигены *M. tuberculosis* и *M. bovis* у больных туберкулезом легких // Проблемы туберкулеза. – М., 1985. – № 12. – С. 51–54.

5. *Ищенко Л.А., Коришнова Л.Н.* Значение иммунологических тестов в диагностике туберкулеза крупного рогатого скота // Сб. научн. тр. – Краснодар, 1983. – Вып. 232 (260). – С. 68–73.

6. *Китаев М.И.* Иммунологические механизмы аллергического повреждения лейкоцитов при туберкулезе // Механизмы аллергии и иммунитета при туберкулезе. – М.: Медицина, 1973. – С. 98–104.

7. *Макаров Д.В., Ежкова М.С., Груздева М.Н.* Патоморфологические изменения при туберкулезе животных, экспериментально зараженных штаммами микобактерий // Сб. научн. тр. КГВИ. – Казань, 1982. – С. 62–63.

8. *Фрадкин В.А.* Аллергодиагностика in vitro. – М.: Медицина, 1975. – 143 с.

9. *Чумакова Л.П.* Показатель повреждаемости нейтрофилов как критерий активности малых форм туберкулеза // Проблемы туберкулеза. – М., 1975. – № 2. – С. 78.