

ФАКТОРИ ПАТОГЕННОСТІ ЗБУДНИКА ПСЕВДОМОНОЗУ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

Гадзевич О. В.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини»,
м. Харків, Україна, e-mail: olgagadzevych@gmail.com

В огляді літератури наведений аналіз факторів вірулентності збудника псевдомонозу, представлені дані сучасної наукової літератури з питання етіопатогенезу захворювання. Описані такі властивості *Pseudomonas aeruginosa*, як адгезія, здатність до утворення екстрацелюлярної слизі та біоплівки які відіграють виняткову роль при ураженні різних органів. Розуміння біології збудника та знання щодо факторів його патогенності дозволять аргументовано та ефективно проводити лікувально-профілактичні та санітарно-гігієнічні заходи у тваринництві. Це в свою чергу, дозволить своєчасно проводити іррадикацію патогенної форми збудника у стаціонарно неблагополучних осередках, ліквідувати бактеріоносійство та оздоровити господарства.

Ключові слова: *Pseudomonas aeruginosa*, фактори патогенності, етіопатогенез захворювання

Актуальність обраної теми обумовлена убіквітарністю розповсюдження збудника псевдомонозу, його широким тропізмом і поліорганістю форм проявів інфекції. *Pseudomonas aeruginosa* спричиняє захворювання у сільськогосподарських, промислових і диких тварин, птиці, лисиць, пещів, риб і бджіл [1, 2, 6–9]. Вчені детально вивчили та описали епізоотологічні особливості псевдомонозу у норок, пещів і шиншил, у яких захворювання супроводжується геморагічною пневмонією, септичними явищами, діареею та високою летальністю. У самок пещів і шиншил у другій половині вагітності спостерігаються аборти, гнійні виділення з піхви, часті випадки загибелі від сепсису. За даними наукової літератури у овець, собак і кроликів псевдомоноз проявляється у вигляді піодермії. У корів і свиноматок захворювання спричиняє метрити, мастити, ендометрити, аборти та ембріональну смертність. У биків і кнурів – баланопостіти та епідидиміти. Осіменіння корів і свиноматок спермою, контамінованою *Pseudomonas aeruginosa*, спричиняє аборти та мертвонародження [6, 7, 9, 11]. Описані випадки абортів у кобил [8, 6]. Спалахи псевдомонозу у птахогосподарствах супроводжуються значним відходом перехворілої птиці, низькою виводимістю курчат через значну загибель ембріонів у період інкубації яєць [3, 8]. Описані запальні та деструктивні процеси очей у коней і собак, спричинені *Pseudomonas aeruginosa*. Зараз відзначається посилення ролі *Pseudomonas aeruginosa* в етіології захворювань і важких інфекційних ускладнень у людей. Важливою особливістю псевдомонозу є його хронічний характер, у випадках коли захворювання виникає у людей із зниженим імунним станом досягти повну елімінацію збудника не представляється можливим [15]. *Pseudomonas* викликає псування білкових харчових продуктів, у першу чергу м'ясо-молочних [4, 6]. Тому, псевдомоноз не тільки завдає величезних економічних збитків тваринництву, але і має соціальне значення. На думку багатьох дослідників, форма прояву цього захворювання залежить від ступеня патогенності збудника [10, 7, 15, 16]. Саме тому, поглиблені знання біології збудника, факторів його патогенності та патогенезу захворювання дозволять аргументовано та ефективно проводити лікувально-профілактичні та санітарно-гігієнічні заходи у тваринництві. Це в свою чергу, дозволить провести іррадикацію патогенної форми збудника в стаціонарно неблагополучних осередках, ліквідувати бактеріоносійство та оздоровити господарства від інфекції.

Метою роботи було зробити огляд літератури щодо факторів патогенності збудника псевдомонозу.

Матеріали та методи. Для з'ясування актуальності обраної теми, основних факторів патогенності *Pseudomonas aeruginosa* та етіопатогенезу захворювання, був проведений пошук та аналіз доступних літературних джерел з цього питання.

Результати досліджень. Найважливішими властивостями мікроорганізмів – збудників захворювань є їх патогенність, тобто здатність спричиняти інфекційні хвороби. Таким чином, до факторів патогенності мікроорганізмів можна віднести усі компоненти мікробних клітин, що сприяють прориву природних бар'єрів шкіри і слизових оболонок, зумовлюють здатність мікроорганізмів активно колонізувати і здійснювати інвазію у тропні тканини, а також ті, що здатні протистояти численним механізмам захисту організму господаря та забезпечують збереження та розмноження в ньому.

Першим кроком для розвитку інфекційного процесу є адгезія. Адгезія *Pseudomonas aeruginosa* здійснюється шляхом контакту з гангліозидними рецепторами еукаріотичних клітин. З поверхні клітини *Pseudomonas aeruginosa* покриті двома шарами – внутрішнім ригідним, тісно пов'язаним з клітинною стінкою, і зовнішнім, більш тонким, гомогенним. На поверхні зовнішнього шару розташовані дрібні кулясті утворення, які забезпечують прикріплення бактерій до різних субстратів. Адгезивні властивості дозволяють мікроорганізму не тільки закріпитися на слизових оболонках, але і забезпечувати можливість транспортувати токсини до рецепторів клітинної мембрани, а після досягнення певного популяційного рівня збудника забезпечувати його інвазію. У псевдомонад виявлено два типи фімбрії (пілей), з якими пов'язують передачу плазмід лікарської резистентності. Фімбрії розташовані на полюсах бактеріальної клітини і складаються з білкових субодниць.

Висока резистентність псевдомонад до широкого спектра природних біологічно активних речовин та антибактеріальних засобів пояснюється поганою проникністю зовнішньої мембрани цих бактерій внаслідок вродженого дефекту порів. *Pseudomonas aeruginosa* синтезує пеницилліназу.

Pseudomonas aeruginosa зберігає життєздатність в умовах майже повної відсутності джерел живлення: вона добре зберігається у прісній, морській і навіть дистильованій воді. Культури синьогнійної палички можуть зберігатися і навіть розмножуватися в розчинах дезінфікуючих засобів (наприклад фурациліні). У той же час *P. aeruginosa* чутлива до висушування, дії хлорвісних дезінфікуючих препаратів і легко інактивується за умови впливу високих температур.

Клітини вірулентних штамів *Pseudomonas aeruginosa* мають екстрацелюлярний слиз. Слизувата речовина *P. aeruginosa* містить переважно вуглеводний компонент і невелику кількість білка. Екстрацелюлярний слиз надає характерну в'язкість бульйонним культурам і колоніям мукоїдних штамів та легко виділяється в зовнішнє середовище. Можна сказати, що екстрацелюлярний слиз *P. aeruginosa* є функціональним аналогом капсули. Існує певний зв'язок між тяжкістю перебігу інфекції та виділеннями мукоїдних штамів бактерій. Як правило, штами, які активно виділяють слиз, є більш вірулентними, так як вона подібно капсулі інших бактерій, володіє антифагоцитарними властивостями. Крім антифагоцитарної і токсичної функцій, позаклітинна слиз синьогнійної палички бере участь в процесах адгезії та має здатність пригнічувати активність комплементу. Екстрацелюлярний слиз синьогнійної палички грає активну роль в розвитку диспепсичних процесів у тварин, в основі яких лежать посилення перистальтики кишечника.

До основних факторів патогенності *Pseudomonas aeruginosa* відносять протеолітичні ферменти (протеази). Протеолітичні ферменти синьогнійної палички розщеплюють білкові молекули на низькомолекулярні компоненти, забезпечуючи тим самим мікробні клітини поживними речовинами, необхідними для їх росту і розмноження. Практично всі штами синьогнійної палички, у тій чи іншій мірі, мають протеолітичну активність. Однак до теперішнього часу не визначено загальна кількість протеаз, які продукуються синьогнійної палички. Добре відомі три протеази, що розрізняються за своїми фізико-хімічними властивостями і субстратною специфічністю: нейтральна протеаза, еластаза і лужна протеаза. Значення нейтральної протеази в організмі чітко не визначено, відомості в літературі відсутні. Фермент еластаза (протеаза II) акумулюється в периплазматичному просторі. У активізованому стані еластаза гідролізує еластин, казеїн, гемоглобін, фібрин, IgG і IgA, компоненти комплементу та інгібує активність нейтрофілів. Лужна протеаза синтезується більшістю штамів *Pseudomonas aeruginosa* гідролізує багато білків, зокрема IgA, але не діє на еластин. Протеолітичні ферменти діють як агресини, пригнічують функцію імунної системи і збільшують інвазію псевдомонад. Введення в організм тварин протеїнази і еластази, викликає зміни геморагічного характеру в легенях, діафрагмі, нирках, очеревині, шлунково-кишковому тракті, викликає ураження кісткової тканини та сприяє накопиченню рідини в кишечнику [2, 3, 4, 5, 6, 7, 10, 14].

Крім того, збудник псевдомонозу забезпечений лейкоцидіном, лецитиназою, колагеназою, нейрамінідазою та гемолізінами, які мають важливе значення в розвитку генералізованої форми захворювання.

Лейкоцидин – фермент, що викликає лізис лейкоцитів, порушує серцеву діяльність і проникність капілярів. Лецитиназа руйнує лецитин клітин і їх мембрани. Колагеназа викликає гідроліз колагену в сполучних тканинах. Нейрамінідаза полегшує подолання шару слизу, проникнення всередину клітин і поширення в міжклітинних просторах.

Pseudomonas aeruginosa продукує гемолізину двох типів: термолабільну фосфоліпазу С і термостабільний гліколіпід. Фосфоліпаза С руйнує фосфоліпіди в складі сурфактантів на альвеолярній поверхні легень, викликаючи розвиток патології респіраторних органів. При внутрішньовенному введенні фосфоліпази піддослідним тваринам спостерігається некроз печінки та набряк легень [13, 14].

У мікробній клітці та продуктах метаболізму встановлено наявність екзо- і ендотоксинів. Ендотоксин легко проникає у кров і розноситься по всьому організму, порушуючи постійність внутрішнього середовища організму. Він пригнічує активність деяких тканинних окислювальних ферментів і тим самим блокує цикл Кребса, порушує механізми згортання крові, пошкоджує клітини ретикулоендотеліальної системи, сприяючи тим самим значного зниження напруженості природного імунітету [3, 4, 6, 7, 13].

Екзотоксин А – один із токсинів синьогнійної палички, який продукується (80–90) % клінічних штамів *P. aeruginosa* – термолабільний білок, що легко деградує під дією трипсину. При місцевому введенні очищеного препарату екзотоксину А виникає характерна реакція – безеритематозний набряк, який некротизується протягом 2–3 днів. При внутрішньоочеревному введенні миші гинуть. Було встановлено, що в результаті дії екзотоксину А відбуваються глибоке порушення клітинного метаболізму. Через 2 год після уведення екзотоксину А білковий синтез у печінці пригнічується на 50 %, а до моменту загибелі тварини він блокується у всіх органах. У загиблих тварин при розтині виявляють виражений гепатоцелюлярний некроз, геморагічні ураження в легенях і некроз ниркової тканини [3, 17].

Екзотоксин А *P. aeruginosa* складається з трьох доменів, один з яких фіксується альфа-2- макроглобуліновими рецепторами клітин (білок CD91). Другий забезпечує транслокацію через плазматичну мембрану, а третій пригнічує синтез білка, блокуючи зростання пептидного ланцюга на рибосомах. Це, зрештою, призводить до загибелі клітин [3, 16].

Таким чином, можна зазначити, що механізм патогенного впливу синьогнійної палички *P. aeruginosa* полягає в поєднанні двох факторів: інвазивного (проникнення в пошкоджені тканини) і токсигенного (виділення біологічно активних продуктів – токсинів). Після адгезії та колонізації тканин збудником псевдомонозу (локальної інвазії) відбувається розмноження *P. aeruginosa* і досягнення кількості, достатнього для системної інфекції, характерним механізмом для цієї стадії є утворення біоплівки.

Біоплівки – це здатність бактеріальних популяцій існувати у природних екосистемах не у вигляді вільно плаваючих планктонних клітин, а у вигляді специфічно організованих, прикріплених до субстратів біоплівок, утворення яких представлено складним регульованим біологічним процесом. Здатність формувати біоплівки є головним механізмом захисту бактерій від несприятливих факторів середовища [3, 4, 6, 7, 16].

У структурі біоплівки бактерії становлять менше половини маси, інша частина – міжклітинний матрикс, який складається з альгінату. Матрикс пронизаний каналами, по яких циркулюють живильні речовини, продукти життєдіяльності, ферменти, метаболіти і кисень. Усі мікроколонії мають свої мікросередовища, що відрізняються рівнями рН, рівнем засвоєння поживних речовин, концентраціями кисню.

Для бактерій у складі біоплівки характерне підвищення стійкості до антибіотиків та механізмів імунного захисту, зокрема фагоцитозу. [17].

Формування біоплівок – дуже складний, багатофакторний і багатостадійний процес. Це обумовлено фізико-хімічними процесами взаємодії бактерій з поверхнею: електростатичної та гідрофобної взаємодії, броунівського руху. Неспецифічне прикріплення здійснюється до біотичних та абіотичних об'єктів більшою мірою зворотно. Біоплівкоутворюючі бактерії обмінюються поміж собою секреторними медіаторами (аутоіндукторами), які служать основою їхньої кооперативної чутливості, або quorum sensing – QS [3, 16]

За результатами досліджень та спостережень Леженко Г.О. у своїх трудах зробив висновок, що феномен кооперативної чутливості («quorum sensing») *P aeruginosa* є одним із механізмів, який диктує експресію факторів патогенності синьогнійної палички. Його суть полягає в модифікації фізіологічних функцій бактерій при зміні їх чисельності внаслідок продукування позаклітинних сигнальних молекул (аутоіндукторів), детекції та формування відповідної реакції нової якості. Блокада механізмів реалізації феномена кооперативної чутливості у *Pseudomonas aeruginosa* призводить до вираженого зниження вірулентності [3].

Висновок. Аналіз літературних джерел показав, що захворювання, спричинені *Pseudomonas aeruginosa*, реєструються практично у всіх видів тварин і птахів із різним клінічним проявом. Захворювання спричиняє значні економічні збитки тваринництву і має соціальне значення. У першу чергу, це пов'язано з високою пластичністю біологічних властивостей збудника та наявністю у нього значної кількості факторів патогенності, які призводять до адгезії, колонізації та інфікування тканин організму.

Перспективи подальших досліджень. У зв'язку із важливістю даної проблеми, планується в подальшому більш детально вивчати біологічні властивості *Pseudomonas aeruginosa*, що виділяється від хворих тварин. Отримані дані щодо біології збудників дозволять ефективно проводити лікувально-профілактичні заходи щодо захворювання тварин з раціональним і виправданим застосуванням лікувально-профілактичних і дезінфікуючих препаратів.

Список літератури

1. Вержиховський, О. М. Епізоотологічний моніторинг. Псевдомонозна інфекція тварин і птиці. Динаміка напруженості епізоотичної ситуації в Україні (1991-2006 рр.). [Текст] / О. М. Вержиховський, М. С. Мандигра, О. П. Бойко // Вісник Полтавської державної аграрної академії. – 2007. – № 4. – С. 97-100.
2. Зон, Г.А. Сучасна комплексна діагностика псевдомонозу птиці. [Текст] / Г.А. Зон, Є.В. Ващик. // Вісник Сумського національного аграрного університету. Серія «Ветеринарна медицина». – 2013. – Випуск 2 (32). – С.98-101.
3. Леженко, Г.О. Інфекції, викликані паличкою синьо-зеленого гною, - стара проблема, що потребує нових рішень [Текст] / Г.О.Леженко, О.Є.Пашкова // Дитячий лікар. – 2013. – №3 (24). – С. 20-25.
4. Порт, Е. В. Адгезивні та колонізаційні властивості клінічно значущих штамів *Pseudomonas aeruginosa*: автореф. дис. канд. мед. наук [Текст] / Е. В. Порт. – Харків. – 2006. – 24 с.
5. Порт, Е. В. Изучение адгезивных свойств штаммов синегнойной палочки [Текст] / Е. В. Порт // Висн. Харк. нац. ун-ту. – 2004. – № 639. – С. 24-31.
6. Пруцаков, С. В. Вопросы эпизоотологии псевдомоноза сельскохозяйственных животных [Текст] / С.В. Пруцаков, И.А. Болоцкий, В.И. Семенов, А.К.Васильев // Ветеринария Кубани. – 2010. –№2. – С.19-20.
7. Псевдомоноз свиней в Краснодарском крае. / С.В. Пруцаков [и др.] // Ветеринария. – 2002. – № 12. – С.12-14.
8. Псевдомоноз сельскохозяйственных животных в Краснодарском крае / А. К. Васильев и др. // Ветеринария. – 2008. – № 12. – С. 20–23.
9. Распространение и клиническое проявление псевдомоноза у крупного рогатого скота и свиней в Краснодарском крае [Текст] / В. И. Терехов [и др.] // Труды Куб. гос. аграр. ун-т. – 2004. – Вып. 406 (434). – С. 45-50.
10. Савкова, М.Г. Морфологические, культурально-биохимические и патогенные свойства полевых штаммов синегнойной палочки [Текст] / М. Г. Савкова // Ветеринария Сибири. – 2004. – № 11. – С. 38-39.
11. Скориков, А. В. Особенности ассоциативного выделения синегнойной палочки у свиней и крупного рогатого скота [Текст] / А. В. Скориков, В. И. Терехов // Ветеринарный врач. – 2004. – № 3-4. – С. 43-46.
12. Совершенствование специфической профилактики и лечения псевдомоноза нутрий [Текст] / А. А. Шевченко [и др.] // Труды Кубанского государственного аграрного университета. Краснодар. – 2009. – № 1. – Ч. 1. – С. 125-126.
13. Becks, V. Lorenzoni Nancy M. *Pseudomonas aeruginosa* outbreak in a neonatal intensive care unit: A possible link to contaminated hand lotion. // American Journal of Infection Control 1995, – Volume 23, – Issue 6, – P. 396-398.
14. Goossens, H. Susceptibility of multi-drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in intensive care units: results from the European MYSTIC study group [Text] / H. Goossens // Clin Microbiol Infect. — 2003. – Vol. 9. – P. 980–983.
15. Davies, JC. *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis: pathogenesis and persistence. [Text] / JC Davies // Paediatr Respir Rev. – 2002. – Vol.3(2). – P.128-134.
16. Markova, Yu.A. Mechanisms of bacterial polyhostality [Text] / Yu.A. Markova, A.S. Romanenko, T.N. Shafikova // J. Stress Physiol. Biochem. – 2007. – Vol. 3. – №.2. – P.15-23.
17. Tetz, V.V. The effect of antimicrobial agents and mutagen on bacterial cells in colonies [Text] / V.V. Tetz. // J.: Med Microbiol: Lett., 1996. – P. 426-436.

FACTORS PATHOGENS EXCITER AT PSEUDOMONOSIS INFECTION

Gadzevych O. V.

National Science Center «Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine», Kharkiv, Ukraine

The literature review provides an analysis of virulence factors exciter pseudomonosis infection, presents the current scientific literature on the pathogenesis of the disease. Described properties *Pseudomonas aeruginosa* (adhesion, the ability to form biofilms and extracellular slime) which play a crucial role in the defeat of various organs. Understanding the biology of the pathogen and knowledge of its pathogenicity factors allow reasonably and effectively carry out therapeutic, preventive and sanitary-hygienic measures on the farm. That, in turn, will get rid of pathogenic forms of *Pseudomonas aeruginosa* in the foci of infection, eliminate bacteriocarrier and cure animals in the farms.

Keywords: *Pseudomonas aeruginosa*, pathogenicity factors, ethiopathogenesis disease

УДК: 619:616.155.392-078:57.083.33:578.828.11:636.22/.28(477)

СТАНОВЛЕННЯ ТА УДОСКОНАЛЕННЯ ВІТЧИЗНЯНОГО
ДІАГНОСТИКУМУ ЛЕЙКОЗУ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ

Горбатенко С. К., Стегній Б. Т., Вовк С. І., Корнєйков О. М., Стегній М. Ю., Дунаєв Ю. К.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини»,
м. Харків, Україна, e-mail: admin@vet.kharkov.ua

Наведено матеріали про розробку та етапи удосконалення вітчизняного діагностичного набору для індикації інфікованих вірусом лейкозу тварин у реакції імунодифузії, визначена економічна ефективність від впровадження.

Ключові слова: антиген, лейкоз, культура клітин FLK-BLV, поживне середовище, діагностикум, економічна ефективність.

У практиці індикації інфікованих вірусом лейкозу великої рогатої худоби (ВЛ ВРХ) тварин у сучасних умовах використовуються засоби серологічного плану, а саме реакція імунодифузії в агаровому гелі (РІД) та метод імуноферментного аналізу (ІФА) [1, 2]. В останні роки набуває значення використання з вищезначеною метою молекулярно-генетичних методів дослідження (ПЛР) у різних модифікаціях. У науковій літературі досконало визначена роль кожного вищезначеного діагностичного тесту. Перевагою реакції імунодифузії є її простота у виконанні, порівняльно низька вартість компонентів діагностичного набору. Постановка та облік результатів дослідження у РІД не потребує складного лабораторного обладнання, реакція характеризується високою специфічністю. Недоліком тесту є наявність незначного порогу чутливості при виявленні інфікованих вірусом лейкозу тварин, що не дає змоги виявляти окремих особин на перших етапах прояву етапу сероконверсії. Метод імуноферментного аналізу відрізняється підвищеною, у порівнянні з реакцією імунодифузії, чутливістю. Використання методу ІФА дає змогу більш ефективно позбуватись вірусоносіїв у стаді, особливо при завершенні оздоровчої протилейкозної програми [3]. Використовуючи метод ІФА можна контролювати благополуччя стада великої рогатої худоби щодо лейкозу дослідженням пулів сироватки крові чи молока, це полегшує зусилля фахівців тваринництва та ветеринарної мережі у питаннях діагностики та зменшує ризики розповсюдження збудника захворювання. У діагностичній практиці лабораторій ветеринарної медицини України використовуються тест-системи для ІФА-аналізу закордонного виробництва – IDEXX, VMRD, Simbiotics Corporation, НПО «Нарвак». Конкурентоспроможні тест-системи вітчизняного виробництва у стадії розробки. За цих обставин, у зв'язку з високою вартістю закордонних діагностикумів і дефіцитом обладнання для постановки та обліку ІФА, використання цього тесту в умовах державних лабораторій ветеринарної медицини України поки що обмежене.

Дослідження лейкозу ВРХ за допомогою молекулярно-генетичних методів успішно використовуються на рівні провідних діагностичних центрів ветеринарного профілю. Метод у сучасних умовах використовується на рівні оцінки благополуччя щодо лейкозу високоцінних тварин, при проведенні арбітражних досліджень [4]. Перевагою методу є визначення наявності РНК чи провірусної ДНК збудника лейкозу в організмі інфікованих тварин вже на перших етапах інкубаційного періоду, до прояву сероконверсії [5]. Метод перспективний і, безумовно, займе своє місце у діагностичній мережі при наявності необхідного обладнання та висококваліфікованих фахівців відповідного профілю [6].

Метою повідомлення є аналіз етапів конструювання та удосконалення вітчизняного лейкозного діагностичного набору, що використовується в РІД, доведення його до якості, яка не поступається кращим закордонним аналогам.

Матеріали та методи. Піддано аналізу результативність пошуку вітчизняного конкурентоспроможного діагностичного тесту для індикації інфікованих вірусом лейкозу тварин на основі серологічного обстеження погोलів'я в РІД, що проводився