

Розділ 3. Ветеринарна мікробіологія та вірусологія

При изучении влияния инактиванта на культуру клеток ПК 15 установлено, что добавление на монослой теотропина в концентрации свыше 0,4 % вызывало дегенерацию монослоя в течение 24 часов. Хорошие инактивирующие свойства проявил теотропин в концентрации от 0,2 % до 0,5 % при экспозиции 48 часов. Учитывая то, что свыше 0,4 % концентрации теотропин вызывает дегенерацию клеток, для дальнейших исследований был взят 0,2 и 0,3 %-ный теотропин.

Вывод. Учитывая выше изложенное, следует заключить, наиболее оптимальным для инактивации парвовируса при культивировании его на культуре клеток ПК 15 является использование в качестве инактивирующего вещества теотропин в 0,2 %-ной концентрации при экспозиции 24 часа, при температуре + 37 °С.

Список литературы

1. Болезни сельскохозяйственных животных // Красочко П.А., Якубовский М.В., Ятусевич А.И., Зелютков Ю.Г. и др. Науч. ред. Красочко П.А. – Минск, Бизнесофсет, 2005. – 800 с. 2. Красочко, П.А. Методические рекомендации по профилактике, лечению и мерам борьбы с пневмоэнтеритами телят / Под ред. П.А. Красочко // Мн., Энциклопедикс, 2000. – 40 с. 3. Рекомендации по специфической профилактике наиболее распространенных инфекционных болезней крупного рогатого скота в Республике Беларусь: утв. ГУВ МСХ и П РБ 18 января 2007 г. / В.В. Максимович [и др.]. – Витебск: УО ВГАВМ, 2007. – 54 с. 4. Химические методы инактивации вирусов // [Электронный ресурс] – Режим доступа: <http://meduniver.com/Medical/Microbiology/965.html>

INFLUENCE OF DIFFERENT INACTIVANTS ON PARVOVIRUS OF CATTLE

Krasochko P.A., Simakova N.M., Sakovich A.V.

RUE «Institute of Experimental Veterinary Science named after S.N. Vysheslesky», Minsk, Belarus

The characteristic of several of inactivants and the results of its influence of cattle parvovirus are presented in the article.

УДК 619:616.98-076:579.813.95

ВПЛИВ ТОКСИНІВ *PASTEURELLA HAEMOLYTICA*, ВИДІЛЕНИХ ВІД СВИНЕЙ, НА ОРГАНІЗМ ТЕПЛОКРОВНИХ

Мазур Т.В., Сорокіна Н.Г.

Національний університет біоресурсів та природокористування України, м. Київ

Приймаючи до уваги тварин, що більшість протипастерельозних вакцин недосконалі, а гіперімунна специфічна протипастерельозна сироватка не виявляє лікувальних властивостей, можна припустити, що формуванню імунної відповіді сприяють продукти життєдіяльності гемолітичної пастерели – токсини.

Вивчення властивостей та характеру впливу на організм теплокровних, ймовірно, могло б сприяти створенню ефективних діагностичних та профілактичних препаратів, спрямованих на попередження спалахів та подолання наявних випадків хвороби.

Метою роботи стало дослідження біохімічної природи та впливу токсичних речовин, продуктів метаболізму гемолітичної пастерели, на організм теплокровних.

Матеріали і методи. Для здійснення такої роботи в господарствах протягом 2007 року були виділені, типовані та ліофілізовані штами гемолітичної пастерели, яка викликала здебільшого респіраторну патологію. Культура була вірулентною для білих мишей в дозі 1 млн мікр. клітин при внутрішньоочеревинному зараженні.

Результати досліджень. Виділення ендотоксину проводили з культуральної рідини *Pasteurella haemolytica*. Культуру вирощували на м'ясному бульйоні протягом 18 год. Клітини видаляли шляхом центрифугування при 5000g протягом 30 хв. З одержаного супернатанту білки осаджували сульфатом амонію, додаючи суху сіль до 60 % насичення під контролем рН. Витримували суміш протягом ночі при температурі 4 °С. Потім суміш центрифугували при 5000 g протягом 30 хв. Осад збирали та розчиняли у триразовому об'ємі 3 М сульфату амонію. У супернатанті та осаді визначали кількість білка. Було підготовлено 5 зразків: культуральна рідина, супернатант (5,15 мг/мл), супернатант діалізований (1,025 мг/мл), осад (0,575 мг/мл) та осад діалізований (0,25 мг/мл). Білок визначали методом Лоурі.

Складові компоненти осаду та супернатанту розділяли шляхом іонообмінної хроматографії на TSK-гелях. Іонообмінну хроматографію осаду проводили на колонці (2 × 35 см) Fractogel DEAE-650-s «Merck», Німеччина, урівноважену 0,01 М Трис-НСІ буфером рН 7,0. Зразок (12 мл, 30 мг білка) наносили на колонку, елюцію проводили лінійним градієнтом NaCl (0-1 М, по 150 мл) зі швидкістю 24 мл/год (рис.1). Об'єднували фракції двох одержаних піків та перевіряли їх токсичну дію на мишах.

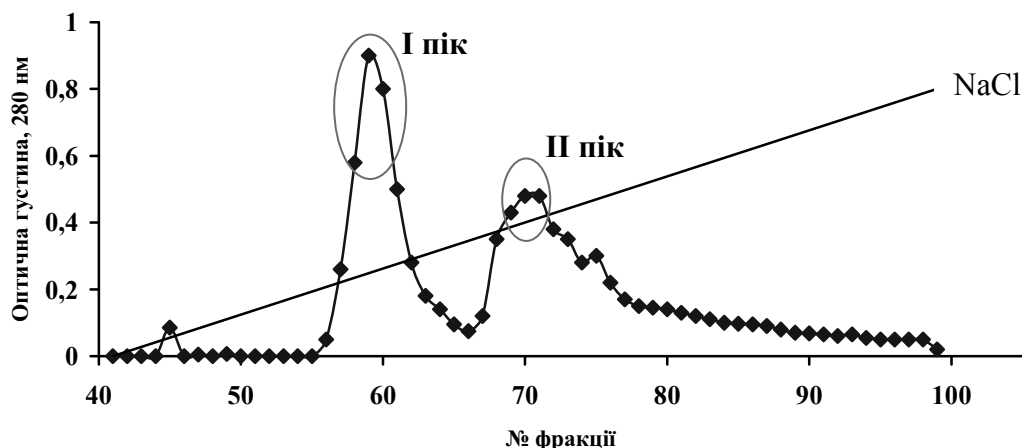


Рис. 1 Іонообмінна хроматографія осаду на Fractogel DEAE-650-s у градієнті NaCl 0-1 М

Іонообмінну хроматографію супернатанту проводили на колонці (3,5 × 40 см) Fractogel DEAE-650-м «Merck», Німеччина, урівноважену 0,01 М Трис-НСІ буфером рН 7,0. Зразок (15 мл, мг білка) наносили на колонку, елюцію проводили лінійним градієнтом NaCl (0-1 М, по 150 мл) зі швидкістю 30 мл/год (рис. 2).

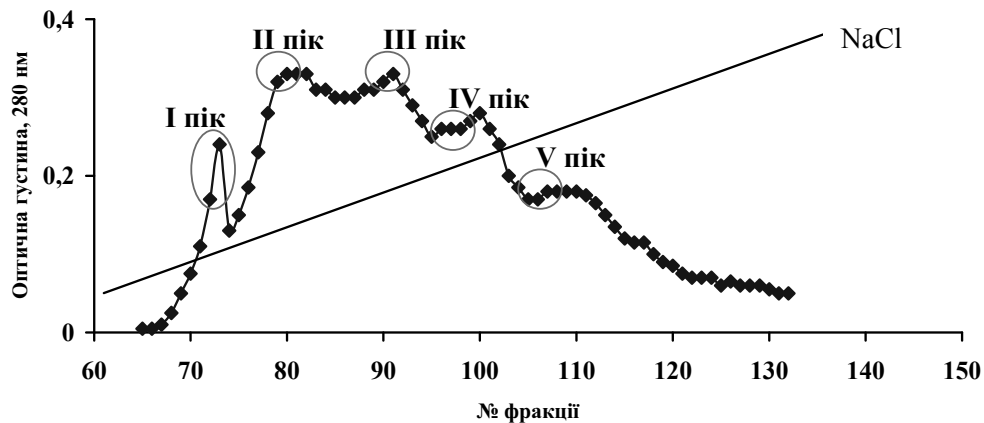


Рис. 2 Іонообмінна хроматографія супернатанту на Fractogel DEAE-650-м у градієнті NaCl 0-1 М

Токсичні для білих мишей фракції являють собою речовини протеїново-вуглеводної природи (табл. 1).

Таблиця 1 – Компонентний склад препаратів сумішей фракцій

Проба	Кількість білка, мкг/мл	Кількість вуглеводів, мкг/мл
Осад (діалізований)	250,0	75,0
I пік	20,0	25,0
II пік	12,5	0,0
Супернатант (діалізований)	262,5	80,0
I пік	27,5	26,6
II пік	95,0	23,3
III пік	75,0	6,6
IV пік	30,0	3,3
V пік	20,0	8,3

Фракції одержаних піків об'єднували та перевіряли їх токсичну дію на мишах. Виділені пікові фракції концентрату бактерійної маси та супернатанту бульйонної культури викликали загибель білих мишей при внутрішньоочеревинному зараженні. Це свідчить про виражену токсичність виділених компонентів (табл. 2).

Таблиця 2 – Залежність вірулентності штамів Pasteurella haemolytica від токсинування

Проба	Кількість білку в пробі, мкг/мл	Кількість вуглеводів в пробі, мкг/мл	Загибель білих мишей	
			До зараження	Після зараження
Осад (діалізований)	250,0	75,0	0/6	4/6
Супернатант (діалізований)	262,5	80,0	0/6	6/6

Примітка: чисельник – кількість загблих мишей; знаменник – кількість мишей використаних у досліді.

Висновки. Отже, отримані результати дають можливість стверджувати, що об'єднані фракції осаду викликають загибель 66,6 % заражених білих мишей, а об'єднані фракції супернатанту – 100 % тварин. Тобто, як виділені фракції осаду, так і супернатанту проявляють токсичну дію по відношенню до білих мишей.

Перспективи подальших досліджень. У подальшому планується дослідити конкуренцію антигену токсину та мікробної клітини в експериментальних зразках вакуумних препаратів.

Список літератури

1. Donko, T. Association of growth performana with atrophie rhinitis and pneumonia detected aslaughte in a conventional pig herd in Hungary / T.Donko, M. Kovacs, T. Magyar // Acta.Veter. hung. – 2005. – V.53,N 3 – P. 287-298. 2. The genome sequence of Mannheimia haemolytica A 1: In sight into Virulence, Natural Competence and Pasteurellaceae Phylogeny / J.Gioia, X.Qin, H. Jiang [et al.] // Journal of Bacteriology. – 2006. – V.188, N 20. – P. 7257-7266.

BIOLOGICAL PROPERTIES SWINE'S PASTEURELLA HAEMOLYTICA TOXINS

Mazur T.V., Sorokyna N.G.

National university of life and environmental sciences, Kyiv

P. haemolytica synthesizes leycotoxin of calcium-dependent cytotoxin group. Biochemical structure and antigenic characteristics of these factors of microorganism pathogenicity haven't been determined.