

УДК 619:578.831.3

## **ОЦЕНКА ИНФЕКЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ПНЕВМОЭНТЕРИТОВ ТЕЛЯТ**

*Красочко П.А., д-р вет. наук, д-р биол. наук, профессор,*

*Красочко И.А., д-р вет. наук, профессор,*

*Кашипар Л.Н., магистр вет. наук,*

*Борисовец Д.С., канд. вет. наук,*

*УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная  
академия ветеринарной медицины», Республика Беларусь;*

*Черных О.Ю., д-р вет. наук, профессор,*

*Лысенко А.А., д-р вет. наук, профессор,*

*Бобров В.А., аспирант,*

*ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет  
имени И.Т. Трубилина»*

Для профилактики вирусных пневмоэнтеритов в Республике Беларусь и России используются живые и инактивированные моно- и ассоциированные вирус-вакцины. Для снижения стоимости вакцин и повышения рентабельности их производства рекомендуется использовать микроносители на основе модифицированной целлюлозы. Цель исследования: оценка активности вирусов – возбудителей пневмоэнтеритов телят, полученных стационарным методом и на микроносителях на основе модифицированной целлюлозы.

В современном высокоиндустриальном животноводстве среди молодняка сельскохозяйственных животных распространены желудочно-кишечные и респираторные инфекции, часто называемые пневмоэнтеритами. Это общее название инфекционных болезней, протекающих с легочным и энтеритным синдромом [4]. В понятие пневмоэнтериты входят такие заболевания, протекающие ассоциативно, как инфекционный ринотрахеит, вирусная диарея, парагрипп-3 рота- и коронавирусные инфекции [3, 4]. С целью профилактики вирусных болезней в Республике Беларусь и Российской Федерации используют живые и инактиви-

рованные моно- и ассоциированные вирус-вакцины, создание и производство которых является затратным для конечного потребителя [1, 3, 7]. Для снижения стоимости вакцин и повышения рентабельности производства, в условиях промышленного производства, применяется изготовление вакцин с использованием микроносителей. Этот метод является высокоэффективным при накоплении большого количества клеток [2, 5, 6, 8]. Авторами разработан микроноситель на основе модифицированной целлюлозы и технология культивирования на нем клеток.

Цель наших исследований – проведение сравнительной оценки инфекционной активности вирусов инфекционного ринотрахеита, вирусной диареи и парагриппа-3, рота- и коронавирусов, полученных на микроносителях на основе модифицированной целлюлозы при псевдосуспенсионном культивировании.

Инфекционную активность вируса определяли методом титрования в культуре клеток СПЭВ или МДБК. Титрацию вирусов проводили микрометодом с использованием микропланшета. Титр вируса определяли по методу Рида и Менча и выражали в  $\lg$  ТЦД 50/мл

Для накопления вирусов ИРТ, ПГ-3, ВД, рота- и коронавирусов на микроносителях на основе модифицированной целлюлозы при псевдосуспенсионном культивировании культур клеток использована перевиваемая культура клеток МДБК и СПЭВ, среда Игла МЭМ, среда Игла ДМЭМ, среда 199, сыворотка крови крупного рогатого скота, стерилизованная гамма-облучением, раствор Хэнкса, аморфизованная целлюлоза (серия № 2), хлопковая микрокристаллическая целлюлоза (серия № 2), производственные штаммы вируса инфекционного ринотрахеита КМИЭВ-6, вирусной диареи КМИЭВ-7, парагриппа-3 КМИЭВ-8, ротавируса КМИЭВ 3, коронавирус КМИЭВ 1.

Инфекционную активность каждого вируса определяют методом титрования в культуре клеток СПЭВ и МДБК.

Титрацию вирусов проводили микрометодом с использованием микропланшета. С этой целью брали 5,0 мл размороженных вирусов (ИРТ, ВД и ПГ-3, рота- и коронавирус), каждый переносили в стерильный флакон и делали десятикратные разведения вируса от  $10^{-1}$  до  $10^{-7}$ .

Последовательные десятикратные разведения вакцины от  $10^{-1}$  до  $10^{-7}$  готовили в 24-луночном планшете. Для этого в 6 лунок вносили по  $0,9 \text{ см}^3$  питательной среды. Затем в первую лунку –  $0,1 \text{ см}^3$  вакцины, получая разведение  $10^{-1}$ . Жидкость в первой лунке тщательно перемешивали дозатором и переносили  $0,1 \text{ см}^3$  во вторую лунку. Операцию повторяли последовательно до получения разведения вируса  $10^{-6}$  включительно.

Из культурального планшета с выращенным монослоем культуры клеток MDBK или СПЭВ удаляли ростовую среду в емкость с дезраствором. Используя многоканальную пипетку, переносили в соответствующие лунки с клеточным монослоем по  $0,1 \text{ см}^3$  каждого разведения вируса  $10^{-1}$ , затем в следующие 4 лунки с культурой клеток внесли по  $0,1 \text{ см}^3$  разведения вируса  $10^{-2}$  и так далее до разведения  $10^{-6}$  включительно.

В качестве контроля служили:

- контроль культуры клеток (4 лунки с незараженной культурой клеток и  $0,1 \text{ см}^3$  поддерживающей среды);
- контроль вируса (4 лунки с культурой клеток, зараженных разведением вируса диареи) от  $10^{-1}$  до  $10^{-6}$ .

Культуру клеток в планшетах инкубировали в  $\text{CO}_2$ -инкубаторе при 5 %  $\text{CO}_2$  и температуре  $37,0 \pm 1,0 \text{ }^\circ\text{C}$ .

Учет реакции проводили путем микроскопирования монослоя клеток спустя двое суток после постановки реакции и далее ежедневно с целью определения цитопатических изменений в клетках. Окончательный учет провели на 4–5 сутки после заражения монослоя.

В результате проведенных авторами исследований по изучению сравнительной активности вирусов ИРТ, ВД, ПГ-3, рота- и коронавирусов при культивировании на культуре клеток с микроносителями по методу Рида и Менча установлено следующее.

При сравнительной оценке инфекционной активности вирусов ИРТ, ВД, ПГ-3, рота- и коронавирусов на микроносителях – хлопковой микрокристаллической целлюлозе и аморфизированной целлюлозе на основе модифицированных полисахаридов установлено, что на микроносителях на основе аморфизированной целлюлозы титр вируса превышает титр вируса, накопленного при стационарном культивировании на  $0,3 \dots 1 \lg \text{ТЦД } 50/\text{мл}$ .

## Литература

1. Красочко П.А. Биологические препараты для профилактики вирусных заболеваний животных : разработка и производство в Беларуси / П.А. Красочко и др.; Под ред. Н.А. Ковалева. – Мн. : Беларуская навука, 2016. – 492 с.
2. Блажевич, О.В. Культивирование клеток : курс лекций / О.В. Блажевич. – Минск: БГУ, 2004. – 78 с.
3. Красочко П.А. Средства специфической профилактики инфекционных болезней крупного рогатого скота и свиней : практ. пособие / П.А. Красочко и др.; Научн. ред. докт. вет. наук, докт. биолог, наук, проф. П.А. Красочко. – Минск : ИВЦ Минфина, 2018. – 368 с
4. Притыченко А.Н. Диагностика пневмоэнтеритов молодняка крупного рогатого скота в Республике Беларусь // Ученые записки учреждения образования «Витебская государственная академия ветеринарной медицины»: научно-практический журнал. – Витебск, 2012. – Т. 48. – Вып. 1. – С. 54–59.
5. Дитченко Т.И. Культура клеток, тканей и органов растений: методические рекомендации для занятий студентов. – Мн. : БГУ, 2007. – 46 с.
6. Животная клетка в культуре (методы и применение в биотехнологии) / Под общ. ред. проф. Л.П. Дьяконова. – М. : «Спутник+», 2009. – 656 с.
7. Красочко П.А. Биотехнологические основы конструирования и использования иммунобиологических препаратов для молодняка крупного рогатого скота : автореф. дис. ... д-ра биол. наук: 03.00.23 / П.А. Красочко; Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности. – Щелково, 2009. – 46 с.
8. Фрешни Р.Я. Культура животных клеток. – М. : БИНОМ. Лаборатории знаний, 2010. – 714 с.