

что при воздействии выше перечисленных факторов у животных развиваются деформации, болезни области пальца и суставов с последующим развитием различных заболеваний некробактериозной этиологии.

Литература. 1. Джупина С.И. О неветеринарных аспектах некробактериоза//Ветеринарный консультант. - 2004.- № 22. С. 20-22. 2. Елисеев А.Н. и др. Гнойно-некротические поражения тканей

пальцев у сельскохозяйственных животных/ А.Н. Елисеев, А.И. Бледнов, С.В. Ванин, и др.// Материалы международной научно-практической конференции "Современные проблемы ветеринарной хирургии". СПб, 2004. – С. 28-29. 3. Рубленко М.В., Власенко С.А. Взаимосвязь возникновения гнойно-некротических процессов в области пальцев у коров и их репродуктивного статуса.// Материалы международной научно-практической конференции "Современные проблемы ветеринарной хирургии". СПб, 2004. – С. 47-49.

УДК 619:578,085,23:616.988.21

РЕПРОДУКЦИЯ ВАКЦИННОГО ВИРУСА БЕШЕНСТВА ШТ. 71 БЕЛНИИЭВ-ВГНКИ НА РАЗЛИЧНЫХ ЛИНИЯХ КУЛЬТУРЫ КЛЕТОК

Бучури Д.В., Ковалев Н.А., Усеня М.М., Уласович П.И.

РИУП "Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н.Вышелесского НАН Беларуси"

Для репродукции вакцинных штаммов вируса бешенства во всем мире широко используется множество первичнотрипсинизированных и перевиваемых линий культур клеток. Среди них наибольшее распространение получили как за рубежом, так и у нас перевиваемые линии культур клеток, таких как VERO – почка африканской зеленой мартышки, FRhK – эмбриональная почка обезьяны резус, ВНК – почка сирийского хомяка, BSR – дериват от ВНК, HDCC – диплоидные клетки человека. Из первичнотрипсинизированных культур клеток наибольшее удачным оказался ФЭК – фибробласты развивающихся эмбрионов кур.

В наших исследованиях для репродукции культурального вируса бешенства шт.71 БелНИИЭВ-ВГНКИ использовали первичнотрипсинизированную культуру клеток ПК – почка новорожденного кролика и ФЭК, а так же перевиваемые линии культуры клеток MA-104 – почка обезьяны, FRhK, VERO и ПС – почка сайги.

В качестве посуды для культивирования использовали 1,5 л матрасы из нейтрального стекла и 0,5л флаконы для роллерных установок. Для питания клеток использовали ростовую среду ИГЛА и 199 с 10% сыворотки КРС с добавлением глутамина и антибиотика, а поддерживающую среду с 2% или 5% сыворотки. До формирования полного монослоя культур клеток на поверхности сосудов в среднем уходило 2-3 дня.

Заражение культуры клеток культуральным вирусом бешенства производили как во взвеси до формирования монослоя, так и после его образования в матрасах и в роллерных флаконах. При заражении вирусом бешенства культуру клеток на монослой в матрасах и в роллерах применяли температурный режим адсорбции вируса 18-22° С и 37°±0,5°С в течение 1-1,5 час. Доза вируса для заражения на одну клетку варьировал от 0,01 MLD_{50/мл} до 1,0 MLD_{50/мл}. Период репродукции вируса бешенства в культуре клеток в среднем составлял от

3 до 6 дней после заражения, а также в зависимости от состояния монослоя культуры клеток и pH поддерживающей среды.

Количество последовательных пассажей вируса бешенства для адаптации на культуре клеток доводили до 8.

С целью установления динамики роста репродукции вируса бешенства в культуре клеток вирусодержащую жидкость 3, 5 и 8 пассажей титровали на 6-8 г белых мышах.

Результаты проведенных исследований показали, что как первичнотрипсинизированная культура клеток ФЭК, так и перевиваемые культуры VERO, FRhK и ПС являются хорошими биологическими материалами для репродукции культурального вируса бешенства шт.71 БелНИИЭВ-ВГНКИ для производства антирабических вакцин, как в промышленных масштабах, так и для исследовательских целей.

На наш взгляд фибробласты развивающихся куриных эмбрионов для репродукции вируса бешенства при производстве антирабических вакцин более экономичны и технологичны. В наших опытах титр вируса бешенства при его репродукции в культуре клеток ФЭК роллерным способом культивирования на 6-8 пассаже составил 5,5 Lg LD_{50/мл}.

Опыты по репродукции вируса бешенства на первичнотрипсинизированной культуре клеток ПК показали, что данная культура клеток является нетехнологичной и экономически нецелесообразной в виду дороговизны новорожденных крольчат. Максимальный титр вируса бешенства на 7-9 пассаже достигал 3,5-4,5 Lg LD_{50/мл}. Поэтому считаем ПК мало перспективной для репродукции вируса бешенства.

В наших исследованиях мы продолжительное время использовали перевиваемые культуры клеток VERO и FRhK. Культура клеток VERO для культивирования довольно неприхотливая культура, как для стационарных матрасов, так и для рол-

лнерных флаконов. При определенных условиях можно получить превосходный монослой VERO в течение 1,5-2 суток, а титр вируса бешенства через 4 дня инкубации после заражения может достичь 7,5 Lg LD_{50/мл}. На культуре VERO вирус бешенства адаптируется хорошо, и вирусосодержащая жидкость 5-7 пассажа можно использовать как посевной вакцинный материал для заражения культуры клеток.

По данным мировой литературы максимальный титр вируса бешенства может достичь 8,2-8,8 Lg LD_{50/мл}, но это, очевидно, при использовании высококачественных питательных сред, с добавлением так называемого "фактора роста", фетальной сыворотки и DEAE декстрана, увеличивающего адсорбцию вируса бешенства на культуре клеток.

Культура клеток FRhK образует полный монослой в течение 2-3 дней. Вирус бешенства, адсорбированный на монослой, адаптируется хорошо и на 6-7 пассаже с инкубационным периодом 3-5 дней титр достигает 7,0 Lg LD_{50/мл}. В экспериментах нами был получен титр вируса бешенства 7,75 Lg LD_{50/мл} при роллерном способе культивирования FRhK с использованием поддерживающей среды ИГЛА с 2% сыворотки КРС. Адсорбцию и инкубацию вируса бешенства проводили при 37⁰C ± 0,5⁰C.

По мнению российских авторов культураль-

ный вирус бешенства шт.71 БелНИИЭВ-ВГНКИ хорошо репродуцируется на культуре клеток ПС. Проведенные нами исследования в этом направлении подтвердили выводы российских ученых. После проведения 3 последовательных пассажей вируса бешенства на ПС титр вируса достиг 6,0 Lg LD_{50/мл}. Предположительно после некоторых изменений в заражающей дозе для адсорбции вируса бешенства на культуре клеток и увеличения последовательных пассажей до 8 титр вируса можно повысить до 7,5-7,75 Lg LD_{50/мл}. Культура клеток ПС полный монослой образует в течение 2-3 дней, и по нашим наблюдениям монослой клеток в стационарных условиях не сползает со стенок сосуда до 14 дней, что важно для снятия нескольких урожаев вируса после заражения культуры клеток.

Таким образом, на основе проведенных многочисленных опытов можно сделать заключение о том, что для максимальной репродукции культурального вируса бешенства шт. 71 БелНИИЭВ-ВГНКИ в тканевых культурах успешно можно использовать первичнотрипсинизированную культуру клеток развивающихся куриных эмбрионов. Из перевиваемых культур клеток лучшие результаты дают VERO, FRhK и ПС. Выше перечисленные тканевые культуры при репродукции вируса бешенства являются экономичными и технологичными.

УДК 619:579.841.94

ПАТОГЕННОСТЬ БОРДЕТЕЛЛ ДЛЯ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

Вербицкий А.А.

УО «Витебская государственная академия ветеринарной медицины», Республика Беларусь

Толяронок Г.Е.

РНИУП «Институт экспериментальной ветеринарии НАН Беларуси»

Большую опасность для свиноводства представляют респираторные болезни, так как при определенных условиях появляется возможность передачи возбудителей как воздушно-капельным путем, так и при прямом контакте больных и здоровых животных. Одним из факторов респираторной патологии является *Bordetella bronchiseptica*.

Для подтверждения взаимосвязи бордетелл с заболеваемостью пневмонией нами произведено ряд опытов по экспериментальному инфицированию лабораторных животных.

Патогенность выделенных бордетелл определяли для белых мышей и морских свинок.

Для первого опыта использовали белых мышей массой 18-20 граммов обоего пола. Заражали опытных животных 24 – часовой агаровой культурой бордетелл на стерильном изотоническом растворе натрия хлорида, с концентрацией микробной взвеси 1 млрд. микробных клеток в 1 мл по стандарту мутности, которую вводили мышам внутрибрюшинно в дозе 0,1; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0 мл, что составляло 100 млн.; 200 млн.; 400 млн.; 600 млн.; 800 млн.; 1 млрд. микробных тел, используя на каждую дозу по 5 животных.

Результаты опыта представлены в таблице.

Таблица - Вирулентность бордетелл для белых мышей.

Вид животных	Доза (в м. т.)	Количество животных на дозу	Количество животных	
			пало	выжило
Белые мыши	100 млн.	4	0	4
— " —	200 млн.	4	1	3
— " —	400 млн.	4	2	2
— " —	600 млн.	4	3	1
— " —	800 млн.	4	4	0
— " —	1 млрд.	4	4	0