

УДК: 636.09

СПЕЦИФІЧНІ ПАТОЛОГОАНАТОМІЧНІ ЗМІНИ У АБОРТОВАНИХ ПЛОДІВ ЛОШАТ ПОЗИТИВНИХ НА ГЕРПЕСІНФЕКЦІЮ КОНЕЙ І ТИПУ У НАПІВГНІЗДОВІЙ ПЛР

Белендик І.В.¹, Синицин В.А.

Інститут ветеринарної медицини НААНУ, м. Київ

У статті наведено специфічні патологоанатомічні зміни у абортіваних плодів лошат на 6-9 місяці вагітності та результати, отримані при перевірці відібраного від них патологічного матеріалу в реакції напівгніздової ПЛР по виявленню ДНК вірусу герпесу коней І типу, а також результати щодо виділення вірусу на культурі клітин Vero.

Герпесвірусна інфекція коней І типу – це гостре вірусне захворювання, викликане вірусом родини Herpesviridae, підродини Alphaherpesvirinae, роду Varicellovirus. Хвороба може перебігати в таких формах: респіраторній, спонтанних абортів, нервовій. Інфекція також неприємна тим, що має латентний перебіг і може циркулювати в господарстві тривалий час виявляючи себе лише спонтанними абортами, респіраторними хворобами і рідше поодинокими випадками нервової форми. Особливо спостерігають її спалахи при зниженні імунітету тварин. Сприяють цьому неналежні умови утримання, незбалансована годівля, великі фізичні навантаження (перед змаганнями у спортивних коней, а навесні і восени у робочих).

Матеріали і методи. Об'єктом вивчення були 4 абортівані плоди лошат (№ 1-3 на 8-9 місяці вагітності, № 4 – на 6 місяці) з Сумської і Київської областей.

Від абортіваних плодів відібрали шматочки пуповини та навколоплідної оболонки. Патологічний матеріал промивали 2-3 рази стерильним розчином Хенкса, зважували, подрібнювали стерильними ножицями, додавали стерильний розчин Хенкса з розрахунку 1:10 (до отримання 10% суспензії), гомогенізували у фарфоровій ступці з додаванням битого скла. Рештки тканин та скло у пробі осаджували центрифугуванням (3 тис. об./хв. протягом 10 хв.). Від отриманого супернатанта відбирали пробу для виділення віріонної ДНК в реакції напівгніздової ПЛР за допомогою комерційного набору “ДНК-сорб”, а до решти додавали антибіотики (пеніцилін+стрептоміцин) і використовували для виділення вірусу на культурі клітин.

Даний метод досліджень відрізняється від інших існуючих методів ПЛР застосуванням трьох праймерів, з яких створено дві пари.

Праймери специфічні до глікопротеїну Н (gH). Цю модифікацію використовують для підвищення чутливості системи індикації, для визначення видів, серотипів та сероваріантів. На цей метод діагностики отримано патент України на корисну модель № 30959.

Крім цього, також проводили виділення вірусу на культурі клітин Vero. Від супернатанту відбирали по 0,2 мл суспензії та заражали культуру клі-

¹ Науковий керівник — Синицин В.А., доктор ветеринарних наук, завідувачий сектором вірусології і діагностики Інституту ветеринарної медицини, м. Київ

тин Vero на пробірках, котрі залишали на 45 хвилин у термостаті за температури 37⁰С для абсорбції вірусу на клітинах. Потім суспензію зливали і додавали 0,9 мл середовища 199 і 0,1мл сироватки крові й залишали в термостаті на 5 днів з щоденною мікроскопією культури на наявність ЦПД. Перед кожним наступним пасажуванням культуру клітин триразово заморожували-розморозували (для виходу вірусу із клітин).

Результати досліджень відображено в таблиці. При ретельному огляді трьох абортіваних плодів лошати було помічено на пуповині й на навколоплідній оболонці прозорі пухирці, дуже схожі на герпетичні, а саме: круглої форми і з прозорою рідиною всередині. Розмір їх коливався від 0,01-0,1 см, розташовані на поверхні. Четвертий абортований плід лошати не мав таких пухирців на пуповині й на навколоплідній оболонці. В таблиці 1 наведені результати огляду та дослідження в напівгніздовій ПЛР патологічного матеріалу.

Таблиця – Результати огляду та дослідження в ПЛР патологічного матеріалу:

| <i>Досліджуваний матеріал</i> | | <i>Патологоанатомічні зміни (прозорі пухирці)</i> | <i>Напівгніздова ПЛР</i> |
|-------------------------------|------------------------|---|--------------------------|
| №1 | пуповина | + | + |
| | навколоплідна оболонка | + | + |
| №2 | пуповина | + | + |
| | навколоплідна оболонка | + | + |
| №3 | пуповина | + | + |
| | навколоплідна оболонка | + | + |
| №4 | пуповина | - | - |
| | навколоплідна оболонка | - | - |

На п'ятому пасажі матеріалу від другого абортованого плоду (пробірки з матеріалом від пуповини (4 шт.) і навколоплідної оболонки (4 шт.) було відмічено ЦПД, в контролі культур клітин змін не виявлено. Цитопатична дія проявлялась в округленні, зморщенні клітин, у середовищі плавали загиблі клітини. В інших пробірках досліди було продовжено до 7 пасажу.

Висновки та перспективи подальших досліджень. 1. Виявлено патологоанатомічні зміни на пуповині й навколоплідній оболонці у абортованого плоду лошати у вигляді дрібних прозорих пухирців.

2. Підтверджено наявність вірусу герпесу коней 1 типу в абортованого плоду лошати під №2 в реакції напівгніздової ПЛР та в культурі клітин Vero, у відповідності до наявності специфічних герпетичних пухирців на пуповині і навколоплідній оболонці.

У перспективі слід провести гістологічні дослідження виявлених уражень на пуповині й навколоплідній оболонці, продовжити виділення вірусу з отриманого патологічного матеріалу, накопичення ізоляту для подальшого його вивчення.

Список літератури

1. Полімеразна ланцюгова реакція у практиці ветеринарної медицини / Б.Т.Стегній, А.П. Герілович, О.Ю. Лимарська та ін. — Харків, 2006. — 108с. 2. Виявлення герпесвірусу 1 типу за допомогою напівгніздового методу полімеразної ланцюгової реакції / І.В. Белендик, М.О. Беднов, О.М. Дерябін та інші. — Ветеринарна біотехнологія — № 12., Київ Дорадо, 2008. — С.28-33. 3. Діагностика респіраторних вірусних хвороб коней на основі сучасних біотехнологічних методів / М.В. Пекний, В.В. Кулікова, І.В. Белендик та інші. — Ветеринарна медицина, № 88., Харків, 2007. — С.171-174. 4. Detection of equine herpesvirus type 1 by real time PCR/ [Elia G. and all].- J.Virol Methods., April 2006.-133(1).-P.70-75. 5. Потоцький, М.К. Герпесвірусні інфекції коней / М.К. Потоцький — Ветеринарна медицина України. № 7, 2003. — С.24-25. 6. Патент України на корисну модель №30959. — МПК (2006) G01N 33/35 A61D 99/00. Спосіб виявлення ДНК вірусу ринопневмонії коней 1-го типу за допомогою ПЛР/ І.В. Белендик; Власник ІВМ УААН. — дата публікації : 25.03.2008 Бюл №6.

SPECIFIC PATHOLOGOANATOMIC CHANGES IN ABORTED FOALS FETUSES POSITIVE TO EQUINE HERPES INFECTION TYPE 1 IN NESTED PCR

Belendyk I.V., Sinitsyn V.A.
Institute of Veterinary Medicine of NAASU, Kiev

The article shows the first time detected specific pathologoanatomic changes in aborted 7-9 months foals and the results obtained during the verification of the pathological material from aborted fetuses by nested PCR for the detection of DNA of equine herpes virus type 1, and the results of viral isolation from the positive samples in Vero cell culture.

УДК 619: 636.2

ВЗАЄМОЗВ'ЯЗОК КІЛЬКОСТІ ПСИХРОТРОФНОЇ ТА ПСИХРОФІЛЬНОЇ МІКРОФЛОРИ МОЛОКА З ПОКАЗНИКАМИ ЙОГО ЯКОСТІ

Бергілевич О.О.¹

Сумський національний аграрний університет

*У даній статті наведено результати лабораторних досліджень проб молока коров'ячого сирого охолодженого, щодо встановлення видового та кількісного вмісту психротрофної та психрофільної мікрофлори. Аналіз отриманих результатів свідчить про те, що найбільш часто з охолодженого молока були виявлені та ідентифіковані мікроорганізми родів *Lactococcus*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas*. Крім того, був вивчених видовий склад асоціації виділених мікроорганізмів (*Lactococcus*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas* (13,4%), *Lactococcus*, *Staphylococcus aureus*, *E. coli* (12,7%), *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas*, *E. coli* (12,3 %)). Встановлено, що наявність в пробах молока коров'ячого сирого охолодженого, що відноситься до першого гатунку мікроорганізми роду *Pseudomonas* негативно впливає на його органолептичні показники.*

Актуальність теми. Згідно з чинними в Україні вимогами молоко коров'яче сире на молокопереробні підприємства повинно поставлятися

¹ Науковий керівник — Касянчук В.В., док. вет. наук, професор Сумського НАУ