

REFERENCES

1. Sobko, Ju.A, Prysokka, V.A., & Vabishhevych, F.S. (2008). Afrykans'ka chuma svynej nagaduje pro sebe [African swine fever reminds of itself]. *Veterynarna medycyna Ukrainy – Veterinary Medicine of Ukraine*, 12, 14 [in Ukrainian].
2. Shykov, O.T. (2009). Dejaki aspekty monitoryngu afrykans'koi' chumy svynej [Some aspects of the monitoring of African swine fever]. *Veterynarna medycyna Ukrainy. – Veterinary Medicine of Ukraine*, 1, 7-8 [in Ukrainian].
3. Gerasimov, V.N. et al. (2009). Likvidacija afrikanskoj chumy svinej v Respublike Abhazija [The elimination of African swine fever in the Republic of Abkhazia]. *Veterinarija sel'skohozhajstvennyh zhivotnyh. – Veterinary of farm animals*, 3, 18-23 [in Russian].
4. Luther, N.J. et al. (2007). Polymerase chain reaction (PCR) detection of the genome of african swine fever virus (ASFV) from natural infection in a nigerian baby warthog (*Phacochoereus aethiopicus*). *Nigerian Veterinary Journal*, 28, 2, 63-67.
5. Gallardo, C. et al. (2011). African swine fever viruses with two different genotypes, both of which occur in domestic pigs, are associated with ticks and adult warthogs, respectively, at a single geographical site. *Journal of General Virology*, 92, 432-444.
6. Dixon, L.K. et al. (2000). Family Asfarviridae // Virus Taxonomy : 7th Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses / ed. M. H. V. Regenmortel et al. *San Diego : Academic Press*, 159-165.
7. Makarov, V.V. & Suharev, O.I. et al. (2010). Dikij evropejskij kaban. Prirodnaja ochagovost' afrikanskoj chumy svinej [European Wild Boar. Natural focality of African swine fever]. *Veterinarija. – Veterinary medicine*, 9, 24-28 [in Russian].
8. Disease outbreak maps (2016). www.oie.int. Retrieved from http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/Diseaseoutbreakmaps.

УДК 619:616.98:578.834.11:57.083.224:636.52/.58

СТЕГНІЙ Б.Т., д-р вет. наук, проф., академік НААН, e-mail: Boris.stegniy@gmail.com,

ПОТРЯСАЄВА О.О.*, e-mail: e_potryasaeva@mail.ru,

МУЗИКА Д.В., д-р вет. наук, e-mail: dmuzyka77@gmail.com

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини»

ВИКОРИСТАННЯ КУЛЬТУРИ ФІБРОБЛАСТІВ ЕМБРІОНІВ КУРЕЙ ТА ПЕРЕПЛІОК ДЛЯ КУЛЬТИВУВАННЯ ВІРУСУ ІНФЕКЦІЙНОЇ БУРСАЛЬНОЇ ХВОРОБИ

У статті представлено дані щодо визначення оптимальних посівних концентрацій клітинної суспензії фібробластів курячих ембріонів (ФЕК) та фібробластів ембріонів перепелів (ФЕП) з метою одержання сформованого моношару, а також наведені результати щодо вибору оптимальних систем культивування вірусу інфекційної бурсальної хвороби (ІБХ). Досліджуваний штам вірусу інфекційної бурсальної хвороби адаптований до

* Аспірант

культивування в первинно – трипсинізованих культурах клітин фібробластів ембріонів курей і перепілок. Визначено рівень накопичення вірусу в цих біологічних системах.

Ключові слова: вірус ІБХ, культивування, культура клітин, інфекційна активність.

Вступ. Серед інфекційних захворювань птиці особливе місце посідає інфекційна бурсальна хвороба (ІБХ), що зумовлено характерними особливостями як захворювання, так і збудника, а саме: тривалим збереженням вірусу ІБХ у зовнішньому середовищі, наявністю субклінічного пребігу хвороби, вираженим імуносупресивним впливом вірусу на організм птиці [1, 2]. З метою попередження хвороби Гамборо потрібно застосовувати біопрепарати, які повинні бути високоефективними, нешкідливими та економічними, виготовлені з використанням сучасних промислових технологій та методів стандартизації [3]. Процеси отримання вірусної сировини можуть бути більш технологічними, якщо для її накопичення використовувати клітинні культури [4–6]. В якості доступної системи культивування можна використовувати прості в одержанні і низькі за собівартістю первинно-трипсинізовані культури фібробластів птиці [1].

Мета роботи. Вивчення впливу посівної концентрації суспензії клітин фібробластів ембріонів курей (ФЕК) та ембріонів перепілок (ФЕП) на формування повноцінного моношару культури клітин, а також порівняння рівнів накопичення вірусу хвороби Гамборо в культурах клітин ФЕК та ФЕП.

Матеріали і методи досліджень. Вірус – ліофілізований штам «Winterfield 2512» вірусу інфекційної бурсальної хвороби, освіжений на 10-ти добових ВПФ курячих ембріонах одним пасажем.

Використовували поживні середовища 199 та Ігла (ДМЕМ) виробництва ТОВ «НДП «Ветеринарна медицина», сироватку крові великої рогатої худоби (ВРХ) виробництва ТОВ «НДП «Ветеринарна медицина».

Первинні культури фібробластів виготовляли з 9–10 –ти добових ВПФ-курячих ембріонів та з 8–9-ти добових перепілкових ембріонів за загальноприйнятими методиками [4].

Культивування вірусу ІБХ здійснювали протягом 24 годин у матрасах за температури $37\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ до формування суцільного моношару без ознак дегенерації клітин. Використовували живильні середовища з додаванням 10% сироватки крові ВРХ. Через 24 години формування суцільного моношару ростове середовище заміняли на підтримуюче, що складалося із суміші середовищ у рівних пропорціях з додаванням 2% сироватки крові ВРХ.

Інфікування культур клітин ФЕК і ФЕП проводили після формування моношару клітин через 24 години інкубації у термостаті за температури $37\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ шляхом внесення вірусу інфекційної бурсальної хвороби у розведенні 1:10 з фосфатно-буферним розчином рН 7,2 у співвідношенні 1:3 до об'єму культурального середовища. Після експозиції на протязі 30 хвилин у термостаті за температури $37\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ у кожний матрас вносили підтримуюче середовище.

Характер цитопатичних змін вивчали за допомогою інвертованого мікроскопу «Біолам П-1» (Ломо).

Титрування вірусу проводили з використанням культур клітин ФЕК і ФЕП, титр біологічної активності виражали в \lg ТЦД₅₀/см³ і його розрахунок проводили за методом Ріда та Менча [4].

Результати досліджень та їх обговорення. На першому етапі досліджень ми визначали оптимальну посівну концентрацію клітинних суспензій ФЕК та ФЕП для одержання якісного моношару клітин через 24 години. З цією метою готували декілька варіантів концентрації клітин у суспензіях. Концентрацію клітин в культурах ФЕК і ФЕП проводили за загальноприйнятою методикою [4]. Результати досліджень представлені в таблиці 1.

Таблиця 1

Формування моношару клітин при різних посівних концентраціях клітинних суспензій ФЕК та ФЕП

Посівна концентрація клітинної суспензії, $\times 10^5$ кл/см ³	Відсоток формування клітинного моношару, год			
	12	24	36	48
5,0	5–10	20–40	50–60	70–90
7,0	10–20	40–50	60–70	80–90
8,0	50–70	90–100	100	100
10,0	70–90	90–100	100	100

На підставі результатів, наведених в таблиці 1, найбільш оптимальними посівними концентраціями для одержання моношару через 24 години були концентрації клітин у посівних суспензіях 8×10^5 та 10×10^5 кл/см³. Більш низькі концентрації клітин не забезпечували формування повного моношару за 24 години.

Динаміка цитопатичних змін після зараження культур ФЕК та ФЕП з дослідним штамом вірусу ІБХ представлена в таблиці 2.

Таблиця 2

Динаміка ЦПД штаму вірусу ІБХ на культурах клітин фібробластів

Використані культури	Терміни та характер прояву ЦПД				
	24 год.	48 год.	72 год.	96 год.	120 год.
Первинна культура ФЕК з ВПФ-ембріону	Без змін	Округлення клітин	Деструкція 40% клітин моношару	Деструкція 70% клітин моношару	Максимальна деструкція моношару
Первинна культура ФЕП	Без змін	Округлення клітин	Деструкція 30% клітин моношару	Деструкція 70% клітин моношару	Максимальна деструкція моношару

Як показують результати, представлені в таблиці 2, перші характерні зміни моношару ми спостерігали через 48 годин на культурі ФЕК з ВПФ-ембріону та на культурі ФЕП. Вони мали однакові характерні ознаки: округлення клітин, а через 72 години деструкція моношару була виражена на 30% та 4% відповідно, до 120 годин культивування – максимальне руйнування

моношару. З метою адаптації дослідного штаму вірусу ІБХ до первинних культур клітин ФЕК з ВПФ-ембріонів та ФЕП було проведено 10 послідовних пасажів із визначенням титру інфекційної активності. Результати досліджень представлені в таблиці 3.

Таблиця 3

Рівень накопичення вірусу ІБХ в культурах клітин

Культури клітин	Титр інфекційної активності штаму вірусу ІБХ, lg ТЦД ₅₀ /см ³						
	4 пасаж	5 пасаж	6 пасаж	7 пасаж	8 пасаж	9 пасаж	10 пасаж
Первинна культура ФЕК з ВПФ-ембріону	0	0	2,0±0,25	3,0±0,14	3,0± 0,18	4,75±0,15	4,75±0,25
Первинна культура ФЕП	0	0	3,0±0,17	3,0± 0,18	3,75±0,25	4,75±0,15	5,75±0,15

Як показують результати, представлені в таблиці 3, титр інфекційної активності дослідного штаму вірусу ІБХ в культурі ФЕК з ВПФ-ембріону максимально складав 4,75 lg ТЦД₅₀/см³ після 9 пасажу та продовжував зберігатися до 10 пасажу. Культивування вірусу на культурі клітин ФЕП привело до поступового зростання титру інфекційної активності після 5 пасажу, максимальний його титр складав 5,75 lg ТЦД₅₀/см³ на рівні 10-го пасажу.

Висновки та перспективи подальших досліджень:

1. Доведено, що в якості доступної системи культивування штаму «Winterfield 2512» вірусу ІБХ можна використовувати прості в одержанні первинно-трипсинізовані культури клітин.

2. Встановлено, що найбільш оптимальними посівними концентраціями для одержання якісного моношару через 24 години були концентрації клітин у посівних суспензіях 8×10^5 та 10×10^5 кл/см³.

3. Встановлено, що в результаті адаптації вірусу ІБХ до культури ФЕП найвищий титр його інфекційної активності склав 5,75 lg ТЦД₅₀/см³ на рівні 10-го пасажу.

З метою подальшого вивчення біологічної активності штаму «Winterfield 2512» вірусу ІБХ розпочата робота щодо адаптації досліджуваного вірусу до інших біологічних систем культивування, таких як перещеплювальні культури клітин та первинні культури клітин інших видів птиці.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Алиев А.С. Инфекционная бурсальная болезнь / А.С. Алиев // С.- Петербург. – 2010. – 250 с.
2. Рула О. М. Шляхи забезпечення епізоотичного благополуччя птахогосподарств України щодо інфекційної бурсальної хвороби (хвороби Гамборо) / О.М. Рула // Ветеринарна медицина. – 96. – 2012. – С. 230–232.
3. Стегній Б.Т. Науковий супровід ветеринарних проблем птахівництва України / Б.Т. Стегній, Д.В. Музика // Ветеринарна медицина України. – 2013. – №10. – С. 19–22.
4. Сюрин В.Н. Диагностика вирусных болезней животных: справочник / В.Н. Сюрин, Р.В. Белоусова, Н.В. Фомина // М.: Агропромиздат. –1991. – 528 с.
5. Малахова Л.В. Культивирование вируса оспы птиц в перевиваемых и первично-

трипсинизированных культурах клеток / Л.В. Малахова, К.Ю. Федосеев, М.С. Кукушкина // Ветеринария сегодня. – 2014. – №2. – С. 28–33.

6. Калініна О.С. Ветеринарна вірусологія / О.С. Калініна, І.І. Панікар, В.Г. Скибицький // Підручник.- Київ: Вища освіта. – 2004. – 432 с.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КУЛЬТУРЫ ФИБРОБЛАСТОВ ЭМБРИОНОВ КУР И ПЕРЕПЕЛОВ ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ВИРУСА ИНФЕКЦИОННОЙ БУРСАЛЬНОЙ БОЛЕЗНИ / Стегний Б.Т., Потрясаева Е.А., Музыка Д.В.

В статье представлены данные по определению посевной концентрации клеточной суспензии фибробластов куриных эмбрионов (ФЭК) и фибробластов эмбрионов перепелов (ФЭП), а также приведены результаты по выбору оптимальных систем культивирования вируса инфекционной бурсальной болезни (ИБХ). Исследуемый штамм вируса инфекционной бурсальной болезни адаптирован к культивированию в первично - трипсинизированных культурах клеток фибробластов эмбрионов кур и перепелок. Определен уровень накопления вируса в данных биологических системах.

Ключевые слова: вирус ИБХ, культивирование, культура клеток, инфекционная активность.

APPLYING OF CHICKEN AND QUAIL EMBRYOS FIBROBLASTS CULTURE FOR THE CULTIVATION OF INFECTIOUS BURSAL DISEASE VIRUS/ Stegnyy B.T., Potrjasajeva E.A., Muzyka D.V.

Introduction. *Infectious bursal disease (IBD) occupies special place among infectious avian diseases due to specific characteristics both of the disease, and of the pathogen, namely long term of virus environmental preservation, appearance of disease's subclinical stage and pronounced immunosuppressive effect. To prevent Gumboro disease it is necessary to use highly effective, non-harmful and economic biological products, manufactured using modern industrial standardization techniques. Virus material's obtaining can be technologically pure when using cell cultures for its accumulation. Simple in reciprocity and low in cost primary trypsinized avian fibroblasts cultures can be used as available cultivation system.*

The goal of the work. *To study the impact of chicken (CEF) and quail (QEF) embryos fibroblasts suspensions on the formation of full cells' monolayer, as well as to compare the level of Gumboro virus accumulation in CEF and QEF cell lines.*

Materials and methods. *«Winterfield 2512» infectious bursal disease dry strain adapted on 9-10-day SPF chicken embryos by one passage; 199 and Eagle (DMEM) culture media and cattle blood serum manufactured by «NGF «Veterinary medicine».*

IBD strain cultivation was conducted on primary trypsinized CEF and QEF cell lines obtained with developed technique.

Results of research and discussion. *Few variants of cell concentrations in suspension have been developed. It has been found that the most optimal concentrations for obtaining of qualitative monolayer within 24 hours were 8×10^5 and 10×10^5 cells in 1 cm^3 . Cytopathic effect after the contact of CEF and QEF cultures with the IBD virus strain had the same pattern: cells' rounding, and within 72 hours monolayer destruction was expressed in 30 and 40% respectively, and in 90% by 120 hours. It has been found that the highest titer of adapted on QEP IBD virus activity was $5.75 \text{ lg TCE}_{50}/\text{cm}^3$ on 10^{th} passage.*

Conclusions and prospects for further research. *Optimal technique for obtaining of qualitative QEF cell lines has been developed. The optimal cells' concentration for full monolayer's obtaining within 24 hours of cultivation has been found. Adaptive capacity of studied IBD virus on QEP culture has been checked.*

Keywords: virus IBD, culture, cell culture, infectious activity.

REFERENCES

1. Aliev, A.S. (2010). *Infekcionnaja bursal'naja bolez'n' [Infectious Bursal Disease]*. Saint Peterburg [in Russian].
2. Rula, O.M. (2012). Shljahi zabezpechennja epizootichnogo blagopoluchchja ptahogospodarstv Ukraini shhodo infekcijnõi bursal'noõi hvorobi (hvorobi Gamboro) [Ways of epizootic welfare of poultry farms on Ukraine bursalnoyi infectious disease (Gumboro disease)]. *Veterinarna medicina – Veterinary medicine*, 96, 230-232 [in Ukrainian].
3. Stegnyy, B.T., & Muzyka, D.V. (2013). Naukoviy suprovod veterinarnich problem ptachivniztva Ukraini [Scientific support poultry veterinary problems]. *Veterinarna medicina Ukraini – Veterinary medicine of Ukraine*, 10, 19-22 [in Ukrainian].
4. Sjurin, V.N., Belousova, R.V., & Fomina, N.V. (1991). *Diagnostika virusnyh boleznej zhivotnyh [Diagnosis of viral diseases of animals]*. Reference book. Moscow: Agropromizdat [in Russian].
5. Malahova, L.V., Fedoseev, K.J., & Kukushkina, M.S. (2014). Kul'tivirovanie virusa ospy ptic v perevivaemyh i pervichno – tripsinizirovannyh kul'turah kletok [Cultivation of avian pox in transplanted and primary - trypsinized cell cultures]. *Veterinarija segodnja – Veterinary today*, 2, 28-33 [in Russian].
6. Kalinina, O.S., Panikar, I.I., & Skibic'kij, V.G. (2004). *Veterinarna virusologija [Veterinary virology]*. Kiiv: Vishha osvita [in Ukrainian].

УДК. 619:615.371/616.981.55-085

ТЮТЮН С.М., e-mail: anaerob12@ukr.net,
 РИЖЕНКО Г.Ф., канд. вет. наук, e-mail: anaerob12@ukr.net,
 ГОРБАТЮК О.І., канд. вет. наук, e-mail: anaerob12@ukr.net,
 АНДРІЯЦУК В.О., канд. вет. наук, e-mail: anaerob12@ukr.net,
 ЖОВНІР О. М., канд. вет. наук, e-mail: anaerob12@ukr.net
 Інститут ветеринарної медицини НААН

ПОРІВНЯННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ВІТЧИЗНЯНИХ ВАКЦИН ДЛЯ ПРОФІЛАКТИКИ І ТЕРАПІЇ ЗА ФУЗОБАКТЕРІОЗУ (НЕКРОБАКТЕРІОЗУ) ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ

У статті висвітлені питання вакцинопрофілактики і вакцинотерапії фузобактеріозу великої рогатої худоби з використанням вакцини «Некросан», а у випадках, коли до фузобактеріозу приєднуються асоційовані інфекції – вакцини «Некросан-2», «Некросан-3», «Некросальм», «Некроколісальм», «Фузоактиносан». До складу вакцин входять імуномодулюючі засоби рослинного і тваринного походження, завдяки яким можна вакцинувати слабких та хворих тварин. Особливо це важливо у період, коли проводяться планові заходи з профілактики або ліквідації фузобактеріозу тварин у господарстві.

Ключові слова: фузобактеріоз, вакцинопрофілактика, вакцинотерапія, моно- та асоційовані вакцини, імуномодулюючі засоби.

Вступ. Фузобактеріоз (некробактеріоз) є типовим антропозоонозним захворюванням, яке має тенденцію до поширення у більшості країн світу з розвинутим тваринництвом, а в молочному скотарстві вважається хворобою майбутнього. Характеризується гнійно-некротичним розпадом тканин на місці проникнення збудника захворювання та загальною інтоксикацією організму.