

УДК 616.94-022.7-092-053.2

САВЧЕНЮК М.О., асистент

БЛИК С.А., канд. вет. наук, доцент

НОВІК О.В., асистент

Білоцерківський національний аграрний університет

## ОСОБЛИВОСТІ ПОВЕРХНЕВИХ АНТИГЕНІВ *STREPTOCOCCUS SUIS* ЗА КУЛЬТИВУВАННЯ IN VITRO

*Streptococcus suis* є скрізь, де вирощують свиней. Незалежно від того яка це ферма, чи традиційна чи великотоварна, спричинює значні економічні збитки які здебільшого виникають через загибель тварин.

**Ключові слова:** культивування, *streptococcus suis*, поверхневі антигени, стрептококоз, серотип.

Стрептококова інфекція у нашій країні завжди була проблемою, проте в останні роки вона стала однією із найбільш важливих для свинарства. Нині почали реєструватись раптові спалахи стрептококозу, в усіх групах відлучених поросят, підсвинків та на відгодівлі. Наявність збудника стрептококозу у підсвинків досягає майже 100% всього через три тижні після відлучення. У разі захворюваності в межах 60–75%, летальність може становити 65%[1, 5, 12].

*Streptococcus suis* є важливим патогеном і в гуманній медицині, оскільки спричинює менінгіти та септицемію у людей. Захворюваність свиней на стрептококоз не лише завдає значних прямих збитків, але й сприяє поширенню вірусних інфекцій, таких як РРСС, який реєструють на фермах, уражених стрептококозом, у 80% випадків. Результати молекулярних досліджень зарубіжних авторів показують, що в складі кожного серотипу свинячого стрептокока присутній цілий ряд генотипів другого типу. У неблагополучних господарствах виділяють як патогенні, так і непатогенні штами *Streptococcus suis*. Під час ензоотичних сплахів хвороби можливе виділення обох видів від однієї тварини, що ускладнює діагностику та імунопрофілактику[2, 3, 11].

Враховуючи вищезазначене, ми вважаємо, що вивчення особливостей антигенного складу збудників стрептококозу свиней є важливим напрямком для розробки та удосконалення засобів діагностики та специфічної профілактики цього захворювання[2, 4, 10, 13].

**Мета роботи.** Вивчити особливості антигенного складу збудника стрептококозу свиней за культивування в різних поживних середовищах.

**Матеріали і методи досліджень.** В роботі були використані штами та ізоляти мікроорганізму *Streptococcus suis* (табл.1). Для проведення досліджень використовували патогенні ізоляти стрептококозів свиней, які відрізнялись за ступенем вірулентності (за даними наших попередніх досліджень).

Таблиця 1 – Штами та ізоляти *S. suis*, що використовувались в дослідках

№ п/п	Назва збудника	Тип	Фенотип	Вірулентність
1	<i>S. suis</i> штаму 3/2	2	MRP+EF+	високо вірулентний
2	<i>S. suis</i> ізолят 10	2	MRP+EF+	високо вірулентний
3	<i>S. suis</i> ізолят 21	2	MRP+EF+	високо вірулентний
4	<i>S. suis</i> ізолят 19	2	MRP+EF+	високо вірулентний
5	<i>S. suis</i> штаму 16/2	2	MRP+EF-	слабо вірулентний

Для моделювання середовищ готували також окремі варіанти рідкого МПБХ із додаванням стерильної дефібрированої крові овець в кількості 10%, сухої плазми крові – 10% (БіоФарма), а також стерильної сироватки крові овець – 10%.

Культивування в рідких середовищах проводили за температури 35,5±0,5 °С протягом 24–36 годин і на твердих – протягом 48–72 годин.

Дослідження морфологічних та культуральних властивостей проводили із використанням загальноприйнятих бактеріологічних методів [4, 5, 6].

Поверхневі антигени були отримані із добової культури шляхом центрифугування при 3,000x g протягом 5 хвилин для осадження клітин. Супернатант декантували, стерильно фільтрували через фільтр із діаметром пор 0,22 мкм. Мікробні клітини дворазово промивали стерильним 20 mM Tris буфером (pH 7,6), який містив 0,5% детергента Triton X-100 (BioRad) та інкубували при струшуванні протягом 60 хвилин при 35,5±0,5°C. Після цього зразки центрифугували при 3000 x g протягом 5 хвилин. Супернатант містив поверхневі антигени, які ми використовували в подальших дослідженнях[4, 5, 8].

Білковий склад отриманих антигенів визначали шляхом проведення електрофорезу в поліакриламідному гелі за класичним методом U.K. Laemmli (1970) [10]. Аліквоти кожного зразка змішували з 1X NuPAGE® LDS буфером для доведення концентрації білка до 3.0 µg/µL. Потім зразки нагрівали до 70°C та 10 µL зразка переносили в гель та проводили електрофорез в денатуруючих умовах. Гелі візуалізували фарбуванням SimplyBlue™ SafeStain (Invitrogen) згідно інструкції виробника[4, 7].

Антигенну активність вивчали за допомогою непрямого варіанту ІФА за стандартним протоколом із застосуванням специфічних сироваток, отриманих від білих мишей шляхом імунізації відповідними антигенами із застосуванням повного та неповного адюванта Фрейнда[4, 9].

**Результати досліджень та їх обговорення.** Культури стрептококів досліджених штамів при культивуванні у термостаті протягом 24 годин за температури 35±0,5°C добре росли на твердих живильних середовищах з утворенням через 20–24 годин рівномірного помутніння без плівки та пристінного кільця, в подальшому із утворенням осаду. При культивуванні на МПАХ через 24–48 години – утворювали дрібні гладенькі, прозорі, росинчасті колонії з рівними краями (S-форми), які через 72–96 годин набували білого кольору.

Досліджені штами демонстрували наявність чотирьох диференційно експресованих поверхневих білка. При цьому поверхневі білки вагою 136 та 64 кДа експресувалися в більшій кількості за присутності в середовищі дефібринованої крові або плазми крові. Також встановлено, що білок вагою 105 кДа майже не вироблявся в середовищі без додавання крові або її сироватки, що знижує вірулентність штамів та може призвести до змін антигенних властивостей патогенних штамів та ізолятів. За дослідження слабо вірулентного штаму *S.suis* 16/2 встановлено значне зменшення продукування поверхневих білків вагою 136 кДа, 42 та 26 кДа в середовищі без додавання крові. В результаті досліджень встановлено, що кілька поверхневих білків *S.suis* піддаються диференційній експресії під впливом змін в складі поживного середовища *in vitro*.

В результаті вивчення антигенних властивостей двох штамів збудника стрептококозів свиней із застосуванням гомологічних та гетерологічних сироваток встановлено, що високо вірулентний штам *S.suis* 3/2 проявив найвищу антигенну активність у відношенні як гомологічних, так і гетерологічних сироваток крові лабораторних тварин, в той час як поверхневий антиген слабо вірулентного штаму *S.suis* 16/2 показав нижчу антигенну спорідненість до сироваток, отриманих на поверхневі антигени патогенного штаму та двох патогенних ізолятів в реакції ІФА. Це підтверджує високу афінність антигену до власних антитіл. Сироватки, отримані на ізоляти 10 та 21 проявили однаково високу активність на всі досліджувані антигени.

**Висновки та перспективи подальших досліджень.** В результаті досліджень встановлено, що кілька поверхневих білків *S.suis* диференційно експресуються під впливом змін в складі поживного середовища *in vitro*. Кожний варіант складу модельованого середовища призводив до змін в пулі поверхневих білків.

В результаті проведених досліджень нами було встановлено зв'язок між біологічними властивостями (ступінь вірулентності) та антигенними властивостями у реакції ІФА (непрямого варіанту).

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ:

1. Айшпур О.Е. Стрептококоз – проблема сучасного свинарства / О.Е. Айшпур, С.А. Ничик, О.А. Тарасов // Тваринництво України. – 2014. – № 7. – С. 87–89.
2. Galina L. Prevalence of various phenotypes of *Streptococcus suis* isolated from swine in the U.S.A. based on the presence of muraminidase-released protein and extracellular factor / L. Galina, U. Vecht, H.J. Wisselink, C. Pijoan // Can. J. Vet. Res. – 1996. – №60. – P. 72–74.
3. Perch B. Serology of capsulated streptococci pathogenic for pigs: six new serotypes of *Streptococcus suis* / B. Perch, K.B. Pedersen, J. Henrichson // J. Clin. Microbiol. – 1983. – № 17. – P. 993–996.
4. Тарасов О.А. Вивчення особливостей поверхневих антигенів збудника стрептококозу свиней (*S. suis*) за культивування *in vitro* / О.А. Тарасов, С.М. Терещенко, М.О. Савченко // Ветеринарна біотехнологія. – 2020. – №36. – С. 166-175.
5. *Streptococcus suis* infection in swine: a retrospective study of 256 cases. Part II. Clinical signs, gross and microscopic lesions, and coexisting microorganisms / R.Y. Reams, L.T. Glickman, D.D. Harrington [et al.] // J. Vet. Diagn. Invest. – 1994 – №6. – P. 326–334.
6. Тарасов О.А. Вивчення імуногенних властивостей штамів *Streptococcus suis*, придатних для виготовлення вакцин та відпрацювання методів контролю імуногенності / О.А. Тарасов, І.А. Зоценко // Ветеринарна біотехнологія. – 2014. – №24. – С. 248–253.
7. Тарасов О.А. Дослідження протективної активності експериментальних зразків емульсин-вакцин проти стрептококової свиней / О.А. Тарасов, В.П. Сапейко // Ветеринарна біотехнологія – 2014. – №24. – С. 254–261.
8. Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 / U.K. Laemmli // Nature. – 1970. – Vol.227 (5259). – P. 680–685.
9. Monitoring of antimicrobial susceptibility of respiratory tract pathogens isolated from diseased cattle and pigs across Europe, 2009–2012: VetPath results / Farid El Garch, Anno de Jong, Shabbir Simjee et al. // Veterinary Microbiology. – 2016. – № 4. – P. 3-12.
10. Suchasni pogljady na stikist' bakterij do antybiotykv / D.M Levkiv'skyj, R.P. Masljanko, R.B. Fljunt, M.S. Romanovych // Naukovyj visnyk LNUVMBT imeni S.Z. G'zhyckogo. – 2011. – Tom.13. – № 2. – S. 166-171.
11. *Streptococcus suis* in employees and the environment of swine slaughterhouses in São Paulo, Brazil: Occurrence, risk factors, serotype distribution, and antimicrobial susceptibility / Taíssa Cook Siqueira Soares, Marcelo Gottschalk, Sonia Lacouture et al. // The Canadian Journal of Veterinary Research. – 2015. – № 79. – P. 279-284.
12. Antimicrobial sensitivity of *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Pasteurella multocida*, *Streptococcus suis* and *Actinobacillus pleuropneumoniae* isolated from diagnostic samples from large pig breeding farms in Croatia / Boris Habrun, Gordan Kompes, Željko Cvetnić et al. // Veterinarski Arhiv. – 2010. – № 80. – P. 571-583.

УДК 636.2 (477):619:576.895.1

**АНТИПОВ А.А.**, канд. вет. наук

**ГОНЧАРЕНКО В.П.**, канд. вет. наук

**ШАГАНЕНКО В.С.**, канд. вет. наук

*Білоцерківський національний аграрний університет*

antipov\_anatolii@ukr.net

## ГЕЛЬМІНТОФАУНА КОНЕЙ У ГОСПОДАРСТВІ

Встановлено поширення змішаних гельмінтозів шлунково-кишкового каналу коней в ТОВ „Агрофірма “Колос” с. Пустоварівка Сквирського району Київської області. Екстенсивність параскарозної інвазії склала 36,36%, стронгілідозної – 63,64 та стронгілоїдозної – 3,33 %.

**Ключові слова.** Параскароз, стронгілоїдози, стронгілоїдоз, екстенсивність інвазії, інтенсивність інвазії.

**Актуальність напрямку досліджень.** Конярство – важлива галузь сучасного тваринництва, яка останнім часом поступово відроджується. Сучасне конярство – це не лише сільськогосподарський напрямок вирощування коней, але й їх використання задля естетичного задоволення і фізичного виховання людей – як іпотерапія. Крім кінних заводів зростає кількість одноосібних господарств, де коней використовують для власних потреб. Серед 15 порід коней, що розводяться в Україні, найбільш популярними є українська та чистокровна верхова, рисисті породи, а також існує велика кількість робочих коней, яким зазвичай не приділяється належна