УДК:619:616.523:636.1

КУЛЬТИВУВАННЯ НА КУЛЬТУРАХ КЛІТИН ГЕРПЕСВІРУСІВ КОНЕЙ ПЕРШОГО ТА ДРУГОГО ТИПУ

В.Л. Бегас, О.Є. Галатюк
Державний агроекологічний університет, м. Житомир

Встановлено збільшення концентрації герпесвірусів першого та другого типів та їх гемаглютинінів після адаптації і пасажах на культурах трахеї теляти та фібробластів шкіри коня. Герпесвіруси першого і другого типів цитопатогенну дію проявляли на 2 та 7-9 добу відповідно.

На сьогоднішній день ідентифіковано 8 типів герпесвірусів:

ГВК-1-4; ГВК-6-8; а також герпесвіруси ослів (ГВК-1-3). Згідно сучасної класифікації і номенклатури конячі герпесвіруси відносяться до ДНК-вмісних вірусів родини Herpesviridae. До роду Varicellovirus належать герпесвіруси коней типів 1, 3, 4, 6, 8, та герпесвіруси ослів типів 1, 3. До роду Phadinovirus відносяться герпесвіруси коней типів 2, 5, 7 та другий тип герпесвірусів ослів [1]. Серед них не всі віруси спричиняють клінічний прояв хвороби. Конячі герпесвіруси типів 1-4 завжди приводять до серйозних клінічних захворювань коней не зважаючи на наявність і широке застосування вакцин проти них. ГВК-3 спричинює везикулярні зміни у коней обох статей, що погано лікуються. Цитомегаловіруси коней ГВК-2, та ГВК-5 не завжди стають причиною патологічних змін, але ГВК-2 має значне поширення у популяціях [2, 3].

Конячий герпесвірус 1 типу не викликає хвороби в ослів, проте до нього сприйнятливі поні [4J.

Вивчення культуральних властивостей необхідно для розробки більш чутливих специфічних діагностичних тест-систем, особливо необхідних для виявлення латентних форм ринопневмонії коней [5].

Матеріали і методи: В дослідах ми використали такі герпесвіруси: вакцинний штам першого типу (СВ-69) та два різновиди другого типу (LR-10 і LR-43). Для культивування вірусів ми використовували перещеплювальні культури фібробластів шкіри коня (КФШК) та трахеї теляти (ТТ). Для культивування культури трахеї теляти використовували ростове середовище такого складу: Ігла 45% + середовище 199 45% + 10% сироватки великої рогатої худоби та гентаміцин (200 мкг/см^3). Маточні культури *пересівали з* інтервалом 3-4 доби. Для культивування використовували матраси на 100 см^3.

Для культури фібробластів шкіри коня використовували ростове середовище наступного складу: Ігла 90% + 10% сироватки великої рогатої худоби та гентаміцин (200 мкг/см^3).

Через 2-3 доби після пересіву формувався *90-100%* моношар, який використовували для зараження. При цьому ростове середовище зливали. Моношар промивали версеном з гентаміцином і вносили 2 см^3 с 100 ТЦД50 вірусу на 100 см^3 матрас. Даний матрас ставили в термостат при 37,5°С на 40-60 хв. і періодично через 15 хв. 3-4 рази повільно омивали моношар клітин вірусним матеріалом. Потім інокулят зливали і в матрас вносили підтримуюче середовище (аналогічне до ростового, але без сироватки). Щоденно зараженні культури продивлялись візуально та під мікроскопом. Паралельно з зараженими вели спостереження за контрольними незараженими матрасами. По мірі максимального прояву цитопатогенної дії (ЦПД) вмістиме матрасів 2 рази переморожу-

валось при -18°С і розморожувалось при кімнатній температурі та перевірялась кількість гемаглютинінів в реакції гемаглютинації (РГА) з еритроцитами коня.

Результати проведених досліджень: Внаслідок проведених досліджень ми прослідкували наступні зміни. При зараженні КФШК герпесвірусом першого типу (СВ-69) через 24 години утворились вогнища округлих клітин, через 48 годин спостерігалось руйнування всього клітинного шару. Титри гемаглютинінів при цьому досягали 1:4. По мірі проведення пасажів вірусу цитопатогенна дія (ЦПД) зростала до 2-3 пасажу з повним лізисом клітинного шару через 24-48 годин з титрами гемаглютинінів 1:8; 1:16.

При зараженні КФШК герпесвірусами другого типу (LR-10 і LR-43) ЦПД спостерігалась на 7-8 день (LR-10) і на 8-9 день (LR-43), титри гемаглютинінів досягали 1:4 - 1:8.

При зараженні культури трахеї теляти культуральним штамом СВ-69 ЦПД починало проявлятися на 5-6 день, через 8 діб руйнувалось 80% моношару (рис 2). Тоді як при зараженні герпесвірусами другого типу (LR-10 і LR-43) на 7-8 добу утворювалися лише вогнища округлих клітин. Чого не відбувалося в контрольних незаражених матрасах (рис 1). Титри гемаглютинінів підвищувались і досягали максимуму в 3-4 пасажі. При цьому через 7-8 діб руйнувалось 50% моношару (LR-10) (рис 3) і 20% моношару (LR-43) (рис 4), титри гемаглютинінів відповідно сягали 1:8 и 1:4.

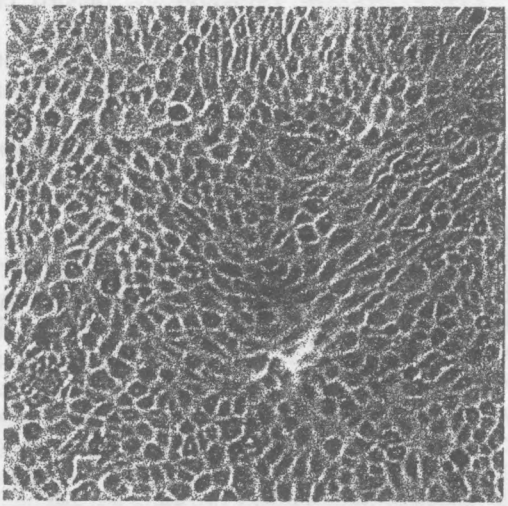

Рис 1 Незаражена культура ТТ

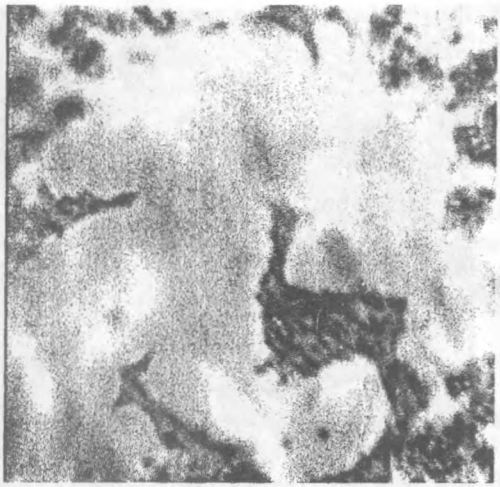

Рис 2 Культура ТТ заражена СВ-69

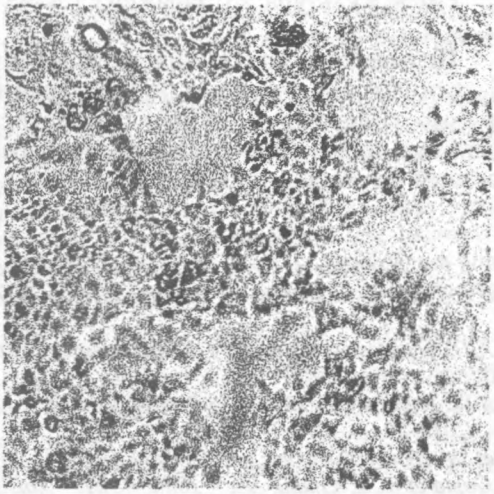

Рис 3 Культура ТТ заражена LR-10

Висновки

1. Герпесвірус першого типу зумовлює ЦПД на 2-3 добу, а герпесвірус другого типу (LR-10; LR-43) на 7-8 добу.

2. Після проведення 2-3 пасажів зростає патогенність першого і другого типів герпесвірусів коней до культури трахеї теляти та фібробластів шкіри коня.

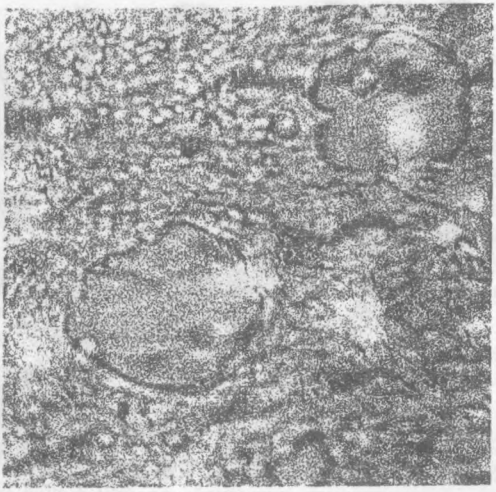

Рис 4 Культура ТТ заражена LR-43

Перспективи подальших досліджень

Розроблені технологічні прийоми культивування герпесвірусів першого та другого типів будуть використовуватись для отримання антигенів, які будуть використовуватись для розробки сучасних методів діагностики ринопневмонії коней.

Література

1. Орлянкин Б.Г., Непоклонов Е.А., Алипер Т.И., Классификация и номенклатура вирусов позвоночных // Ветеринария. - 2001. - №10. - С. 15-20.

2. Старчеус А. П. Герпесвіруси коней // Тваринництво України. - 1999. - №3-4. - С. 20-22.

3. Старчеус А.П. Герпесвіруси коней // Ветеринарна медицина України. - 1997. - №9. - С. 18-19.

4. Experimental infection of Donkeys with EHV-1 of Horse Origin — A Study. Ashok Kymar Gupta et at. J. Equine Sci. - 2000. - №2. - Vol. 11. - P. 29-33.

5. Цыбанов С.Ж. Идентификация вируса ринопневмонии лошадей с помощью ПЦР // Ветеринария. - 2000. - № 12. - С. 20-23.

КУЛЬТИВИРОВАНИЕ НА КУЛЬТУРАХ КЛЕТОК ГЕРПЕСВИРУСОВ ЛОШАДЕЙ ПЕРВОГО И ВТОРОГО ТИПОВ.

В.Л. Бегас, А.Е. Галатюк

Установлено увеличение концентрации герпесвирусов первого и второго типов и их гемаглютининов после адаптации и пересевах на культу-

рах трахеи телёнка и фибробластов кожи лошади. Герпесвирусы 1 и 2 типов цитопатогенное действие проявляли на 2 и 7-9 сутки соответственно.

CULTIVATION ON CULTURES OF CELLS HERPESVIRUSES HORSES OF THE FIRST AND SECOND TYPES

V.L. Behas, Oleksandr Ye. Galatyuk

The increase of concentration EHV-1 and EHV-2 types and them gemaglutinines after adaptation and resoqing on cultures of a trachea couts and fibroblastes leather (skin) of the horse is established. Herpesviruses Type 1 and Type 2 CC1D showed for 2 and 7-9 day accordingly.