

контрольной группой. В группах с пробиотиком Басулифор С толщина скорлупы была больше на 0,02 мм по сравнению с контрольной группой, соответственно, и прочность в данных группах была максимальной. Высота белка в группах с пробиотиком Басулифор С и комбинацией Басулифор С с Clostridium butyricum превышала таковую в контроле на 6,1% и 3,9% по сравнению с контрольной группой.

Заключение. Применение пробиотика Басулифор С как единственной добавки, так и в комбинации с Clostridium butyricum в рационе яичной птицы в возрасте старше 50 недель позволило повысить яйценоскость и выход яйцемассы, увеличивало толщину и прочность скорлупы в сравнении с контрольной группой. Добавка Clostridium butyricum не оказала существенного влияния на показатели продуктивности и качества скорлупы по сравнению с контрольной группой.

Библиографический список

1. Боствиронуа К., Шлейфер Ж., Сандванг Д. *Bacillus Subtilis* создает защитную биопленку на эпителии кишечника // Комбикорма.2020. №12. С.68-70.
2. Маркин Ю.В. Пробиотики – живая фабрика ферментов //Животноводство России. 2016;6:44-45.
3. Kazemi S.A., Ahmadi H., Karimi Torshizi M.A. Evaluating two multistain probiotics on growth performance, intestinal morphology, lipid oxidation and ileal microflora in chickens. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 2019;103:1399–1407.
4. Маркин Ю.В., Бетляева Ф.Х., Пекарь М.Н., Григорьева И.А., Шакер Ола. Пробиотики в кормлении промышленного стада кур. Птицеводство и птицепродукты. 2023;6:16-17.
5. Gadde U.D., Kim W.H., Oh S.T., Lillehoj H.S. Alternatives to antibiotics for maximizing growth performance and feed efficiency in poultry: A review. *Anim. Health Res. Rev.* 2017;18:26–45.

СЕКЦИЯ: «ВЕТЕРИНАРНАЯ МЕДИЦИНА И БИОБЕЗОПАСНОСТЬ В ЖИВОТНОВОДСТВЕ»

УДК 576.535.5

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КУЛЬТУР КЛЕТОК ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ БОЛЕЗНЕЙ РЫБ

Кряковцева Маргарита Николаевна, лаборант-исследователь лаборатории ихтиопатологии ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН, vr112@mail.ru
Алонцева Дарья Александровна, младший научный сотрудник лаборатории ихтиопатологии ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН
Завьялова Елена Александровна, кандидат биологических наук, заведующая лабораторией ихтиопатологии ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН

Аннотация: В статье рассмотрены культуры клеток эпителиальной папилломы карпа (EPC), яичника неполовозрелого карпа (ICO) и трансформированных клеток хвостового плавника карпа (CTF/T), использующиеся для лабораторной диагностики вирусных болезней рыб.

Ключевые слова: культуры клеток, лабораторная диагностика, EPC, ICO, CTF/T

Введение. На сегодняшний день культуры клеток рыб зарекомендовали себя как перспективный инструмент для изучения многих ключевых вопросов аквакультуры, такие как изучение роста, болезней, воспроизводство, генетику рыб и связанные с разведением рыб биотехнологические процессы. Кроме того, культуры клеток рыб являются моделями *in vitro* для токсикологических, патологических и иммунологических исследований [1]. Как в России, так и за рубежом, вирусные болезни рыб остаются одной из распространённых проблем аквакультуры, особенно вирус инфекционного некроза гемопоэтической ткани лососёвых (IHNV) и инфекционного некроза поджелудочной железы лососевых (IPNV) [2][3][4], что создаёт необходимость в эффективной диагностике. На сегодняшний день «золотым стандартом» по-прежнему остаётся заражение культур клеток из-за их способности накапливать вирус и не только подтверждать его предполагаемое наличие, но и его вирулентность [5]. В данной статье рассмотрены культуры клеток эпителиальной папилломы карпа (EPC), яичника неполовозрелого карпа (ICO) и трансформированных клеток хвостового плавника карпа (CTF/T) как культуры для диагностики вирусных болезней рыб.

В период с 1 января по 1 мая 2024 года в лабораторию ихтиопатологии ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН было доставлено 118 проб, методом ПЦР в реальном времени в 13 образцах был обнаружен вирус IHNV, в 15 образцах — вирус IPNV. Культуры клеток были использованы для повышения эффективности диагностики и подтверждения путём оценки цитопатического действия обнаруженных вирусов.

Подготовка проб. Для вирусологического исследования отбирались фрагменты печени, почки, селезёнки, сердца и скелетных мышц, гомогенизировались в ротаторе в течение 24 часов, после чего отобранная аликвота (1,5 мл) фильтровалась через шприц с фильтрационной насадкой с диаметром пор 0,22 мкм.

Подготовка культур клеток. Все три рассмотренные культуры клеток были взяты спустя 2 недели после последнего пассажа, трипсинизированы с помощью 0,25%-го раствора трипсина и раствора Версена (в соотношении 1:2), суспензированы в среде Игла-МЕМ с солями Хэнкса с добавлением 2% фетальной бычьей сыворотки. В 96-луночные планшеты вносили клеточную суспензию по 270 мкл в лунку, после чего в 1 ряд добавляли 30 мкл пробы и разводили до 7 ряда, 8 ряд использовался как отрицательный контроль. Проводилось три пассажа с интервалом в 2 недели.

Результаты. Результаты вирусологического исследования с использованием культур клеток представлены на рисунке 1:

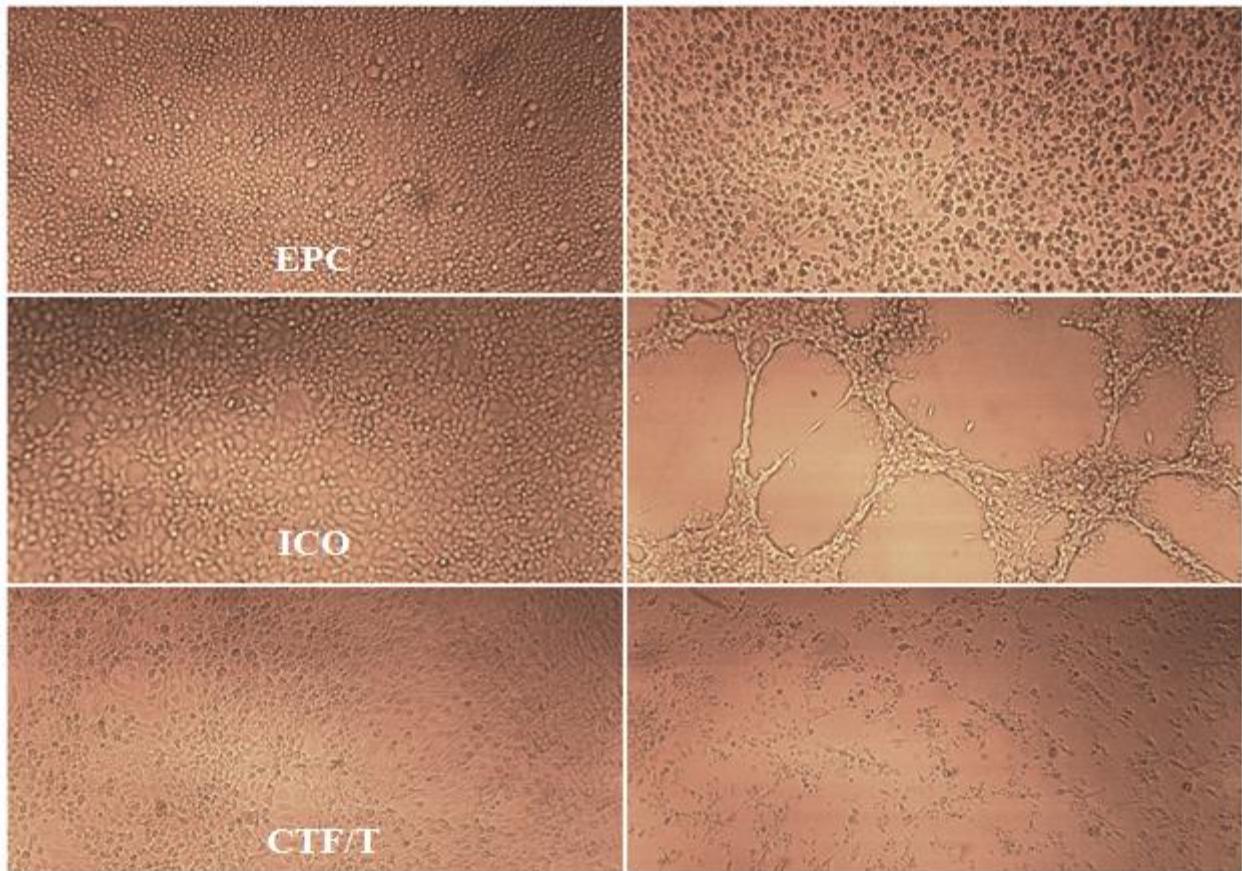


Рис.1 Результаты заражения культур клеток EPC, ICO и CTF/T.

Первый столбец — контроль, второй столбец — цитопатическое действие на 5 день 3 пассажа.

На рис. 1 можно увидеть нарушение монослоя и дегенерацию клеток, у ICO также признаком цитопатического действия вируса является образование бляшек.

Результат исследования показал, что заражение культур клеток является эффективным методом. Несмотря на быстроту и точность ПЦР-исследований на вирусные инфекции, культуры клеток по-прежнему необходимы в лабораторной диагностике вирусных болезней, так как их заражение не просто даёт положительный или отрицательный результат, но и наглядно демонстрирует вирулентность вируса, благодаря чему повышается эффективность диагностики, а также, из-за способности культур клеток накапливать вирус, возможно выделение новых полевых штаммов. Таким образом, диагностика вирусных болезней рыб с помощью культур клеток по-прежнему эффективна и необходима и, несмотря на сегодняшнюю распространённость более быстрых ПЦР-методик, от методов с культурами клеток пока рано отказываться и большее предпочтение следует отдавать заражению культур клеток как основному методу с последующим дополнением исследованиями с использованием метода ПЦР.

Библиографический список

1. Goswami, M et al. “Role and relevance of fish cell lines in advanced in vitro research.” *Molecular biology reports* vol. 49,3 (2022): 2393-2411. doi:10.1007/s11033-021-06997-4
2. E. A. Zavyalova, A. E. Droshnev, M. A. Karpova, D. A. Alontseva; Methodological approaches for preparing immunological components for diagnostic studies in ichthyopathology. *AIP Conf. Proc.* 4 February 2022; 2390 (1): 030100. <https://doi.org/10.1063/5.0070774>
3. Ren G, Xu L, Zhao J, Shao Y, Lin Y, Li L, Liu Q, Lu T, Zhang Q. Antiviral Activity of Crude Polysaccharide Derived from Seaweed against IHNV and IPNV In Vitro. *Viruses*. 2022; 14(9):2080. <https://doi.org/10.3390/v14092080>
4. Løkka G, Gamil AAA, Evensen Ø, Kortner TM. Establishment of an In Vitro Model to Study Viral Infections of the Fish Intestinal Epithelium. *Cells*. 2023; 12(11):1531. <https://doi.org/10.3390/cells12111531>
5. Hematian, A., Sadeghifard, N., Mohebi, R., Taherikalani, M., Nasrolahi, A., Amraei, M., & Ghafourian, S. (2016). Traditional and Modern Cell Culture in Virus Diagnosis. *Osong public health and research perspectives*, 7(2), 77–82. <https://doi.org/10.1016/j.phrp.2015.11.011>

УДК: 576.89.616.99:597

БИОЛОГИЯ ЛОСОСЕВЫХ ВШЕЙ (*LEPEOPHTHEIRUS SALMONIS*) И ИХ РОЛЬ В РАСПРОСТРАНЕНИИ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЛОСОСЁВЫХ РЫБ

Виктория Николаевна Кряковцева, лаборант-исследователь лаборатории ихтиопатологии ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН, victoria.kryakovtseva@yandex.ru
Алонцева Дарья Александровна, младший научный сотрудник лаборатории ихтиопатологии ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН, livejustonce@yandex.ru
Дрошнев Алексей Евгеньевич, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории ихтиопатологии ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН

Аннотация: В статье представлена информация о влиянии лососёвых вшей (в частности, *Lepeophtheirus salmonis*) на состояние отечественного и зарубежного лососеводства и дикой популяции лосося, их биологических особенностях и роли в передаче различных заболеваний лососёвых.

Ключевые слова: аквакультура, лососёвые, лососёвые вши, векторы передачи, *Lepeophtheirus salmonis*

Введение. На сегодняшний день аквакультура является источником рыбы для пищевых целей во многих странах по всему миру, в том числе в Российской Федерации, и лососёвые рыбы занимают на рынке аквакультуры важное место, считаясь одним из ценных видов рыб из-за своих вкусовых и пищевых качеств.