

14. Авдиенко В. А. Лечение собак при демодекозе, осложненном стафилококкозом / В. А. Авдиенко // Ветеринария. – 2005. - №7. – С. 14-16.
15. Палунина В.В. Микрофлора кожи больных дерматитом собак / В.В. Палунина, Н. С. Трошева // Международная научно-произ. конф. «Актуальные проблемы ветеринарной патологии и морфологии животных» - Воронеж, 2006. – С. 749-750.
16. Головки А. Етіотропна терапія собак при стафілококкових і стрептококкових інфекціях / А. Головки, В. Ушкалов, В. Соломоненко // Матеріали 8 міжнар. науково-практ. конф. «Проблеми ветеринарного обслуговування дрібних домашніх тварин». – 2003. – С. 11-14.
17. Головки А. Н. Конструирование иммунизирующего препарата против стрепто- и стафилококковых инфекций собак / А. Н. Головки, В. А. Ушкалов, В. В. Соломоненко // Матеріали 4 міжнар. науково-практ. конф. «Проблеми ветеринарного обслуговування дрібних домашніх тварин». – 1999. – С.7-8. 18. Игнатов П. Е. Стафилококкоз у собак / П. Е. Игнатов // Ветеринария. – 1994. - №4. – С. 48-50. 19. Коростылева О. А. Течение стафилококкоза у собак и кошек / О. А. Коростылева // Ветеринария. – 2007. - №1. – С. 52-53. 20. Авдосьева І. К. Мікробіологічний моніторинг при різних патологіях собак / І. К. Авдосьева, О. С. Калініна // Науково-технічний бюлетень. – Вип 9. №4. – Львів, 2008. – С. 289-292.

МИКРОБНЫЙ ПЕЙЗАЖ ПРИ СТАФИЛОКОККОЗЕ СОБАК

Руденко В. Б., аспирантка, pavel_sx@mail.ru

Луганский национальный аграрный университет, г. Луганск

Анотация. В статье приведены данные по анализу видового состава возбудителей стафилококкоза собак. Показано, что наибольшее значение имеет грамположительная микрофлора, при этом ведущее место занимают представители рода стафилококков.

Ключевые слова: стафилококкоз, бактериальные ассоциации, микрофлора.

MICROBIAL LANDSCAPE FOR STAPHYLOCOCCOSIS DOGS

Rudenko V. B., post-graduate student, pavel_sx@mail.ru

Lugansk National Agrarian University, Lugansk

Summary. The paper presents data on the analysis of species composition of pathogens staphylococcosis dogs. It is shown that the most important gram-positive microorganisms, with the leading place of the genus Staphylococcus.

Key words: staphylococcosis, bacterial association, microflora.

УДК 619:616.98:578.823.2:636.52/.58

ОЧИЩЕННЯ ТА КОНЦЕНТРУВАННЯ АНТИГЕНУ РЕОВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ ПТИЦІ ДЛЯ КОНСТРУЮВАННЯ ДІАГНОСТИКУМУ ІФА

Рябінін С. В.

Інститут птахівництва НААНУ, с. Борки

Анотація. Випробувано два методи очищення та концентрування антигену реовірусної інфекції птиці з використанням ультрацентрифугування матеріалу та обробки його хлороформом на стадії попереднього очищення та з використанням ультрацентрифугування та обробки ультразвуком. Проведено порівняльний аналіз очищених антигенів при сенсibiliзації їх на планшеті та постановці реакції непрямого імуноферментного аналізу та проведена оцінка стабільності антигену.

Ключові слова: очищення та концентрування антигену, імуноферментний аналіз, ультрацентрифугування.

Актуальність проблеми. Для успішної боротьби з реовірусною інфекцією необхідні засоби профілактики, а також системи швидкої і якісної діагностики. Для ретроспективної діагностики реовірусної інфекції використовують реакцію нейтралізації (РН), реакцію дифузної преципітації (РДП) та імуноферментний аналіз (ІФА) [4,5,7]. Перевагами ІФА – є висока чутливість та специфічність, які досягаються шляхом високого ступеня очищення та концентрування антигену, який використовується в постановці реакції [1,2,6].

Метою наших досліджень було отримання концентрованого та високоспецифічного препарату реовірусу птиці, який був би придатний для розробки вітчизняної діагностичної тест – системи на основі непрямого варіанту ІФА.

Матеріали і методи досліджень. В дослідженнях були використані патогенні штами реовірусу: штам „1733”, який був виділений Rosenberger [7] у 1983 році в Голандії від хворих курчат, отриманий у ВГНКИ (м. Москва), та штам Br – 06, який був виділений у ІП УААН від курчат-бройлерів в 2006 році, та ідентифікований ВНДІЗТ (м. Володимир). Штами депоновані в Державному науково – контрольному інституті біотехнології і штамів мікроорганізмів в липні 2008 року і зберігаються у відділі профілактики хвороб птиці ІП УААН у ліофільно висушеному стані при температурі -20°C . В якості вірусного матеріалу використовували культуральну суспензію після 3-х денного накопичення, яка містила $10^{6,5}$ ТЦД₅₀/мл вірусу.

Мікроскопію зразків здійснювали за допомогою електронного мікроскопу ПЭМ-125К при прискорюючому напруженні 75 kV, що має в своєму складі систему зйомки та аналізу зображення CAI - 01A (АО “SELMI”, м. Суми) на основі CCD камери DX - 2.

Електронна мікроскопія здійснювалася за допомогою методу негативного контрастування [3].

Результати досліджень. З метою звільнення вірусу, клітинний дебрис заморожували на стінках ролерних флаконів при -20°C з наступним відтаюванням до 4°C , тричі.

Подальше очищення та концентрування проводили за двома методиками:

Перша методика. Попереднє очищення проводилося з використанням хлороформу (20% від загального об'єму) та низькошвидкісного центрифугуванні (2000g 15-20 хвилин). Далі супернатант обробляли 7% поліетиленгліколем (ПЕГ 6000) та центрифугували при (5000g) протягом 40 хвилин, осад ресуспензували в TSE – буфері (pH 7,6) із розрахунку 1/20 від вихідного об'єму.

На завершальному етапі вірус осаджували через розчин 30% - і сахарози при 70000g на ультрацентрифузі протягом 3 годин, отриманий осад ресуспензували в TSE – буфері (pH 7,6).

Друга методика очищення відрізнялася від першої тим, що на етапі попереднього очищення обробки хлороформом не було, використовували обробку вірусвміщуючого матеріалу 7 % поліетиленгліколем (ПЕГ 6000) та центрифугуванням його при 17000g, далі матеріал обробляли ультразвуком (22 кГц). Заключний етап очищення вірусу не відрізнявся.

Активність та чистоту отриманих препаратів контролювали під електронним мікроскопом (рис. 1).

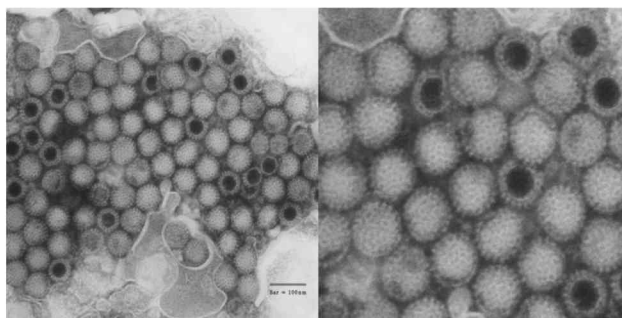
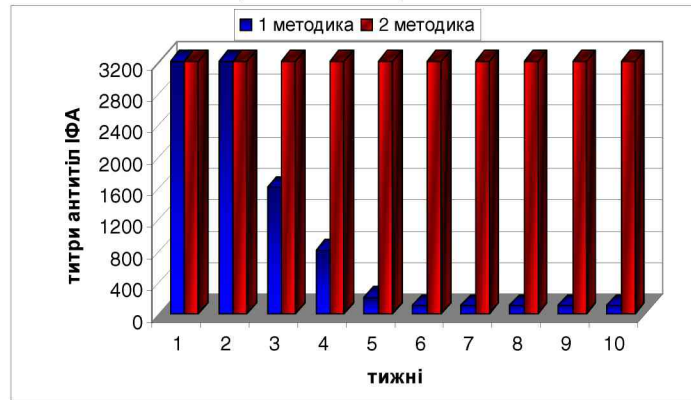


Рис. 1. Електронна мікроскопія реовірусу.

Отримані антигени сенсibilізували на планшети у концентрації 0,02-0,05 мг/мл та проводили непрямий варіант ІФА. Позитивні референтні сироватки показували титри не менше 1:3200. Специфічні гетерологічні сироватки, що входять до складу комерційних наборів фірми BioCheck та «Сінко» ВНДІЗТ (для визначення антитіл до інфекційного бронхіту курей, синдрому зниження несучості, мікоплазми, ньюкаслської хвороби, хвороби Гамборо) мали негативні титри, що вказує на специфічність отриманих препаратів антигену по відношенню до гомологічних антитіл.

При оцінці стабільності антигенів, при зберіганні на планшетах, отримані препарати реовірусного антигену показали різні результати. Перевірку проводили через кожні 7 днів протягом 10 тижнів в умовах штучного старіння. Активність реовірусного антигену, очищеного та концентрованого з використанням ультразвуку, протягом досліджуваного періоду не знижувалася.

При використанні в якості антигену для сенсibiliзації планшетів препарату отриманого очищенням хлороформом, вже після 4-го тижня зберігання спостерігалось значне зниження активності в ІФА.



Отримані результати свідчать про те, що краще використовувати у подальшій роботі очищення антигену реовірусу птиці з використанням ультразвуку (друга методика).

Висновки

При очищенні антигену реовірусної інфекції птиці з використання ультразвуку було отримано високостабільний препарат концентрованого антигену, придатний для конструювання набору ІФА з метою виявлення антитіл до збудника реовірусної інфекції птиці у сироватках крові курей.

Література

1. Гусев А.А., Панин А.Н. /Методические указания по диагностике заболеваний сельскохозяйственных животных иммуноферментным методом [Текст]: методические указания / ФГУ ВНИИЗТ. - Владимир. – 1998. - С.53-57.
2. Егоров А.М., Осипов А.П., Дзантиев Б.Б., Гаврилова Е.М. [Текст] /Теория и практика иммуноферментного анализа.- Москва «Высшая школа» - 1991.- С.77-83.
3. Королев М.Б. Электронно-микроскопические методы выявления вирусов / М.Б. Королев // Итоги науки и техники, сер. Вирусология, т. 9 – М.: – 1980. – С. 114-157.
4. Сюрин В.Н., Самуйленко А.Я., Соловьев Б.В. Реовирусная инфекция кур [Текст] /Кн. Вирусные болезни животных.-1998. - М.,-С.17-20.
5. Erriguez C. Rearreglo genetico en reovirus aviares [Text] /C.Erriguez,G.Wilcox //Avian Pathol.- 1990.V.19. - P.477-487.
6. Hung J.L. Development of an ELISA for detection of antibodies to avian reovirus in chickens [Text] / J.L. Hung, C.K. Liam, H.L. Ming // Journal of Virological Methods. - 2002. - P. 129-138.
7. Rosenberger J.K., Olson N.O. Вирусный артрит [Текст] / Кн. под ред. Кэлнека Б.У.,-М., - 2003. - С.819-828.

ОЧИЩЕННЯ ТА КОНЦЕНТРУВАННЯ АНТИГЕНУ РЕОВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ ПТИЦІ ДЛЯ КОНСТРУЮВАННЯ ДІАГНОСТИКУМУ ІФА Рябiнiн С. В.

Інститут птахівництва НААНУ

Анотация. Испытано два метода очистки и концентрирования антигена реовирусной инфекции птицы с использованием ультрацентрифугирования материала и обработки его хлороформом на стадии предварительной очистки, а также с использованием ультрацентрифугирования и обработки ультразвуком. Проведен сравнительный анализ очищенных антигенов при сенсibiliзации их на планшеты и постановке реакции непрямого иммуноферментного анализа и проведена оценка стабильности антигена.

Ключевые слова. Очистка и концентрирования антигену, иммуноферментный анализ, ультрацентрифугирование.

CLEANING AND CONCENTRATION OF THE ANTIGEN OF THE REOVIRUS INFECTION OF BIRDS FOR CONSTRUCTING THE ELISA DIAGNOSTICUM Ryabinin S.V.

Poultry Research Institute of the National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine
Summary. It has been tested two methods of cleaning and concentration of the antigen of the avian

reovirus infection using ultracentrifugation of the material and its treatment by chloroform at the stage of preliminary cleaning and also with the use of ultracentrifugation and treatment of supersound. It has been carried out the comparative analyze of cleaned antigens when stabilizing them on plane-tables and obtaining the reaction of the indirect immunoferment analyze. The estimation of the antigen stability was carried out.

Key words: cleaning and concentration of the antigen, immunoferment analyze, ultracentrifugation.

УДК 636.09:582.28.636.2

АНАЛІЗ ПЕРІОДИЧНОСТІ ЕПІЗООТІЇ СКАЗУ У КІРОВОГРАДСЬКІЙ ОБЛАСТІ

Савенко М.М., к. вет. наук, доцент,
Гетманець О.М. к. ф.-м. наук, доцент,
Смолянiнов В.К., к. вет. наук, доцент,
Савенко О.М., аспірант,
Слесарєва А.М. ветеринарний лікар,
zoovet@zoovet.kharkov.ua

Харківська державна зооветеринарна академія, м. Харків

Анотація. Проведено часовий аналіз даних епізоотологічних досліджень прояву сказу серед різних видів тварин в Кіровоградській області з 2000 по 2009 рік. Визначені основні періоди епізоотичного процесу.

Ключові слова: сказ, епізоотія, періодичність, сезонність, циклічність.

Актуальність проблеми. Проблема сказу як зооантропонозної хвороби різних видів тварин в Україні на сьогодні є надзвичайно актуальною. В зв'язку з цим останнім часом зустрічається значна кількість публікацій з аналізом епізоотичних особливостей цього захворювання в різних регіонах України і за кордоном [1, 4, 6, 7, 8]. Тим більше, що останнім часом опубліковано ряд робіт що просліджують зв'язок між періодами збільшення захворювання тварин сказом і прояву зараження людей [1, 2, 3].

Більшість дослідників відзначають періодичний, циклічний і сезонний характер епізоотії сказу у тварин, зокрема, указуються періоди спалахів захворювання від 2 до 4 років [1, 4, 6, 7, 8]. Проте природа такого перебігу епізоотії до теперішнього часу остаточно не з'ясована.

Завдання дослідження. Метою даної роботи було виявлення характерних періодів епізоотії сказу в Кіровоградській області серед різних видів сільськогосподарських, домашніх і диких тварин на основі результатів вірусологічних досліджень.

Матеріали і методи досліджень. При виконанні досліджень були використані матеріали офіційної звітності ветеринарних служб Кіровоградської області. Для обробки даних застосовувалися методи статистичного аналізу часових рядів [5].

Результати досліджень. Робота є результатом аналізу спостережень, які було проведено в Кіровоградській області за 10 років. Представлені дані по сказу серед різних видів тварин охоплюють період з 2000 по 2009 рік (табл. 1).

Таблиця 1

Динаміка сказу тварин в Кіровоградській області за 2000 -2009 рр.

Вид тварин	роки									
	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009
Коти	6	23	13	25	11	29	42	10	11	3
Собаки	9	14	6	14	6	11	33	9	12	3
Лисиці	9	11	14	19	14	46	52	28	9	9
Вовки	-	-	1	-	-	-	2	1	-	-