

### Розділ 3. Ветеринарна мікробіологія та вірусологія

Таблиця – Визначення впливу хімічних факторів на штами парвовірусів свиней (n=3)

Хімічні речовини	Назва штаму вірусу					
	Дослід			Контроль		
	Інфекційна активність, Іg ТЦД 50/0,2 мл			Інфекційна активність, Іg ТЦД 50/0,2 мл		
	К-5	Е-2	Nadle	К-5	Е-2	Nadle
10 % розчин хлороформу	7,23±0,45	5,10±0,32	7,26±0,34	7,68±0,17	5,32±0,22	7,74±0,20
10 % ефір	7,18±0,50	4,98±0,34	6,84±0,60	7,42±0,24	4,82±0,50	7,33±0,36
10 % етанол	7,26±0,42	4,87±0,45	6,92±0,32	7,49±0,18	5,17±0,15	7,24±0,50
0,1 % β-оксиетилендіамін	7,02±0,38	4,82±0,50	6,98±0,50	7,36±0,32	5,14±0,18	7,48±0,16

**Примітка:** різниця значень показників дослідних тварин (1 група) вірогідна при  $p \leq 0,05$  відносно рівня значень відповідних показників у контролі (2 група).

**Висновок.** Вивчення впливу 10 % хлороформу, 10 % ефіру, 10 % етанолу та 0,1 % розчину β-оксиетилендіаміну на репродукцію та інфекційність польових (Е-2, К-5) і референтного (Nadle) штамів парвовірусу свиней показано, що вони є нечутливими до хімічного впливу означених речовин.

#### Список літератури

1. Siegt, G. The multiplication of parvovirus Lu III in a synchronized culture system. Biochemical characteristics of virus replication [Text] / Siegt G., Gautschi M. // Arch. Gesamte Virusforsch. – 1973/ – V 40. – P. 105-118.
2. Parvoviruses: From Molecular Biology to Pathology and Therapeutic Uses [Text] / Faisst S., Pommelaere J. (eds). Contrib. Microbiol. Basl, Karger. – 2000. V. 4. – 207 p.
3. Mengeling, W.L. Transplacental infection and embryonic death following maternal exposure to porcine parvovirus near the time of conception [Text] / W.L. Mengeling, P.S. Paul, T.T. Brown // Arch. Virol, 1980. – V 65(1). – P. 55-62.
4. Забережний, А.Д. Фізико-хімічні характеристики парвовірусу свиней і його компонентів [Текст]: автореферат дис. біол. наук: 03.00.03/А.Д. Задорожний; [Всевоєзн. ін-т експериментальної ветеринарії ВАСХНІЛ]. – М., 1987. – 24 с.
5. Вирусные болезни животных [Текст] / В.Н. Сюрин [и др.]. – М.: ВНИТИБП, 1998. – С. 573-584.
6. Краснобаева, О.Е. К вопросу о эпизоотологии парвовирусной инфекции свиней (ПВИС) [Текст] / О.Е. Краснобаева // Тезисы докл. 3-й Всес. Конф. По эпизоотологии // Новосибирск, 1991. – С. 235-237.
7. Орлянкин, Б.Г. Патология репродукции свиней [Текст] / Б.Г. Орлянкин // Ветеринария сельскохозяйственных животных. – 2010. – № 7. – С. 7-11.
8. Орлянкин, Б.Г. Вакцина против парвовирусной болезни свиней [Текст] / Б.Г. Орлянкин, В.А. Сергеев // Ветеринария. – 1988. – № 8. – с. 28.

#### STUDY OF EFFECT OF CHEMICAL MATERIALS ON ISOLATES OF SWINE PARVOVIRUSES

**Kol'chyk O.V., Prokhoryatova O.V.**

*National Scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine", Kharkiv*

*Results of investigations concerning the study of effect of chloroform, ether, ethanol and β-oxiethylenediamine on biological properties of field strains of parvovirus K-5, E-2 and referent Nadle are presented in the article. There was determined that effect of its chemical materials not changes infectious properties of parvoviruses.*

УДК 619:615.371:616.98:578.822.2:636.2

#### ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ИНАКТИВИРУЮЩИХ ВЕЩЕСТВ НА ПАРВОВИРУС КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

**Красочко П.А., Симакова Н.М., Сакович А.В.**

*РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышесесского», г. Минск, Республика Беларусь*

В условиях ведения современного животноводства особое место занимают массовые аборт, эндометриты и вагиниты у коров с последующим переболеванием полученного от таких животных молодняка пневмоэнтеритами. Сложность борьбы с комплексом такого рода заключается в трудности диагностирования в следствие полиэтиологичности заболевания: неправильное кормление, выпойка недоброкачественного молозива и молока, скармливание испорченных кормов, а также инфицирование вирусами и бактериями. Важную роль в симптомакомплексах такого плана играет парвовирусная инфекция крупного рогатого скота [1, 2].

Как известно, наиболее эффективным способом борьбы с любым инфекционным заболеванием является специфическая профилактика [3]. В настоящее время с целью профилактики вирусных инфекций сельскохозяйственных животных используется огромное количество, как живых, так и инактивированных вакцин. Несмотря на широкое многообразие, как зарубежных, так и отечественных производителей вакцин, на данном этапе развития науки проблема эпизоотического благополучия хозяйств остается актуальной.

При создании нового вакцинного препарата в первую очередь необходимо взвесить все за и против применения живых и инактивированных вакцин. При использовании живых иммунизирующих препаратов мы получаем более продолжительный и напряженный иммунитет, низкая иммуногенность инактивированных вакцин объясняется применением инактивантов, при введении которых также повышается реактогенность препаратов. Однако живые вакцины обладают рядом отрицательных качеств, которых лишены инактивирования. При введении живых антигенов имеется вероятность того, что они могут приобретать патогенные свойства и вызывать заболевания у иммунизированных животных, живые возбудители длительное время персистируют в организме и, таким образом, может происходить перезаражение не вакцинированного поголовья [3].

Учитывая некоторые отрицательные свойства инактивантов, при их подборе следует обратить внимание на ряд аспектов. Инактивант должен быстро и надежно инактивировать патоген при наименьшем его количестве. О качестве производимой вакцины также судят по иммуногенности и реактогенности, которые зависят от выбранного инактиванта.

Цель работы – изучить влияние различных инактивирующих веществ, используемых при конструировании вакцины на парвовирус крупного рогатого скота

**Материалы и методы исследований.** Исследования проводились в отделе вирусных инфекций РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», виварии института.

Для отработки метода инактивации парвовируса использовали формалин и теотропин в различных их концентрациях.

Формалин – прозрачная, бесцветная жидкость, смешивается со спиртом и водой в различных пропорциях. Действующим началом в формалине является формальдегид (альдегид муравьиной кислоты, метаналь) – газообразное бесцветное вещество с очень характерным резким запахом. Формальдегид инактивирует вирусы благодаря высокой реакционной способности в отношении белков и нуклеиновых кислот. Он вступает в соединение не только с вирусными частицами, но и с многочисленными компонентами среды, в которую его добавляют. Повышение концентрации формальдегида в десять и более раз по сравнению с оптимальной (0,1 %-ной) приводит к морфологическим изменениям поверхностного антигена вируса и снижению его активности, а дальнейшее увеличение продолжительности обработки сопровождается значительным повреждением капсида некоторых вирионов. С целью смягчения повреждающего действия формальдегида на антигенность и иммуногенность вирусов применяют стабилизирующие вещества, что значительно повышает себестоимость такой вакцины [4].

Теотропин – препарат нового поколения, используемый как для дезинфекции животноводческих помещений, а также для инактивации вирусов и бактерий. Активность теотропина обусловлена его способностью проникать в бактериальные клетки и вирусы, взаимодействовать с аминогруппами пуриновых и пиримидановых оснований нуклеиновых кислот, блокируя их матрично-генетическую функцию.

Для инактивации вирусов использовали различные разведения препаратов (от 0,1 до 0,5 %) путем добавления в заранее оттитрованную вирусосодержащую жидкость. Препарат добавляли к парвовирусу до конечных, выше указанных концентраций и выдерживали в термостате при температуре 37 °С при периодическом перемешивании. После контакта в течение 12, 24 и 48 часов проверяли полноту инактивации вирусов, определяя их гемагглютинирующую активность в реакции гемагглютинации.

**Результаты исследований.** Результаты изучения степени инактивации парвовируса при использовании различных инактивирующих веществ представлены в таблице 1 и 2.

**Таблица 1** – Результаты изучения степени инактивации парвовируса при применении формалина в различных концентрациях

№ п/п	Концентрация формалина, %	Время контакта с инактивантом	Титр АГ в РГА (гемагглютинирующая активность)
1	0,1	24 часа	1:512
2	0,1	48 часов	1:512
3	0,2	24 часа	1:128
4	0,2	48 часов	1:16
5	0,3	24 часа	1:8
6	0,3	48 часов	1:8
7	0,4	24 часа	1:8
8	0,4	48 часов	1:8
9	0,5	24 часа	1:4
10	0,5	48 часов	1:4
11	Контроль формалина 0,1	-	-
12	Контроль формалина 0,2	-	24 часа (дегенерация клеток) +
13	Контроль формалина 0,3	-	24 часа (дегенерация клеток) +++
14	Контроль формалина 0,4	-	12 часа (дегенерация клеток) ++++
15	Контроль формалина 0,5	-	12 часа (дегенерация клеток) ++++

Из таблицы 1 видно, что наиболее полная инактивация гемагглютинирующей активности парвовируса на культуре клеток ПК 15 происходит при добавлении формалина в 0,5 %-ной концентрации в течение 24 и 48 часов. Однако формалин в концентрации 0,5, 0,4 и даже 0,3 и 0,2 % при экспозиции контакта 12 и 24 часа, соответственно, вызывает разрушение монослоя и дегенерацию клеток.

**Таблица 2** – Результаты изучения полноты инактивации парвовируса при применении теотропина в различных концентрациях

№ п/п	Концентрация формалина, %	Время контакта с инактивантом	Титр АГ в РГА (гемагглютинирующая активность)
1	0,1	24 часа	1:8
2	0,1	48 часов	1:8
3	0,2	24 часа	1:4
4	0,2	48 часов	1:4
5	0,3	24 часа	1:16
6	0,3	48 часов	1:4
7	0,4	24 часа	1:16
8	0,4	48 часов	1:4
9	0,5	24 часа	1:16
10	0,5	48 часов	1:4
11	Контроль теотропина 0,1	-	-
12	Контроль теотропина 0,2	-	-
13	Контроль теотропина 0,3	-	-
14	Контроль теотропина 0,4	-	24 часа (дегенерация клеток) +
15	Контроль теотропина 0,5	-	12 часа (дегенерация клеток) +++

### 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.

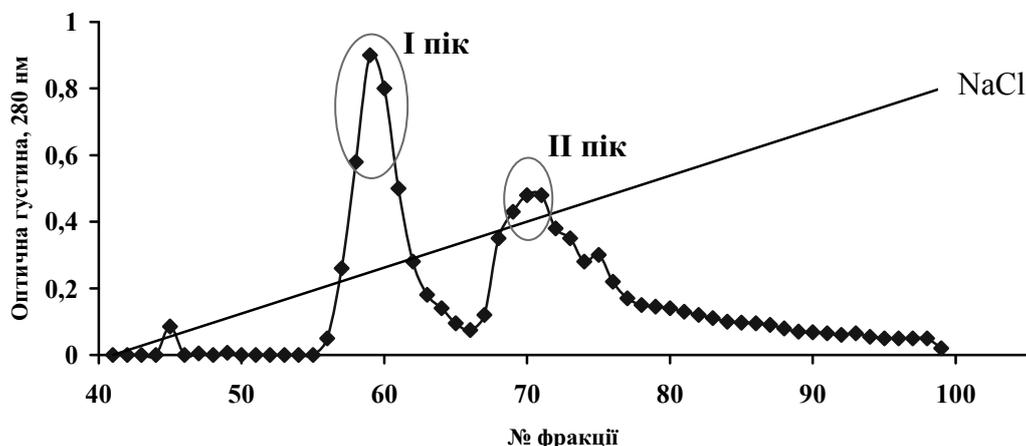


Рис. 1 Іонообмінна хроматографія осаду на Fractogel DEAE-650-s у градієнті NaCl 0-1 М