

2. НАНОТЕХНОЛОГИИ И БИОТЕХНОЛОГИИ В ВЕТЕРИНАРНОЙ МЕДИЦИНЕ И ЖИВОТНОВОДСТВЕ

АДАПТАЦИЯ ПАРВОВИРУСА СВИНЕЙ К КУЛЬТУРАМ ПЕРЕВИВАЕМЫХ КЛЕТОК

БЕЛИКОВА Н.А., БОГОМОЛОВА О.А.

Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности, Московская обл., пос.Биокомбината, Российская Федерация

*В статье представлены сравнительные данные по репродукции парвовируса свиней в культурах перевиваемых клеток РК-15, ППЭС, СПЭВ и MDBK. Было установлено, что клетки РК-15 и ППЭС наиболее чувствительны к вирусу. Для промышленного получения активного вирусосодержащего материала парвовируса свиней была адаптирована клеточная линия РК-15. **Ключевые слова:** парвовирусная инфекция, диагностика, культивирование, свиньи.*

ADAPTATION OF PORCINE PARVOVIRUS TO CULTURES OF TRANSPLANTED CELLS

BELIKOVA N.A., BOGOMOLOVA O.A.,

All-Russian Research and Technological Institute of Biological Industry, Moscow region, village of Biocombinata, Russian Federation

*The article presents data on the reproduction of porcine parvovirus in PK-15, PPES, SPEV and MDBK cell cultures. The study found that PK-15 and PPES cell cultures are susceptible to the virus. However, the PK-15 cell line is of greatest interest for the industrial production of active virus-containing material of porcine parvovirus. **Keywords:** parvovirus infection, diagnostics, cultivation, pigs.*

Введение. Парвовирусная инфекция свиней (ПВИС) - высококонтагиозная инфекция, клинически проявляющаяся только у супоросных свиноматок и характеризующаяся прохолостами, рождением малоплодных пометов, мумифицированных плодов, мертвых и слабых поросят, реже – абортами [1,2]. Эта болезнь широко распространена в странах с развитым свиноводством, в том числе и на территории Российской Федерации. Эпизоотологический мониторинг затруднен тем, что ПВИС стационарная инфекция, которая протекает бессимптомно [3,4]. Источником возбудителя являются больные и переболевшие животные, выделяющие вирус со слюной, с мочой, фекалиями, околоплодными водами, плацентой и спермой. В хозяйства парвовирус заносится, главным образом, с ремонтными свинками и хряками - вирусоносителями и инфицированной спермой. Серонегативные свиньи могут заразиться аэрогенным, оральным путем, эмбрионы и плоды – трансплацентарно [5].

Парвовирус устойчив к действию различных физико-химических факторов: сохраняет инфекционные свойства при рН 3-9 и прогревании в течение 2 ч при 70 °С. Нечувствителен к эфиру, хлороформу, фреону, трипсину, пепсину и дезоксихолату натрия. Инактивируется ультрафиолетовыми лучами, формалином, производными этиленмина, бета-пропилактоном и глутаральдегидом и в течение 5 мин при 80 °С. В животноводческих помещениях вирус сохраняет инфекционность более 4 мес. Возбудитель обладает выраженной антигенной активностью и индуцирует у свиней, кроликов и морских свинок синтез нейтрализующих, комплементсвязывающих, преципитирующих и подавляющих гемагглютинацию антител. Биологической особенностью этого возбудителя является избирательная репликация в активно делящихся клетках. Наибольшее количество находят в плаценте, цитоплазме клеток эмбриона свиньи и в лимфоидной ткани [4,5]. В лабораторных условиях хорошо размножается в первичных культурах клеток поросят и в клетках перевиваемых линий [7,8,9].

Цель нашей работы – адаптация парвовируса свиней к культурам клеток перевиваемых линий.

Материалы и методы. В опытах исследовали парвовирус свиней, эталонный штамм «ИЛ-82», выделенный Б.Г. Орлянкиным из плодов абортировавших свиноматок в 1982 г.

В работе использовали перевиваемые клетки почки поросенка (РК-15), почки эмбрионов свиньи (ППЭС), почки эмбрионов свиньи (СПЭВ) и почки коровы (MDBK).

Для культивирования клеток и вируса использовали стандартные питательные среды: Игла MEM и Игла DMEM с добавлением 10 % сыворотки крови КРС, и ресуспендирующие растворы 0,25 % трипсина и 0,02 % версена.

Определение гемагглютинирующей активности парвовируса свиней проводили в реакции гемагглютинации (РГА) по общепринятой методике.

Чувствительность культур клеток к парвовирусу свиней определяли по времени появления ЦПД и гемагглютинирующей активности вируса в пяти последовательных пассажах. Культивировали вирус в стационарных условиях при температуре 37 °С в условиях 5 % CO₂.

Результаты исследований.

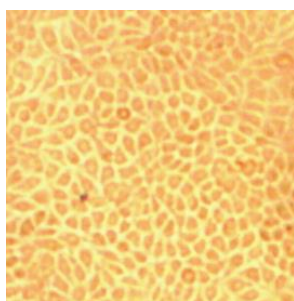
В результате проведенных исследований установили, что парвовирус, штамм «ИЛ-82» парвовируса свиней репродуцировался в культурах клеток: РК-15 и ППЭС, в культуре клеток СПЭВ и MDBK накопление вируса на протяжении пяти пассажей отмечено не было.

Дальнейшее изучение индивидуальной чувствительности клеток РК-15 и ППЭС показало, что наиболее чувствительной оказалась клеточная линия РК-15 (таблица).

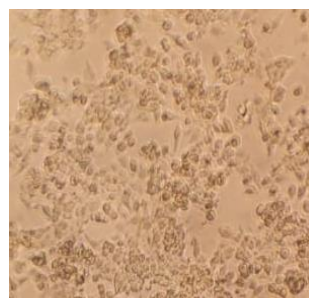
Таблица - Инфекционного титра и гемагглютинирующей активности

Культура клеток	Инфекционный титр, lg ТЦД ₅₀ /мл	Титр гемагглютинирующей активности, log ₂
РК-15	4,66-5,0	8,0-9,0
ППЭС	3,5-4,0	6,0-7,0

Было установлено, что парвовирус свиней обладает ярко выраженным цитопатическим действием на культуре РК-15 (рис.)



А



В

Рисунки 1, 2 - Культура клеток РК-15 (А-клеточный монослой- 48 часов, В- цитопатическое действие парвовируса свиней через 24 часа)

Заключение.

Проведенные исследования показали, что для культивирования и накопления парвовируса свиней в монослойной культуре клеток РК-15 в посевной концентрации 150-200 тыс/мл., является наилучшей для выпуска вакцин и диагностических препаратов на производстве. ЦПД проявилось характерным изменением клеток уже на 1 сутки. Максимальное накопление вируса в культуре клеток было через 3-4 дня после культивирования в монослое при температуре +37 °С и достигало 5,0 lg ТЦД₅₀/мл.

Литература . 1. *Диагностика инфекционных болезней сельскохозяйственных животных: вирусные заболевания : монография / А. А. Шевченко [и др.] ; Кубанский государственный аграрный университет им. И. Т. Трубилина, Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности, Витебская государственная академия ветеринарной медицины. – Краснодар : КубГАУ, 2018. – 484 с.* 2. *Инфекционные болезни животных [Текст]: учебник для студ. вузов, обуч. по спец. "Ветеринария" / Б. Ф. Бессарабов [и др.] ; под ред. А. А. Сидорчука. – Москва: Колос, 2007. - 671 с.* 3. *Инфекционная патология животных: В 2т./Под.ред.А.Я. Самуйленко, Б.В. Соловьева, Е.А. Непоклонова, Е.С. Воронина. -М.: ИКЦ «Академкнига»,2006,- Т.1.-2006.-1911с.* 4. *Ерофеев С.Г. Парвовирусная инфекция свиней: Эпизоотология, диагностика и специфическая профилактика: дис.канд.ветер.наук.16.00.03. - 2002.-167с.* 5 *4.Кодекс здоровья наземных животных. Т. 2. Рекомендации по болезням Списка МЭБ и другим важным для международной торговли болезням / OIE.– 25-е изд.– Paris, France: OIE, 2016.– Глава 8.2.– С. 455–462.* 6. *Орлянкин, Б.Г. Патология репродукции свиней. Обзор / Б.Г. Орлянкин // Российский ветеринарный журнал. – 2009 - № 2. – С. 4-6.* 7. *Культивирование парвовируса свиней на различных культурах клеток. М.Феррари, Ф.Гуаланди.: Микробиология,1987 июль,10(3):-С.301-309.* 8.*Пинаев Г.П., Блинова М.И., Николаенко Н.С., Полянская Г.Г., Ефремова Т.Н., Шарлаимова Н.С., Шубин*

Н.А. Учебное пособие «Клеточная биотехнология». СПб: Изд-во Политехнического ун-та, 2012. 206 с.
 9. Ястребов, А.С. Культивирование парвовируса свиней в клеточных культурах / А. С. Ястребов, А. А. Гусев, Д. С. Борисовец, Н. Г. Сай, А. В. Сакович, И. А. Пунтус // Эпизоотология, иммунология, фармакология и санитария : международный научно-практический журнал. - 2011. - № 1. - С. 43-47.
 10. Li Zhi-li, Yi Xiao-ping, CHU Ju, ZHUANG Ying-ping, ZHANG Si-liang. A Microcarrier Cell Culture Process for propagating Porcine Parvovirus in PK-15 Cells. China Biotechnology, 2015, 35(7): 62-67.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЯ КИСЛОТООБРАЗОВАНИЯ В МЕТАБИОТИКЕ «БИОТЕРМ»

ДЯТЛОВА Е. Р., ДАРОВСКИХ С. В., ПЕТРОВА З. А.

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

Целью данных исследований явилось определение показателя кислотообразования в метабиотике «Биотерм», как показателя достаточного наличия короткоцепочечных жирных кислот (КЦЖК). Установлено, что определение показателя активности кислотообразования является важным для определения качества выпускаемого препарата, так как контроль поддержания низкой кислотности в кишечнике является одним из основных. **Ключевые слова:** биотерм, кислотообразование, бифидобактерии.

DETERMINATION OF THE ACID FORMATION INDEX IN THE BIOTERM METABIOTICS

DYATLOVA E. R., DAROVSKIKH S. V., PETROVA Z. A.

UO "Vitebsk Order "Badge of Honor" State Academy of Veterinary Medicine", Vitebsk, Republic of Belarus

The purpose of these studies was to determine the indicator of acid formation in the Bioterm metabolism as an indicator of the sufficient availability of short-chain fatty acids (SCFCS). It has been established that the determination of the acid formation activity index is important for determining the quality of the manufactured drug, since the control of maintaining low acidity in the intestine is one of the main ones. **Keywords:** biotherm, acid formation, bifidobacteria.

Введение. Биотерм, являющийся препаратом поколения метабиотиков, обладает способностью оказывать профилактическое и лечебное действие при дисбиозе кишечника, основываясь на содержании метаболитов бифидобактерий. Основной принцип достижения положительного эффекта при применении «Биотерма» заключается в содержании таких метаболитов бифидобактерий, как короткоцепочечные жирные кислоты (КЦЖК). Преобладающее содержание КЦЖК создает в кишечнике условия, положительно влияющие на жизнедеятельность микробиоты кишечника, подавляя развитие патогенных микроорганизмов.

КЦЖК являются продуктом бактериального синтеза и имеют большое значение для организма животного, особенно в период его роста и развития, за счет обеспечения бактериального равновесия, создавая колонизационную резистентность, обладая противовоспалительным и иммуномодулирующим действием.

В состав данного препарата входят такие КЦЖК, как уксусная, пропионовая и масляная кислоты.

Целью данных исследований явилось определение показателя кислотообразования в метабиотике «Биотерм», как показателя достаточного наличия КЦЖК [1-4].

Материалы и методы исследования. Для оценивания согласованности результатов, исследования проводили на трех образцах ветеринарного препарата «Биотерм» (из различных серий): на каждом образце проводили по три серии измерений согласно методике определения активности кислотообразования.

Аппаратура, материалы, реактивы указаны в таблице 1.

Таблица 1

Наименование
Стакан химический Н-1-50
Бумага белая
0,1N раствор NaOH, приготовленный из фиксанала
фенолфталеин 1%, раствор
вода дистиллированная
посуда мерная лабораторная стеклянная