DOI CrossRef: 10.30917/ATT-VK-1814-9588-2018-1-3

УДК: 619.616.98:579.873.21:636.22/28

Влияние спиртовой настойки восковой моли на рост микобактерий

The influence of alcohol tincture wax moth on the growth of mycobacteria

Найманов А.Х.

г. Москва

РЕЗЮМЕ / SUMMARY

Ключевые слова: туберкулез, личинки восковой моли, этиловый спирт, спиртовая настойка среда Левенштейна-Йенсена, *M. bovis* шт. 8, *M. avium* шт. 780 и *M. phlei* шт. 6–78, рост культур, экспозиция.

Key words: tuberculosis, larvae of the wax moth, ethyl alcohol, alcohol nastojascego Levenshtein – Jensen, *M. bovis*, *M. avium* and *M. phlei*, the growth of cultures, the exposure.

Представлены результаты проведенных исследований воздействия на рост референтных штаммов культур *M. bovis* шт. 8, *M. avium* шт. 780 и *M. phlei* шт. 6–78 40% и 90% спиртовой настойки молодых личинок восковой моли. Исследования проводили в 2 этапа: 1 этап – спиртовую настойку из личинок восковой моли добавляли в питательную среду Левенштейна-Йенсена; 2 этап – спиртовую настойку из личинок восковой моли в течение 15 минут наносили на культуры микобактерий, затем эти культуры засеивали на поверхность питательной среды Левенштейна-Йенсена. Установлено, что спиртовая настойка восковой моли в 40% и 90% концентрации оказывает воздействие на культуральные свойства микобактерий в виде ослабления роста и снижения интенсивности роста микобактерий.

Presents results of a study of the impact on the growth of reference strains cultures of *M. bovis* st.8, *M. avium* st.780, *M. phlei* st. 6–78, 40% and 90% alcohol tincture of young larvae of the wax moth. The study was carried out in 2 stages: stage 1 – alcohol tincture of the wax moth larvae were added to a nutrient medium of Levenshtein-Jensen medium; 2 stage – alcohol tincture of wax moth larvae for 15 minutes was applied to the culture of mycobacteria, and then these cultures were seeded on the surface of the nutrient medium of Levenshtein-Jensen medium. It is established that alcohol tincture wax moth in 40% and 90% concentration has an impact on the cultural properties of mycobacteria in the form of reduction of growth and decrease of intensity of growth of mycobacteria.

Туберкулез был и остается одним из самых распространенных и сложных инфекционных заболеваний человека и животных, для которого до настоящего времени не разработаны высокоэффективные средства иммунной защиты и лечения (А.Х. Найманов, М.И. Гулюкин, 2014).

Н.Б. Найговзина и соавт. (2009), И.С. Концевая и соавт. (2011) указывают, что Российская Федерация входит в

число стран, в которых туберкулез остается важной проблемой здравоохранения. Особенностью эпидемиологии туберкулеза является сочетание его с ВИЧ-инфекцией, а также значительное распространение лекарственной устойчивости, включая множественную лекарственную устойчивость (МЛУ), которая достигает 20% среди впервые выявленных пациентов и свыше 50% – среди ранее леченых пациентов. Особую тревогу вызывает распространение штаммов с обширной лекарственной устойчивостью, то есть, устойчивых практически ко всем группам противотуберкулезных препаратов.

История открытия и изучения различных видов микобактерий восходит к 1882 году, когда Р. Кох впервые обнаружил мельчайшие изогнутые палочки возбудителя туберкулеза и в эксперименте по заражению лабораторных животных доказал, что именно эти микроорганизмы вызывают заболевание туберкулезом. В дальнейшем были открыты и многие другие виды патогенных и непатогенных микобактерий. Со времен Р. Коха существовало предположение, что микобактерии туберкулеза имеют воскоподобную оболочку, которая обуславливает их кислотоустойчивость. Впоследствии было установлено, что в химический состав микобактерий входят жиры, белки, углеводы и минеральные соли. значительную часть составляют липиды. У различных видов микобактерий туберкулеза липиды составляют от 10 до 40% их массы.

Микобактерии объединены общим признаком – способностью стойко сохранять воспринятую окраску, даже после воздействия разных кислот, щелочей и спирта. Поэтому они являются кислото-щелоче- и спиртоустойчивыми. Кислотоустойчивость связана с липидными фракциями микобактерий (Р.О. Дабкина, 1963; А.П. Аликаева, 1963; О.В. Мартма, 1990; С. Ratledge, V. Stanford, 1983).

Микобактерии содержат растворимые в хлороформе миколовые кислоты с длинными разветвленными цепями от 60 до 90 атомов углерода. Содержание Г+Ц (гуанин + цитазин) в ДНК колеблется от 62 до 70% (Т.Ф. Оттен, А.В. Васильев, 2005).

Микобактерии обладают уникальными биологическими свойствами – способностью к длительному сосуществованию с макроорганизмом, адаптивностью к размножению в организме различных видов животных и человека, высокой устойчивостью к неблагоприятным условиям внешней среды.

По мнению многих исследователей микобактерии туберкулеза окружены оболочкой состоящей из особого жирового вещества похожего по своим свойствам на воск. Считается, что восковая оболочка микобактерий придает устойчивость к неблагоприятным воздействиям окружающей внешней среды и предохраняет от переваривания в соках и клетках живого организма.

Дж. Уотсон (1978), Б. Альбертс и соавт. (1986) при электронной микроскопии и фотографировании установили, что снаружи бактерии окружены жесткой защитной оболочкой, состоящей из белков, полисахаридов и липидов. За оболочкой находится эластичная клеточная мембрана. Эта

Информация об авторах / Information about the authors

Найманов А.Х., доктор ветеринарных наук, профессор, заведующий лабораторией микобактериозов, labmyc@mail.ru

Сотников А.Н., кандидат ветеринарных наук, заведующий лабораторией болезни пчел

Толстенко Н.Г., кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник лаборатории микобактериозов

Вангели Е.П., кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории микобактериозов

ФГБНУ "Всероссийский на-учно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии им. Я.П. Коваленко"
Naimanov A. H., Sotnikov A. N. Tolstenko N. G., Vangheli E. P.

мембрана полупроницаемая и определяет, какие молекулы поступают в клетку или выходят из нее. Приблизительно 1/5 часть внутреннего объема клетки занята ДНК (ответственной за передачу генетической информации от одной клетки к другой), а также РНК, белки и малые молекулы.

Известно, что восковая моль (*Galleriamellonilla*) одно из живых существ эволюционно приспособленных к обитанию в пчелином улье и свое название она получила за уникальную способность переваривать и усваивать пчелиный воск. Развиваясь в ульях, личинки восковой моли разрушают соты, повреждают расплод пчел, а при массовом размножении могут опустошить склад воскового сырья. Эти вредные для пчеловодства свойства восковой моли с древнейших времен использовали в медицинских и косметических целях. Так, в народной медицине рекомендовалось лечить чахотку и другие легочные заболевания настойкой личинок восковой моли. История этого вопроса восходит к И.И. Мечникову, который еще в 1889 году полагал, что пищеварительные ферменты этого странного, питающегося пчелиным воском насекомого, могут разрушить воскоподобную оболочку микобактерий туберкулеза. Автор установил, что способные к оокулированию, старые личинки не переваривают микобактерии туберкулеза, а молодые личинки в период роста – отлично переваривают.

Поэтому, учитывая широкое распространение туберкулеза среди людей и животных, значительное распространение штаммов микобактерий с лекарственной устойчивостью и множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ) ко всем группам противотуберкулезных препаратов, недостаточную изученность и противоречивость данных по многим вопросам диагностики и оздоровительных мероприятий при туберкулезе животных мы провели свои исследования по воздействию спиртовой настойки молодых личинок восковой моли на культуральные свойства *M. bovis* шт. 8, *M. avium* шт. 780 и *M. phlei* шт. 6–78.

Материалы и методы

Работу проводили в лабораториях микобактериозов и болезней пчел ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии им. Я.П.Коваленко (ВИЭВ) и Вышневолоцком филиале ВИЭВ о. Лисий.

Для исследования использовали референтные штаммы различных видов микобактерий: *M. Bovis* шт. 8, *M. avium* шт. 780, *M. phlei* шт. 6–78.

Исследования проводили в два этапа: 1-й этап – определяли степень воздействия на культуры микобактерий 40% спиртовой настойки восковой моли после добавления ее в питательную среду Левенштейна-Йенсена на стадии разлива в пробирки, до скашивания. В качестве контроля использовали нативную среду Левенштейна-Йенсена без добавления настойки восковой моли.

Таблица 1

№ п/п		<i>M.bovis</i> Шт.8	<i>M.avium</i> Шт. 780	<i>M.phlei</i> Шт. 6-78
1.	Рост на среде с добавкой	7/7	5/7	7/7
2.	Рост культуры после обработки культуры 40% настойкой	5/7	1/7	4/7
3.	Рост культуры после обработки 90%настойкой	2/7	0/7	2/7
4.	Рост культуры после обработки 40% этиловым спиртом	2/7	2/7	3/7
5.	Рост на среде без добавок (контроль)	7/7	7/7	7/7

Примечание: 7/7 количество пробирок, где отмечен рост микобактерий/общее количество пробирок).

2-й этап включал исследования по изучению непосредственного воздействия спиртовой настойки восковой моли в концентрации 40% и 90%, а также этилового спирта 40% концентрации на культуры микобактерий. Экспозицию культур разных видов микобактерий в жидкостях проводили в течении 15 минут. Затем культуры наносили на поверхность питательной среды.

Культуральные исследования проводили в соответствии с "Наставлением по диагностике туберкулеза животных" (М., 2002).

Результаты исследований

Результаты проведенных исследований представлены в таблице. Анализ полученных результатов показывает, что 15 минутная экспозиция культур в настойке восковой моли 40% и 90% концентрации оказывает некоторое влияние на культуральные свойства микобактерий. Установлено снижение интенсивности роста микобактерий (гр. 3-4-5). Так же установлено изменение культуральных свойств микобактерий. Отмечался рост точечных единичных колоний. Однако, подобный эффект наблюдали и при экспозиции культур микобактерий в этиловом спирте 40% концентрации. Добавление настойки личинок восковой моли в питательную среду не вызывало заметного воздействия на рост микобактерий. (гр. 1-2)

Из данных таблицы также видно, что на среде с добавкой спиртовой настойки восковой моли отмечен рост культуры *M.bovis* в 7 из 7 посеянных пробирок, *M.avium* – в 5 из 7 и *M.phlei* соответственно в 7 из 7.

После экспозиции в 40% спиртовой настойке восковой моли рост микобактерий был отмечен *M. bovis* в 5 из 7 пробирок культуры, *M.avium* – в 1 из 7 пробирок; и *M. phlei* в 4 из 7 пробирок.

При испытании 90% спиртовой настойки восковой моли установили снижение активности роста всех видов микобактерий. Так, при посевах культур *M.bovis* шт. 8 отмечен рост только в 2 из 7 пробирок, *M.avium* шт. 780 рост отсутствовал, *M.phlei* шт. 6–78 – также отмечался рост в 2 из 7 пробирок, т.е. как и *M.bovis*.

При экспозиции культур микобактерий в 40% этиловом спирте установили следующие результаты: *M.bovis* шт. 8 – рост в 2 из 7 пробирок, *M.avium* шт. 780 – в 1 из 7 пробирок *M.phlei* шт. 6–78 – в 3 из 7 пробирок.

Полученные результаты исследований показывают, что спиртовая настойка восковой моли 40% и 90% концентрации оказывает определенное воздействие на культуральные свойства микобактерий. Однако, такое же действие на рост микроорганизмов оказывает и этиловый спирт при аналогичных условиях экспозиции.

Проведенные нами исследования, полученные результаты и анализ этих исследований позволяют сделать заключение. Спиртовая настойка молодых личинок восковой моли в 40% и 90% концентрации влияет на интенсивность роста и ростовые свойства культур *M.bovis*, *M. avium* и *M. phlei*.

Литература

1. Альбертс Б., Брей Д., Льюис Дж. и др. Молекулярная биология клетки / Издательство "Мир", Москва, 1986, 11.2.7, 223с.
2. Концевая И.С., Николаевский В.В., Балабанова Я.М. Молекулярная эпидемиология туберкулеза: задачи, методы, перспективы. Молекулярная генетика, микробиология и вирусология, 2011, №1, с. 3-10.
3. Найговзина Н.Б., Филатов Ф.Б., Ерохин В.В. и др. Туберкулез в Российской Федерации / Эпидемиология и инфекционные болезни, 2009, №3, с. 4-11
4. Найманов А.Х., Гулюкин М.И. Микобактериальные инфекции крупного рогатого скота (туберкулез, паратуберкулез), г. Москва, "Зооветкнига", 2014, 236с.
5. Оттен Т.Ф., Васильев А.В. Микобактериозы, г. Санкт-Петербург / Издательство Медицинская пресса, 2005, 218с.
6. Уотсон Дж. Молекулярная биология гена / Издательство "Мир", Москва, 1978, 9.5.6, 720 с.