

УДК: 619:653.31:636.4

О. А. ТАРАСОВ, кандидат ветеринарних наук,

В. П. САПЕЙКО, кандидат ветеринарних наук,

Т. В. СИДОРЕНКО

Інститут ветеринарної медицини НААН, м. Київ

ВИВЧЕННЯ БІОЛОГІЧНИХ, ФЕРМЕНТАТИВНИХ ТА АНТИГЕННИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ІЗОЛЯТІВ ЗБУДНИКА СТРЕПТОКОКОЗІВ СВИНЕЙ

В статті наведені результати досліджень щодо вивчення біологічних, ферментативних та антигенних властивостей збудника стрептококозів свиней

*Ізоляти *S. suis* не відрізнялись за морфологічними, культуральними та ферментативними властивостями. Вони ферментували аргінін, саліцин, глікоген, D-глюкозу, цукрозу, галактозу, мальтозу, саліцин, трегалозу, інулін, із позитивними реакціями на α -галактозидазу, β -глюкуронідазу та лейцин-ариламидазу.*

*Антигени високопатогенних ізолятів *S.suis* 11, 19 та 21, характеризувались вираженою антигенною активністю як по відношенню до гомологічних сироваток, так і по відношенню до сироваток, отриманих на досліджувані 17 патогенних ізолятів, які відрізнялися за ознаками патогенності..*

Ключові слова: стрептококи, антигенні властивості, стрептококоз свиней

Збудник стрептококозів свиней є одним із небезпечних антропозоонозних патогенів, актуальних не тільки для свинарства, а й для гуманної медицини.

Збудниками стрептококових захворювань поросят вважаються стрептококи S та R серогруп (типу 2) [1-4]. За даними літератури, найбільшу небезпеку становлять збудники стрептококозів, що відносяться до серотипу 2 (майже 80% всіх ізолятів)[4-6]. В даний час за кордоном інтенсифіковано проводяться дослідження по створенню та випробуванню вакцин для специфічної профілактики стрептококозів [2, 7, 8].

Захворюваність свиней на стрептококоз не тільки наносить значні прямі збитки, а й сприяє поширенню вірусних інфекцій, зокрема РРСС, який зареєстровано у 80% випадків на фермах, уражених стрептококозом [8-10].

Таким чином, для створення ефективних засобів активної профілактики даного захворювання необхідний комплексний підхід щодо вивчення патогенних ізолятів *S.suis* і відбору найбільш антигенно активних штамів, які характеризуються високою протективною здатністю по відношенню до серотипів, які циркулюють в господарствах, уражених стрептококозом.

Актуальність досліджень полягає в тому, що реалізація даного завдання надасть змогу забезпечити благополуччя свинарства від захворювання на стрептококоз та підвищить ефективність ведення свинарства.

Мета дослідження Провести дослідження біологічних, ферментативних та антигенних властивостей ізолятів збудників стрептококозів свиней з різних регіонів України, з урахуванням особливостей перебігу хвороби

Об'єкт дослідження: штами та ізоляти *Streptococcus suis*

Матеріали та методи дослідження: при виконанні поставлених завдань використовували наступні методи досліджень та підходи виділення та культивування ізолятів та музейних штамів збудника стрептококозів свиней проводили в використанні загальноприйнятих мікробіологічних методів та середовищ.

В роботі використовували штами та ізоляти *Streptococcus suis*, що виділені фахівцями лабораторії біотехнології бактеріальних препаратів зберігаються та підтримуються в Інституті ветеринарної медицини. Для проведення досліджень використовували патогенні ізоляти стрептококів від свиней (всього 7 високопатогенних).

Імуноферментний аналіз (ІФА) проводили за стандартним протоколом на 96 лункових стрипованих полістиролових планшетах (Titertek).

Антиген *S.suis* для імобілізації наносили в концентраціях 0,5 мкг білка на лунку в карбонатному буфері та інкубували при +37°C впродовж 1 години. Розведення досліджуваних сироваток мишей робили тільки на блокуючому буфері.

Зараження мишей здійснювали шляхом підшкірного та внутрішньочеревного введення за висі різних концентрацій культур стрептококів у дозі по 0,2 см³. Облік результатів проводили врахуванням кількості загиблих мишей у відповідності до введених концентрацій збудника. Визначення ступеню патогенності *S. suis* проводили за умовною 4-ч груповою схемою: високо вірулентні (LD₅₀ – до 10² КУО на 1 гол), середньо вірулентні (LD₅₀ – до 10⁴ КУО на 1 гол), слабо вірулентні (LD₅₀ – більше 10⁴ КУО на 1 гол), авірулентні (загибель тварин відсутня).

Результати досліджень

Переважає більшість виділених нами ізолятів *S. suis* було віднесено нами до серотипу 2. За аналізом літературних даних, більшість авторів саме цей серотип вважають головним інфекційним фактором при захворюванні свиней на стрептококоз (Aarestrup et al. 1998; Gottschalk and Segura, 2000) [1, 8].

При дослідженні виділених нами ізолятів на мишах було встановлено, що не всі із них мали високу патогенність та здатність викликати захворювання у лабораторних тварин.

Важливим є факт, що збудник *S. suis* має властивість персистувати у здорових тварин без прояву клінічних ознак захворювання, у яких немає ознак захворювання. Однак зразки патологічного матеріалу, отримані з мозку загиблих поросят, свідчать про безпосередню участь збудника стрептококозу в розвитку інфекційного процесу, а саме: в розвитку енцефаломієліту.

Для визначення ступеню патогенності музейних штамів збудника *S. Suis* за LD₅₀ була проведена серія дослідів на мишах. В результаті проведених досліджень встановлено, що найвищою патогенністю характеризувалися 16 ізолятів *S. suis* (LD₅₀ для білих мишей становила менше 100 бактерійних клітин на голову).

Однак, слід врахувати, що патогенність кокової мікрофлори залежить від умов культивування та зберігання.

Таким чином, результати досліджень дозволили охарактеризувати штами та місцеві ізоляти *S.suis*. Наступними етапами планується провести дослідження антигенних та молекулярно-генетичних властивостей збудника, що дозволить забезпечити ефективний моніторинг за циркуляцією та мінливістю збудника стрептококозів свиней на території України та вдосконалити засоби специфічної імунопрофілактики в Україні.

В результаті проведеної серії дослідів з вивчення антигенних властивостей ізолятів збудника стрептококозів свиней 17 патогенних ізолятів із застосуванням гомологічних та гетеро логічних сироваток та відібрано 6 ізолятів *S.suis*, які проявили найвищу антигенну активність у відношенні як гомологічних, так і гетерологічних сироваток крові лабораторних тварин. В подальших дослідженнях будуть вивчені молекулярно-біологічні властивості щодо основних протективних антигенів та буде проведено кореляцію між антигенною активністю та

варіюванням ділянок геному, що відповідають за продукування антигенів, важливих при створенні засобів специфічної профілактики.

Для більш повного порівняння антигенної активності 6 найбільш антигенноактивних ізолятів *S.suis*, відповідні антигени вносили у лунки планшет в кількостях 0,5 та 1,0 мкг та додавали гіперімунну сироватку крові мишей, отриману на штами *S.suis* в розведенні 1:320.

У результаті проведених дослідів встановлено низьку антигенну активність ізолятів № 8, 14, 20, 31 в реакції з гомологічною сироваткою, в той час як їх активність з сироваткою на референт-штам виявилася високою. Ізоляти 11, 19 та 21 проявили однаково високу активність як на сироватку крові, отриману на гомологічний антиген, так і на гетерологічні антигени (рис.1 та рис.2).

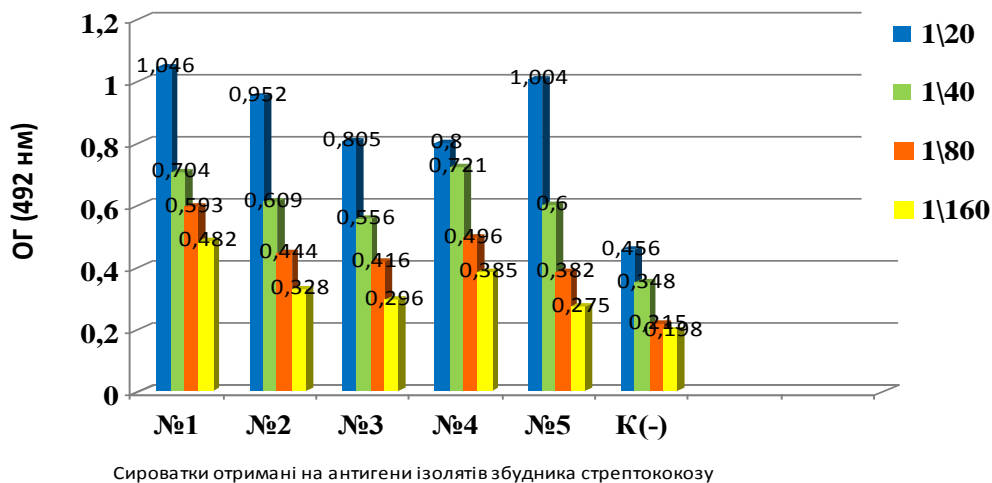


Рис. 1. Антигенна активність *S.suis* (ізолят 11) у відношенні до сироваток на антиген п'яти польових ізолятів

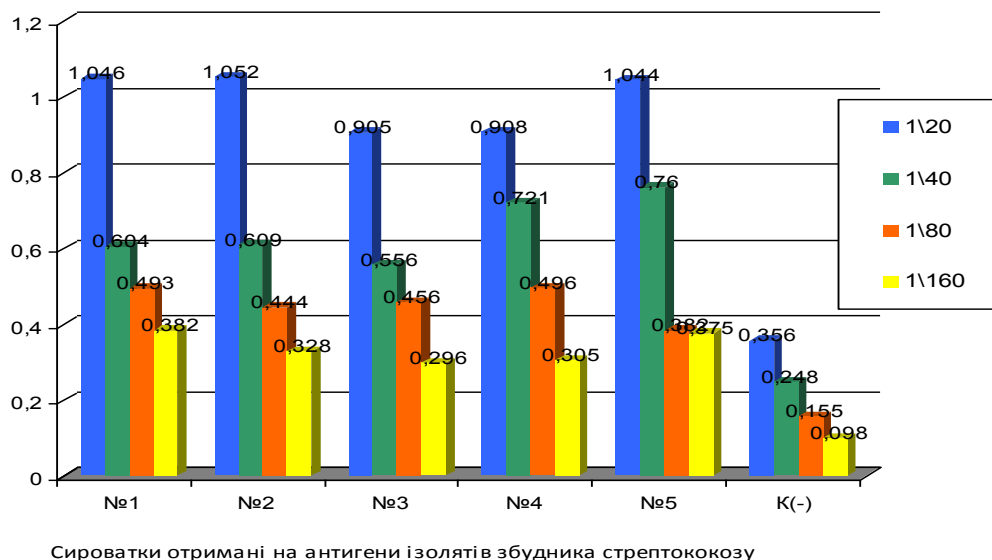


Рис. 2. Антигенна активність *S.suis* (ізолят 19) у відношенні до сироваток на антиген п'яти польових ізолятів

Відносно низька антигенна активність по відношенню до власної сироватки та висока – до іншої досліджуваної, на нашу думку, свідчить про те, що мікроорганізми високовірулентних ізолятів несуть на своїй поверхні приблизно таку ж кількість антигенних детермінант, але вони, ймовірно, значно гірше презентовані (антигени занурені вглиб капсули, невідгидне просторове розташування білкових антигенів).

У результаті проведених досліджень нами було встановлено пряму кореляцію між біологічними властивостями (ступінь вірулентності для лабораторних тварин) та антигенними властивостями у реакції ІФА (непрямий варіант). Антигени високопатогенних ізолятів *S.suis* 11, 19 та 21, характеризувались вираженою антигенною активністю як по відношенню до гомологічних сироваток, так і по відношенню до сироваток, отриманих на досліджувані 17 патогенних ізолятів, які відрізнялися за ознаками патогенності.

Висока антигенна активність з гомологічними та гетерологічними специфічними сироватками є однією з ознак, за якими ми підбирали штами – кандидати для наступного створення вакцини проти стрептококозів свиней.

Перспектива подальших досліджень Результати досліджень будуть використані нами при підборі штамів для подальшого виготовлення експериментальних серій вакцин та контрольних заражаючих при дослідженні імуногенності та протективних властивостей вакцин

Висновки

1. Вивчено культуральні, морфологічні, біохімічні, ферментативні та біологічні властивості ізолятів збудника стрептококозів свиней та відібрано 16 високопатогенних.

2. Ізоляти *S. suis* не відрізнялись за морфологічними, культуральними та ферментативними властивостями. Вони ферментували аргінін, саліцин, глікоген, D-глюкозу, цукрозу, галактозу, мальтозу, саліцин, трегалозу, інулін, із позитивними реакціями на α -галактозидазу, β -глюкуронідазу та лейцин-ариламідазу.

3. Антигени високопатогенних ізолятів *S.suis* 11, 19 та 21, характеризувались вираженою антигенною активністю як по відношенню до гомологічних сироваток, так і по відношенню до сироваток, отриманих на досліджувані 17 патогенних ізолятів, які відрізнялися за ознаками патогенності.

Перелік посилань

1. Aarestrup, F. M., Jorsal, S. E., Jensen, N. E., Serological characterization and antimicrobial susceptibility of *Streptococcus suis* isolates from diagnostic samples in Denmark during 1995 and 1996. // Vet. Microbiol. 1998.-№ 60ю –P. 59-66.

2. Amass, S. F., Clark, L. K., Wu, C. C., Source and timing of *Streptococcus suis* infection in neonatal pigs: implications for early weaning procedures. // Swine Health Prod.- 1995.- №3. –P. 189-193.

3. Chanter, N., Jones, P. W., Alexander, T.J., Meningitis in pigs caused by *Streptococcus suis* - a speculative review. //Vet. Microbiol. - 1993.- №36. – P. 39-55

4. Charland, N., Harel, J., Kobisch, M., Lacasse, S., Gottschalk, M., 1998. *Streptococcus suis* serotype 2 mutants deficient in capsular expression. //Microbiology – 1998. – №144.– P. 325-332.

5. Chengappa, M. M., Maddux, R. L., Kadel, W. L., Greer, S. C., Herren, C.E., *Streptococcus suis* infection in pigs: incidence and experimental reproduction of the syndrome. //Proc. Annu. Meet. Am. Assoc. Vet. lab. Diagn. – 1986 – P. 25-38.

6. Clifton Hadley, F. A., Alexander, T. J. L., Studies of *Streptococcus suis* type 2 infection. // Pig Veterinary Society Proceedings. – 1981.- №8. – P. 8-17.

7. Cook, R.W., Jackson, A.R., Ross, A.D., *Streptococcus suis* type 1 infection of sucking pigs. // Aust. Vet. J. – 1988. №65. –P. 64-65.

8. Gottshalk M., Segura M., The pathogenesis of meningitis caused by streptococcus suis: the unresolved questions.// Vet. Microbiol. – 2000., v.76. – P.259-272

9. Mwaniki C. G., Robertson I.D., Hampson D.J. The prevalence of *Streptococcus suis* type 2 in Western Australian piggeries //Aust. Vet. J.– 1994. – v. 71. – P.385-386.

10. Sanford S. E., Higgins R. Streptococcal diseases. In: Leman A.D., Taylor D.J. (Ed.) Diseases of swine. – Ames: Iowa state Univ., 1992. – P.588-590.

ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТАТИВНЫХ И АНТИГЕННЫХ СВОЙСТВ ИЗОЛЯТОВ ВОЗБУДИТЕЛЯ СТРЕПТОКОККОЗОВ СВИНЕЙ /Тарасов А., Сапейко В., Сидоренко Т..
Институт ветеринарной медицины НААН

В статье приведены результаты исследований по изучению биологических, ферментативных и антигенных свойств возбудителя стрептококкозов свиней

Изоляты S. suis не отличались по морфологическим, культуральным и ферментативным свойствам. Все они ферментировали аргинин, салицин, гликоген, D-глюкозу, сахарозу, галактозу, мальтозу, трегалозу, инулин, с позитивными реакциями на α -галактозидазу, β -глюкуронидазу та лейцин-ариламидазу.

Антигены высокопатогенных изолятов S. suis 11, 19 та 21, характеризовались выраженной антигенной активностью по отношению до гомологичных сывороток крови, так и до сывороток, полученных на исследованные 17 патогенных изолятов, которые отличались по патогенности.

Ключевые слова: стрептококи, антигенные свойства, стрептококкоз свиней

THE ROLE OF SWINE STREPTOCOCCOSIS CAUSATIVE AGENT IN INFECTION DISEASES OF BACTERIOAL ETHIOLOGY/ Tarasov O., Sapeiko V., Sidorenko T.

The article presents the results of studies on the biological, enzymatic and antigenic properties of the causative agent of swine streptococcosis

Isolates of S. suis did not differ in morphological, cultural and enzymatic properties. They are all fermented arginine, salicin, glikogen, D-glucose, sucrose, galactose, maltose, trehalose, inulin, with a positive tests on α -galactosidase, β -glucuronidase is the leucine-arilamidazu.

Antigens high pathogenic isolates of S. suis 11, 19 is the 21, were characterized by high antigenic activity with the homologous sera and to the sera obtained toward of the 17 pathogenic isolates studied, which was different in their pathogenic abilities..

Keywords: streptokoki, antigenne property, swine streptococcosis.

Рецензент– кандидат ветеринарных наук **В. В. Уховський**