

АДАПТАЦИЯ ВИРУСА МИКСОМЫ КРОЛИКОВ К ПЕРЕВИВАЕМЫМ КУЛЬТУРАМ КЛЕТОК

Конончик Е. С., Згировская А. А., Ломако Ю. В.

РУП «Институт экспериментальной ветеринарии
им. С. Н. Вышелесского»
г. Минск, Республика Беларусь

В настоящее время наиболее опасным заболеванием для кроликов является миксоматоз, или «Львиная голова» – это вирусная, высококонтагиозная и широко распространенная болезнь, типичными признаками проявления которой являются блефароконъюнктивит, отёчно-студенистая инфильтрация подкожной клетчатки в области головы, гениталий, ануса, других участков тела. Заболевание приводит к высокой летальности животных [1, 2].

Целью нашей является подбор штамма вируса миксомы кроликов и разработка методов его культивирования.

Из литературных источников известно, что для изготовления живой вакцины против миксоматоза кроликов можно использовать следующие вакцинные штаммы вируса миксомы [2]:

1. Штамм вируса миксомы кроликов В-82.
2. Аттenuированный вакцинный штамм Микс-98.
3. Вакцинный штамм вируса миксомы – SG 33.
4. Штамм MAV/RK-13/20 (штамм вакцины Меварекс).

При подборе штамма вируса миксомы кроликов мы исходили из наличия вируса и перечня культур клеток, которые можно культивировать на базе нашего института. Свой выбор мы остановили на штамме вируса миксомы кроликов В-82, предварительно адаптировав его к перевиваемым культурам клеток почки зеленой мартишки CV-1 и Vero. Хотя из литературы известно, что чаще всего этот штамм вируса культивируют на первично-трипсинизированных фибробластах эмбрионов кур и первичных клетках почки крольчонка. Использование первично-трипсинизированных культур для производства вакцин требует высоких материальных затрат, технологический процесс является трудоёмким, поскольку предполагает использование в качестве исходного сырья ткани куриных эмбрионов или крольчат. Первичные культуры клеток ПК и ФЭК не стандартизированы по своим свойствам и зависят от индивидуальных особенностей используемых животных и эмбрионов, вирус в этих культурах накапливается в невысоких титрах.

Репродукция вакцинных штаммов вируса миксомы часто характеризуется невысокими уровнями его накопления. Поэтому вопрос о повышении урожая вируса при его культивировании в культуре клеток является актуальным.

Для достижения накопления выбранного штамма вируса миксомы в титрах, достаточных для изготовления вакцины, необходимо подобрать линию клеток и отработать параметры культивирования в ней вируса. Вирус миксомы кроликов культивировали на перевиваемых линиях клеток CV-1 и Vero. Культура клеток Vero хорошо изучена в нашем институте, поэтому основное внимание мы уделили особенностям культивирования клеток CV-1. На первом этапе работы определяли при какой посевной концентрации клеток получается наиболее подходящий монослой для заражения вирусом миксомы. Для определения оптимальной концентрации клеток при пересеве исследовали концентрации 80, 100, 120, 150, 200 тыс.кл/см³ среды. Клеточный монослой формировался в течение 24 часов при пересеве клеток в концентрации 150-200 тыс.кл/см³, в течение 40-48 часов при концентрации клеток 80-120 тыс.кл/см³. Вирусом миксомы заражали матрасы с клеточным монослоем, сформированным через 24, 36-40 часов. Культивирование вируса проводили в течение 3-х пассажей. Цитопатическое действие вируса на клетки стало четко проявляться только на 3-м пассаже. Наиболее четкая картина действия вируса на клетку проявлялась на двухсуточной культуре клеток, т. е. при посевной концентрации 80-120 тыс.кл/см³.

При заражении культуры клеток Vero цитопатическое действие вируса проявилось к 4-му пассажу. Цитопатическое действие вируса в культуре клеток как CV-1, так и Vero характеризовалось округлением клеток, стягиванием их в тяжи, формированием из этих тяжей "паучков", в дальнейшем образовывались "окна" между "паучками", монослой отслаивался от стекла.

Вирус, адаптированный к культуре клеток CV-1 и Vero, был депонирован в коллекции микроорганизмов института с присвоением ему номера КМИЭВ-V141.

ЛИТЕРАТУРА

1. Герасимчик В. А. Инфекционные и незаразные болезни пушных зверей и кроликов: учеб.-метод. пособие / В. А. Герасимчик.; ВГАВМ.-Витебск, 2011. – 190 с.
2. Коломьцев, А. А. Миксоматоз кроликов/ А. А. Коломьцев, О. Н.Будринская// Кролиководство и Звероводство [Электронный ресурс].-2005.-№6.-Режим доступа: - Дата доступа: 19.02.2015.