

УДК 619:616.98:578.824.11:616-036.22

М. Ю. ІВАНОВ, кандидат ветеринарних наук
Інститут ветеринарної медицини НААН, м. Київ

ІЗОЛЯЦІЯ ВУЛИЧНОГО ВІРУСУ СКАЗУ З ПАТОЛОГІЧНОГО МАТЕРІАЛУ

Представлені результати лабораторних досліджень ізоляції вуличного вірусу сказу в культурах клітин NA, ВНК-21 і НС та на білих мишах.

Ключові слова: вуличний вірус сказу, культури клітин

Для проведення досліджень імунобіологічних властивостей вуличних ізолятів вірусу сказу, однією з першочергових задач є виділення вірусу з патологічного матеріалу. З цією метою найчастіше застосовують методики ізоляції вірусу *in vivo* (на білих мишах) та *in vitro* (в культурах клітин неврального походження) [1, 4, 6, 10].

Виділення вірусу сказу проводять також на інших типах клітин: ВНК-21, CER, McCoу, клітинах ВРХ, кажанів, скунсів, собак та койотів, втім вони як правило володіють меншою чутливістю [5, 7, 9].

Зважаючи на те, що в літературних джерелах зустрічаються суперечливі дані щодо чутливості до вуличного вірусу сказу різних методів ізоляції і окремих культур клітин, **метою** нашої роботи стала оцінка методик виділення вуличного вірусу сказу з патологічного матеріалу в культурі клітин в порівнянні з виділенням вірусу сказу на білих мишах.

Матеріали та методи. *Культури клітин:* ВНК-21/13 (перещеплювана лінія клітин нирки сірійського хом'яка); NA (перещеплювана культура клітин нейробластоми миші) та НС (перещеплювана лінія клітин нирки сайги).

Вірус сказу. 12 польових ізолятів вірусу сказу від 6-и видів тварин (кота, собаки, лисиці, ВРХ, борсука та вовка).

Реактиви: моноклональний глобулін FITC (США, Centocor).

Середовище: середовище Ігла (MEM), фетальна сироватка крові ВРХ (США, Sigma).

Виділення вуличних ізолятів вірусу сказу на білих мишах проводили за Корrowski Н. (1996) [6].

Виділення вуличних ізолятів вірусу сказу в культурах клітин проводили використовуючи методи інокуляції вірусу в сформований моношар.

Культивування клітин проводили на 96-лункових полістиролових панелях в середовищі Ігла (MEM) з додаванням 8-10 % фетальної сироватки крові ВРХ. Суспензію клітин ($1,5-2,0 \times 10^5$ клітин/см³) в об'ємі 0,2 см³ вносили в лунки полістиролових мікропанелей для культивування клітин, накривали кришками і поміщали в СО₂-інкубатор (концентрація СО₂ – $5 \pm 0,1$ %, температура – $37 \pm 0,5$ °С і вологість 95 %). Через 24 години інкубації контролювали утворення моношару клітин на дні лунок панелей. Зараження культури клітин проводили через 24-36 годин після висівання, за умови формування 80-90 % моношару.

Далі видаляли ростове середовище та вносили 0,2 см³ 2 % суспензії патологічного матеріалу на середовищі Ігла (МЕМ). Інкубували в СО₂-інкубаторі (концентрація СО₂ – 5±0,1 %, температура – 37 ± 0,5 °С і вологість 95 %) протягом 60 хвилин (час адсорбції). Після чого видаляли інфіковане середовище з лунок і вносили підтримуюче середовище (Ігла (МЕМ) з додаванням 2 % фетальної сироватки ВРХ).

Полістеролові мікропанелі інкубували при 37±0,5 °С, 5±0,1 % СО₂ і вологості 95 % протягом 4-х діб.

Візуалізацію репродукції вірусу сказу в культурах клітин проводили шляхом постановки РПФ.

Результати. Нами для ізоляції вуличного вірусу сказу були обрані культури клітин ВНК 21, НС та NA. Культура клітин ВНК-21 широко застосовується для культивування вакцинних штамів та виділення вуличного вірусу сказу [8], але пізніше була показана перевага застосування культур неврального походження для ізоляції вуличного вірусу сказу [7].

В досліді застосовані вуличні ізоляти вірусу сказу, які були успішно виділені на білих мишах. З 12-и досліджених матеріалів в культурі клітин ВНК-21 виділено вісім (67 %). Культура клітин NA показала вищу чутливість, яка знаходилася на рівні 92 % (виділено 11 з 12 матеріалів) у порівнянні з біопробою на мишах. Низька чутливість до вуличних ізолятів вірусу сказу встановлена у культури клітин НС, в якій було виділено два з 12 (17 %) вуличних ізолятів вірусу сказу (таблиця 1).

Таблиця 1

Порівняння чутливості систем *in vivo* та *in vitro* при виділенні вуличних ізолятів вірусу сказу

| № п/п | Ізолят | Культура клітин | | | Біопроба |
|-------|---------|-----------------|----|-----|----------|
| | | ВНК-21 | NA | НС | |
| 1 | 09C66 | + | + | - | + |
| 2 | 09C92 | + | + | - | + |
| 3 | 09D121 | + | + | +/- | + |
| 4 | 09F94 | - | + | - | + |
| 5 | 09D84 | - | + | - | + |
| 6 | 09F108 | + | + | - | + |
| 7 | 08C39 | + | + | - | + |
| 8 | 09D71 | - | + | - | + |
| 9 | 09D58 | + | + | - | + |
| 10 | 09CO111 | + | + | - | + |
| 11 | 09CO103 | + | + | +/- | + |
| 12 | 09D106 | - | - | - | + |

Примітки: + – позитивний результат; – – негативний результат; +/- – суперечливий результат.

Таким чином в наших дослідженнях була підтверджена найбільша чутливість біопроби на білих мишах як методу виділення вуличних ізолятів вірусу сказу. А культура клітин неврального походження NA показала вищу чутливість порівняно з ВНК-21 (92 та 67 % відповідно). Хоча інші автори повідомляли про те, що чутливість ВНК-21 знаходиться на рівні 98 %, а культури неврального походження за чутливістю не поступаються біопробі на мишах [1, 2, 3, 7].

Висновки.

Проведені порівняльні дослідження методів виділення вірусу сказу в культурі клітин і на білих мишах свідчать, що чутливість культури клітин NA становить 92 % (проти 100 % у білих мишей).

1. *Татаров А. Г.* Выделение рабического вируса и экспресс-диагностика бешенства в культуре перевиваемых клеток НГУК-1 / А. Г. Татаров, Н. А. Хисматуллина, М. А. Селимов, В. Я. Кармышева // Вопросы вирусологии. – 1987. – № 5. – С. 619-621.

2. *Янбарисова С. Р.* Методы лабораторной диагностики бешенства животных в сравнении с общепринятыми методами / С. Р. Янбарисова, Н. А. Хисматуллина // Ветеринария с.-х. животных. – 2009. – №10. – С. 28-31.

3. *Янбарисова С. Р.* Сравнение традиционных и экспресс-методов лабораторной диагностики бешенства / С. Р. Янбарисова // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2010. – № 1. – С. 90-92.

4. *Barrat J.* Diagnosis of rabies by cell culture / J. Barrat // Comparative immunology, microbiology and infectious diseases – 1988. – No. 11. – P. 207-214.

5. *Consaes C.* Cytopathic effect induced by rabies virus in McCoy cells / C. Consaes // Journal of virological methods. – 1990. – Vol. 27. – P. 277-285.

6. *Koprowski H.* The mouse inoculation test. / F. Meslin, M. Kaplan, H. Koprowski // Laboratory techniques in rabies. [4th ed.]. – Geneva: WHO, 1996. – p. 80–87.

7. *Rudd R.* Comparison of sensitivity of BHK-21 and murine neuroblastoma cells in the isolation of a street strain rabies virus / R. Rudd, C. Trimarchi // J. Clin. Microbiol. – 1987. – No. – P. 1456-1458.

8. *Rudd R.* Tissue culture technique for routine isolation of street strain rabies virus / R. Rudd, C. Trimarchi, M. Abelseth // J. Clin. Microbiol. – 1980. – Vol. 12. – No. 4. – P. 590-593.

9. *Tollis M.* Sensitivity of different cell lines for rabies virus isolation / M. Tollis, C. Buonavoglia, L. di Trani, E. Vignolo. Journal of Veterinary Medicine. – 1988. – Vol. 35. – P. 504–508.

10. *Webster W.* Diagnosis of rabies infection / W. Webster, G. Casey // Rabies [ed. J. Campbell K. Charlton]. – Boston: Kluwer Academic Publishers, 1988. – P. 201-222.

ИЗОЛЯЦИЯ ВИРУСА БЕШЕНСТВА ИЗ ПАТОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА / Н. Ю. Иванов

Представлены результаты лабораторных исследований по изоляции уличного вируса бешенства в культурах клеток NA, ВНК-21 и ПС и на белых мышах.

Ключевые слова: уличный вирус бешенства, культуры клеток

ISOLATION OF RABIES VIRUS FROM PATHOLOGICAL MATERIAL / M. Ivanov

The results of laboratory research of the isolation of street rabies virus in cell cultures NA, ВНК-21 and SK and white mice were presented.

Key words: street rabies virus, cell cultures

Рецензент – кандидат ветеринарных наук В. А. Уховський