

**БУЧУКУРИ Д.В.**, кандидат ветеринарных наук  
**КОВАЛЕВ Н.А.**, доктор ветеринарных наук, профессор  
**УСЕНЯ М.М.**, кандидат ветеринарных наук  
**УЛАСОВИЧ П.И.**, кандидат ветеринарных наук  
РИУП "ИЭВ им. С.Н.Вышелесского НАН Беларуси"

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

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 наиболее 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 МА-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 ИГ-ЛА 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<sub>50</sub>/мл Д° 60

MLDsoiM<sub>J</sub>i. 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 вирусосодержащую 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, FRhR и ПС являются хорошими биологическими материалами для репродукции культурального вируса бешенства шт.71 БелНИИ-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 6Bzo/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 LDso/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 непритворливая культура, как для стационарных матрасов, так и для роллерных 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 LDso/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 LDso/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  $7,0 \text{ Lg LD}_{50}/\text{мл}$ . В экспериментах нами был получен титр вируса бешенства  $7,75 \text{ Lg EO}_{50}/\text{мл}$  при роллерном способе культивирования FRhK с использованием поддерживающей среды ИГЛА с 2% сыворотки КРС. Адсорбцию и инкубацию вируса бешенства проводили при  $37^{\circ}\text{C}$ .

По мнению российских авторов культуральный 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  $6,0 \text{ Lg}$ . 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  $7,5-7,75 \text{ Lg LD}_{50}/\text{Мп}$ . 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 первичнотрипсинозную 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 619:614.31:637.5

**ВЕРБИЦКАЯ Л.А.**, аспирант

УО "Витебская государственная академия ветеринарной медицины"

## **ОРГАНОЛЕПТИЧЕСКИЕ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ МЯСА ОВЕЦ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ АВЕРСЕКТИНА**

С целью изучения влияния антигельминтного препарата аверсектин на доброкачественность и безвредность баранины нами был проведен комплекс органолептических и физико-химических исследований мяса. По принципу аналогов было сформировано 2 группы здоровых овец по 3 головы в каждой. Подопытной группе в виде болюсов