

**МОРФОГЕНЕЗ РОТАВИРУСА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА**

Зелютков Ю.Г.

УО «Витебская государственная академия ветеринарной медицины»

Проведенные серологические и иммунологические исследования в комплексе с клинико-эпизоотологическими данными свидетельствуют о достаточно широком распространении ротавирусной инфекции среди новорожденных телят на территории республики. Вирусологический метод исследования, а также электронная микроскопия в сочетании с другими тестами позволяет осуществить достоверную дифференциальную диагностику ротавирусной инфекции от острых расстройств пищеварительного тракта, обусловленных другими этиологическими факторами, что позволяет рекомендовать указанные методы при установлении окончательного диагноза при массовых заболеваниях новорожденных телят, сопровождающихся диареей.

В процессе изучения репродуктивных свойств ротавирусов была установлена возможность его адаптации к ограниченному набору культур клеток. Имеются сообщения об успешной адаптации и возможности культивирования некоторых штаммов ротавируса в гомо- и гетерологичных культурах клеток: почки, легкого и тестикул эмбриона коровы, а также клеточных линий МДВК и Vero. Кроме того, было установлено, что ротавирус крупного рогатого скота наиболее активно размножается в культуре клеток ПЭК, где через 3-7 дней после инфицирования клеточного монослоя развивается характерное ЦПД, в виде очагов серповидных клеток, что является ярким диагностическим признаком репродукции ротавируса. В дальнейшем была определена возможность размножения ротавируса крупного рогатого скота в субкультурах и перевиваемых клеточных культурах различного происхождения: ЛЭК, МА-104 и L.

Цель настоящих исследований заключалась в изучении характера репродукции ротавируса крупного рогатого скота в культурах клеток с учетом его морфологических особенностей.

Работа осуществлялась в хозяйствах Витебской области неблагополучных по ротавирусной инфекции, в условиях кафедры эпизоотологии УО «ВГАВМ», лаборатории вирусологии Московской государственной академии ветеринарной медицины и биотехнологии, лаборатории электронной микроскопии НИИ микробиологии им. А. Кирхенштейна Академии наук Латвии.

В своих экспериментах в качестве исследуемого материала использовали пробы фекалий телят у которых предварительно была установлена ротавирусная инфекция, содержимое пораженного участка тонкого кишечника и соскобы со слизистой оболочки кишечника, имеющего морфологические изменения.

В целях подтверждения наличия в пробах ко-профильтратов ротавируса крупного рогатого скота, а также для изучения морфогенеза, осуществляли

изоляция его в культуре клеток. Выделение ротавируса проводили с использованием перевиваемой культуры клеток почки эмбриона коровы (ПЭК), почки теленка (МДВК), почки обезьяны макаки-резус (МА-104) и клеточной линии Vero. Культивирование вирусных изолятов осуществляли по общепринятым вирусологическим методикам, где в качестве контроля в аналогичных условиях культивировали эталонный штамм ротавируса крупного рогатого скота «Lin-coln». Всего было проведено пять пассажей четырех вирусных изолятов №№ P5, P7, P12 и P74.

Индикацию ротавируса в культуре клеток осуществляли по наличию специфической дегенерации клеточного монослоя, т.е. по характерному ЦПД и по обнаружению ротавирусных частиц в культуральной суспензии с использованием электронной микроскопии.

Цитопатическое действие эпизоотических штаммов P7 и P74 начиная с третьего пассажа, независимо от вида субкультуры, уже через 24-48 часов после инфицирования клеточного монослоя характеризовалось формированием мелких фокусов вначале округлых клеток, в дальнейшем, в результате острой литической инфекции, происходило частичное разрушение клеточного монослоя с образованием стерильных «окон», а клетки имели серповидную, ланцетовидную форму. Дегенерация клеточного монослоя через 72 часа достигала 70-80%. Следует подчеркнуть, что каких-либо существенных морфологических различий в характере ЦПД по вирусным изолятам, независимо от объекта их выделения, выявлено не было.

Активность эпизоотических штаммов в культуре клеток и характер морфогенеза, когда на первом этапе выявляются серповидные и ланцетовидные клетки, а на втором уже отмечаются клетки округлой формы, позволяет рекомендовать такие культуры клеток, как МА-104 и МДВК, для первичного выделения ротавируса из исходного вирусосодержащего материала. А такие клеточные культуры, как ПЭК и Vero, предпочтительнее применять с целью накопления культуральной вирусосодержащей жидкости, предназначенной для изготовления диагностикумов и вакцин.

Итоги культивирования вирусных элюатов указывают на выделение из полевого вирусосодержащего материала двух эпизоотических штаммов P7 и P74 ротавируса крупного рогатого скота, которые по характеру цитопатогенного действия идентичны эталонному штамму Lincoln.

В целях проведения достоверной диагностики и определения истинных причин заболевания телят, а также для изучения морфогенеза ротавируса, кроме выделения вирусов в чувствительных биологических системах, обязательным условием является индикация вирионов с использованием электрон-

ной микроскопии. Для получения более достоверных результатов и повышения эффективности электронной микроскопии мы в своей работе использовали кроме культуральной вирусосодержащей жидкости, стандартную гипериммунную сыворотку к ротавирусу крупного рогатого скота, необходимость применения которой основана на более высокой по сравнению с обычным методом негативного контрастирования чувствительностью и специфичностью, что позволяет осуществить индикацию вирусов при их относительно низких концентрациях в исследуемом материале.

В своей работе в качестве исследуемого материала использовали культуральную, вирусосодержащую жидкость, которую применяли для приготовления препаратов методом негативного контрастирования. Изучение препаратов проводили с использованием электронного микроскопа JEM-100C с инструментальным увеличением 50-80 тыс. Всего было подвергнуто исследованию 17 образцов, из которых было приготовлено 49 препаратов. В ходе приготовления препаратов культуральную вирусосодержащую жидкость смешивали со специфической сывороткой в соотношении 1:2, интенсивно перемешивали и инкубировали при комнатной температуре в течение 16-18 часов с последующим осаждением иммунных комплексов суперцентрифугированием. Надосадочную жидкость удаляли, а из супернатанта после фиксации и окрашивания 1%-ным раствором четырехокисью осмия готовили срезы на ультрамикротоме LKB-4801A (Швеция) с последующим негативным контрастированием цитратом свинца.

В процессе изучения негативно контрастирован-

ных препаратов при прямой электронной микроскопии в одном поле зрения были выявлены 1-2 ротавирусных вирионов с характерной архитектурой.

Анализ результатов электронной микроскопии позволяет констатировать наличие у выделенных эпизоотических штаммов Р7 и Р74 характерных морфологических признаков, присущих только данному роду Rotavirus. Вирионы напоминали форму колеса, в котором суперкапсида является ободом, а капсомеры вируса – его внутренней оболочкой (ступицей колеса). Внутренний капсид плотно прилегает к сердцевине вириона, имеет икосаэдральный тип симметрии и состоит из клиновидных капсомеров. Электронная микроскопия позволила выявить не только полноценные ротавирусные вирионы, но и присущие им некоторые морфологические аномалии в виде неполных «пустых» вирионов, лишенных сердцевины и состоящих только из капсидного слоя.

Изучение препаратов в электронном микроскопе приготовленных с использованием антиротавирусной сыворотки, позволяет в значительной степени повысить вероятность обнаружения вирионов, т.к. при этом в поле зрения обнаруживаются крупные конгломераты – иммунные комплексы (антиген+антитело), состоящие из 2-5 и более ротавирусов.

**Заключение.** Выделенные в культуре клеток эпизоотические штаммы рота-вируса крупного рогатого скота Р7 и Р74 в процессе репродукции вызывают морфологические изменения клеточного монуслая, идентичные эталонному штамму Lincoln. Морфологические признаки эпизоотических штаммов Р7 и Р74 характеризуются специфической, присущей только данному роду, архитектурой.

УДК 619:616.981.49/636.598

### ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА «АЛЬВЕОЗАН» НА ПРОДУКТИВНОСТЬ, СОХРАННОСТЬ И ЕСТЕСТВЕННУЮ РЕЗИСТЕНТНОСТЬ ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ

Капитонова Е. А.

УО «Витебская государственная академия ветеринарной медицины»

В промышленном птицеводстве для увеличения продуктивности, предупреждения многих заболеваний наряду со специальной профилактикой возникает необходимость изыскания новых способов укрепления здоровья и стимуляции общей реактивности организма птицы, в том числе и с помощью биологически активных веществ [1].

Большое внимание разработке иммуностимуляторов и пробиотиков, организации их производства, внедрению в животноводство и птицеводство уделяется и в Беларуси. Учеными Института микробиологии Национальной академии наук Беларуси и Витебской государственной академии ветеринарной медицины разработан широкий спектр пробиотиков (биофлор, диалакт, бактрил, бифидумбактерин сухой, и др.) и иммуностимуляторов (апистимулин-А, альвеозан, сальмопул и др.). Эти препараты показали высокую эффективность при комплексном лечении и профилактике желудочно-

кишечных заболеваний, гиповитаминозов, а также как стимуляторы роста животных и птицы [2,3].

**Целью** нашей работы явилось изучение влияния препарата «Альвеозан» на общеклинические, биохимические и иммунологические показатели крови, биологическую ценность мяса, продуктивность и сохранность цыплят-бройлеров.

#### Материал и методы исследований

В условиях птицефабрики «Витконпродукт» проведен научно-производственный опыт по оценке влияния препарата «Альвеозан» в дозах 5 мг/гол. (1 опытная группа в количестве 500 гол.), 10 мг/гол. (2 опытная группа в количестве 500 гол.) и 20 мг/гол. (3 опытная группа в количестве 500 гол.) на общеклинические, биохимические и иммунологические показатели крови цыплят-бройлеров в течение всего периода их выращивания. Контрольной группе №4 в количестве 500 голов препарат не выпаивали.