

ПЕРМІСИВНІСТЬ ПЕРЕЩЕПЛЮВАНИХ ЛІНІЙ КЛІТИН РІЗНОГО ПОХОДЖЕННЯ ЩОДО
КОРОНАВІРУСУ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИТашута С. Г., Болотін В. І. (ORCID ID [0000-0001-9875-6639](https://orcid.org/0000-0001-9875-6639))Державний науково-контрольний інститут біотехнології і штамів мікроорганізмів, м. Київ, Україна, e-mail: stashuta@i.ua

Резюме. У статті наведено результати експериментальних досліджень з визначення чутливості перещеплюваних культур клітин різного походження до коронавірусу великої рогатої худоби (КВ ВРХ). У роботі використано два штами КВ ВРХ – «S379 Riems» та «BC-1», які досліджували на здатність репродукуватися у 12 перещеплюваних культурах клітин різного тваринного походження без попередньої тривалої адаптації, а саме на рівні двох пасажів. Незважаючи на те, що обидва штами КВ ВРХ були адаптованими до певних КК, вони показали швидку адаптацію до нових умов культивування в інших клітинних культурах різного тваринного походження. Було встановлено, що обидва штами репродукувались в п'яти перещеплюваних культурах клітин із 12 випробуваних. Пермісивними КК щодо КВ ВРХ виявилися: PO-2 – клітини нирки вівці; MDBK – клітини ембріону нирки теляти; Vero – клітини нирки африканської зеленої мавпи; BGM – клітини нирки африканської зеленої мавпи та KST (KST) – клітини коронарних судин великої рогатої худоби. Накопичення вірусів в цих культурах коливалися в межах: від $10^{5,05 \pm 0,25}$ ТЦД_{50/мл} в культурі клітин KST для штаму «S379 Riems» до $10^{5,87 \pm 0,21}$ ТЦД_{50/мл} в культурі клітин PO-2 – для штаму «BC-1». Вперше вдалося культивувати обидва штами в КК, про які науковці раніше не повідомляли. Це культури клітин BGM – клітини нирки африканської зеленої мавпи та KST (KST) – клітини коронарних судин великої рогатої худоби. Не спостерігали ознак репродукції КВ ВРХ в КК, які мали безпосереднє походження із органів: свині, собаки, сірійського хом'ячка та кролика.

Ключові слова: коронавірус, родина *Coronaviridae*, культура клітин, культивування вірусів, титр інфекційної активності вірусу.

Ще з кінця 40-х років минулого сторіччя і по нині клітинна культура (КК) є наріжним каменем для лабораторій вірусологічних, цитологічних, біохімічних та інших біологічних досліджень. У сучасному світі без КК не обійтись у вивченні механізмів клітинної регуляції, взаємодії вірусів при їх реплікації в чутливих клітинах, а також для отримання біологічно активних матеріалів, включаючи вакцини, ферменти, гормони та моноклональні антитіла. А використання КК для культивування вірусу було революційним проривом у біології (Tashuta, 2013).

Коронавіруси (CoV) надзвичайно широко розповсюджені в довкіллі. Природними господарями їх можуть бути людина, величезна кількість хребетних, включаючи птахів, ВРХ, свиней, коней, собак, котів та гризунів (Blowey, 2011; Tashuta, 2013; Ammar, 2014; Amer, 2018). Вперше за всю історію представник коронавірусів став причиною всесвітньої пандемії (Kim, 2020). Характерною особливістю коронавірусів є широкий спектр господарів у поєднанні з вираженою видовою обмеженістю патогенності. За здатністю вражати різні органи і системи організму коронавіруси можна віднести до пантропним вірусам. Захворювання, які ці віруси викликають, мають як правило гострий перебіг, однак вони можуть переходити в хронічні та латентні форми. Всім коронавірусам характерна чітка залежність між віком сприятливого організму та інтенсивністю прояву клінічного синдрому (Saif, 2010; Blowey, 2011; Tashuta, 2013; Ammar, 2014; Amer, 2018; Kenawy, 2019).

Коронавіруси формують величезну групу складних вірусів з оболонкою, які мають найбільший геном серед усіх РНК-вірусів, довжина якого 26,4–31,7 т. п. н. Родина *Coronaviridae* у порядку *Nidovirales* складається з чотирьох родів: *Alphacoronavirus*, *Betacoronavirus*, *Gammacoronavirus*, та *Deltacoronavirus*. Перші два роди включають лише CoV ссавців, тоді як усі CoV птахів є членами двох інших родів. Коронавіруси були виділені в окрему групу на основі морфологічних відмінностей, що добре видно на негативних контрастованих препаратах віріонів (рис. 1). Із оболонки вірусних частинок, що мають діаметр 80 – 160 нм виступають великі, чітко видимі під електронним мікроскопом глікопротеїнові виступи в вигляді булав – пепломери. Довжина пепломерів коливається від 15 до 23 нм (Saif, 2010; Tashuta, 2013; Ammar, 2014; Cho, 2014).

Свою назву коронавіруси отримали завдяки подібності цих виростів з *corona spinarum* – вінцем навколо голови святого на релігійних картинах. Ці виступи нагадують сонячну корону. Протягом багатьох років вперше відкриті віруси відносили до родини коронавірусів тільки по їх характерній морфології, і навіть сьогодні виділені коронавіруси ідентифікують з використанням негативного контрастування. Дослідження структури коронавірусів показало, що вони багато в чому нагадують міксовіруси: вони

мають круглу форму, а також мембрану вкриту ворсинками (Saif, 2010; Tashuta, 2013; Ammar, 2014; Amer, 2018).

У природних умовах коронавірусний ентерит проявляється у новонароджених телят (5 – 21)-денного віку. Але більшість дослідників вважають, що основна маса телят хворіють в віці 2 – 7 днів. Експериментами на безмолозивних телятах і телятах-гнотобіотах було встановлено, що інкубаційний період при коронавірусному ентериті складає 19 – 24 год (Saif, 2010; Tashuta, 2013; Ammar, 2014; Amer, 2018). Фільтрати фекалій, отримані від хворих коронавірусним ентеритом телят, або суспензії очищеного культурального вірусу, введені піддослідним тваринам, приводили до діареї, яка розпочиналася через 19 – 24 год після перорального зараження. У інфікованих телят відмічаються такі клінічні ознаки: загальне пригнічення, гіперсалівація, прогресуюче виснаження, анорексія і профузна діарея. Виділяються рідкі фекальні маси у великій кількості, які мають жовтувате забарвлення. В фекаліях знаходиться багато слизу, а деколи і кров. Ректальна температура у хворих тварин коливається від 38 °С до 40 °С. Експериментальне зараження здебільшого призводить до летального кінця піддослідних тварин, тому що діарея супроводжується інтенсивною дегідратацією всього організму. В середньому діарея триває 5 – 6 днів (Saif, 2010; Tashuta, 2013; El-Kenawy, 2019). У природних умовах небезпека коронавірусної інфекції багато в чому залежить від імунологічного стану чутливих тварин, кількості вірусу, що потрапляє в організм, вірулентності вірусу і участі в цьому процесі патогенних бактерій.

Аналіз останніх досліджень та публікацій. У лабораторних умовах KB BPH культивується важко, а інфекційні титри його у культурі клітин невисокі. Коронавірус BPH вдається адаптувати до первинних і перещеплюваних культур клітин нирок ембріону корови (FBK), але цитопатогенний ефект в цих культурах складно виявити. Інфекційні титри вірусу досягали значень 10^6 ТЦД_{50/мл} після 27 пасажів (Saif, 2010; Tashuta, 2013). У культурі клітин FBK вірус викликає утворення синцитію, а розмноження вірусу в заражених клітинах вдається встановити за допомогою РІФ. Цитопатогенна дія вірусу яскраво проявляється на клітинах Vero (нирки зеленої мавпи). Вже в десятому пасажі через 72 години після інокуляції клітинної культури Vero інфекційні титри коронавірусу сягали значень 10^6 – 10^7 ТЦД_{50/мл}. ЦПД вірусу в заражених клітинах Vero проявляється, починаючи з третього пасажу (Dea, 1980; Hansa, 2014). Дія вірусу на клітини характеризується спочатку незначним зменшенням і округленням вражених клітин, які з часом відокремлюються від поверхні скла. Найкраще коронавірус BPH розмножується в перещеплювальній культурі клітин аденокарциноми прямої кишки людини (HRT-18), де інфекційні титри 10^7 ТЦД_{50/мл} вдається отримати вже на п'ятому пасажі. Вірус добре розмножується в органних культурах трахеї і кишечнику ембріонів корови, але інфекційні та гемаглютинаційні титри невисокі (Stair, 1972; Tashuta, 2013; Berezenko, 2021). Канадські дослідники довели здатність перещеплюваних KK Vero, MDBK та PK-15 бути придатними для ізоляції та культивування KB штаму «Mebus» (Dea, 1980). Науковці НУБіП України із успіхом культивують польові ізоляти KB BPH в KK MDBK (Berezenko, 2021).

Мета дослідження полягає в дослідженні здатності KB BPH репродукуватися в перещеплюваних культурах клітин різного тваринного походження без попередньої тривалої адаптації.

Матеріали та методи досліджень. Дослідження проводили протягом 2021 – 2022 рр. у секторі підтримання виробничих і контрольних штамів вірусів відділу біотехнології і контролю якості вірусних препаратів Державного науково-контрольного інституту біотехнології та штамів мікроорганізмів.

Було використано коронавірус BPH двох штамів: а) штам «S379 Riems» був виділений в культурі клітин аденокарциноми прямої кишки людини (HRT-18) науковцями Friedrich-Loeffler-Institut (FLI) – Інститут Ф. Лoeffлера Бергманном та Шайрмеєром в 1986 році від хворого ентеритом новонародженого теляти дводенного віку; б) штам «BC-1» був виділений в культурі клітин PO-2 – клітини нирки вівці від хворого ентеритом новонародженого теляти науковцями з лабораторії вірусології Національного наукового центру «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини». Ці штами коронавірусу BPH дослідили на здатність репродукуватися в 12 перещеплюваних культурах клітин різного тваринного походження без попередньої тривалої адаптації, а саме на рівні двох пасажів.

Як живильне середовище для культивування усіх ліній клітин використовували середовище DMEM з додаванням 10 % фетальної сироватки BPH. Для отримання суспензії клітин та подальшого їх пересіву використовували суміш, що складалась з 0.02 % розчину Версену та 0.25 % розчину трипсину (1:10). З метою визначення чутливої клітинної культури для виділення та культивування коронавірусу BPH штамів «BC-1» та «S379 Riems» були випробувані різні щодо видового походження лінії перещеплюваних клітин: FLK – клітини ембріональної нирки вівці; PO-2 – клітини нирки вівці; RK-13 – клітини нирки кролика; PK-15 – клітини нирки свині; MDBK – клітини ембріону нирки теляти; Vero – клітини нирки африканської зеленої мавпи; Marc-145 – клітини нирки африканської зеленої мавпи; BGM – клітини нирки африканської зеленої мавпи; BHK-21/13 – клітини нирки сирійського хом'ячка; KCT (KST) – клітини коронарних судин великої рогатої худоби; SPEV (оригінальна назва – CHEB) – клітини нирки свині; A-72 – культура клітин підшкірної пухлини собак. Моношар клітин вирощували у пластикових культуральних флаконах об'ємом 50 см³ та для визначення титру вірусу у 24- і 96-лункових культуральних планшетах. Посівна доза – $1,2 \times 10^6$ живих клітин в см³ на культуральний флакон. Титр вірусу розраховували за методом Ріда та Менча, який виражали в тканинних цитопатогенних дозах (ТЦД 50/мл).

Матеріали, що використовувались для проведення досліджень: 1. Живильне середовище DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium; Sigma, Великобританія). 2. Фетальна сироватка крові BPX (Fetal Bovine Serum; Gibco, ФРН). 3. Збалансований сольовий розчин Хенкса (Україна). 4. Збалансований сольовий розчин (буферний) – Dulbecco's Phosphate Buffered Saline (DPBS). 5. 0,25 % розчин трипсину (0,25 % trypsin – EDTA; Gibco, ФРН). 6. Гентаміцину сульфату (40 мг/см³; «Дарниця», Україна). 7. Ципрофлоксацин (Ciprofloxacin – 2 мг/см³; «Юрія-Фарм», Україна; «Avanta Medicare», Великобританія). 8. Планшети культуральні (24- та 96-лункові; Nunclon TM Surface, Данія). 9. Матраси (25 см²) для культур клітин (Tissue culture flask, 25; TPP, Швейцарія). 14. Термостат CO₂ Esco Cellulture, CO₂ incubator. 15. Мікроскоп біологічний C.Zeiss – Aviovert 40CFL (ФРН). 16. Дозатори Eppendorf на 100 та 1000 мкл. 17. Ламінарний бокс Joka MSC9. 18. Електронний мікроскоп JEM – 1230 (Geol, Японія).

Морфологію віріонів досліджували за допомогою електронного мікроскопа JEM – 1230 (Geol, Японія) за інструментального збільшення 60000 – 80000.

Результати досліджень та їх обговорення. Під час порівняльного вивчення культивування коронавірусу BPX у перещеплюваних культурах клітин встановлено, що їх реплікація викликає цитопатичні зміни у моношарових культурах перещеплюваних ліній клітин. Інфікування культур клітин штамами коронавірусу BPX проводили шляхом додавання вірусу безпосередньо у підтримуюче середовище у розведенні (1:10). Після інфікування перші прояви ЦПД у культурах спостерігали через 36 – 48 год. ЦПД характеризувалася округленням, утворенням незначних конгломератів клітин, уражені вірусом клітини дегенерували і відпадали від поверхні пластику. Через 96 годин після зараження моношар пермісивних культур клітин практично повністю руйнувався (рис. 2 – 8).

Незважаючи на те, що обидва штами KB BPX були адаптованими до певних KK, вони виявили здатність досить легко адаптуватись до нових умов культивування в інших клітинних культурах різного тваринного походження. Так, було встановлено, що ці штами мають здатність репродукуватись в п'яти перещеплювальних культурах клітин із 12 випробуваних. Пермісивними KK щодо KB BPX виявилися: PO-2 – клітини нирки вівці; MDBK – клітини ембріону нирки теляти; Vero – клітини нирки африканської зеленої мавпи; BGM – клітини нирки африканської зеленої мавпи та KCT (KST) – клітини коронарних судин великої рогатої худоби. Урожаї вірусів в цих культурах коливалися в межах: від $10^{5,05 \pm 0,25}$ ТЦД_{50/мл} в культурі клітин KCT для штаму «S379 Riems» до $10^{5,87 \pm 0,21}$ ТЦД_{50/мл} в культурі клітин PO-2 – для штаму «BC-1» відповідно (табл. 1).

Відомо, що KB BPX проявляє ще й аглютинаційні властивості. Дослідження структури коронавірусів показало, що вони багато в чому нагадують міксовіруси: мають круглу форму, а також мембрану вкрити ворсинками (рис. 1). У орто- і параміксовірусів виступи на поверхні віріону відіграють важливу роль: на них розміщені активні групи вірусу – гемаглютинін і фермент нейрамінідаза. У коронавірусів фермент нейрамінідаза відсутній. Гемаглютинін по своїй функції представляє собою зв'язуючу групу – ліганд. Як і у міксовірусів, так і у коронавірусів гемаглютинін забезпечує в момент контакту вірусу з клітиною більш щільне прилипання віріону до відповідних ділянок клітинної оболонки – рецепторам. Такі рецептори можуть бути не тільки на чутливих клітинах, але і на клітинах, в яких вірус не репродукується, наприклад, на еритроцитах. У цьому випадку приєднання вірусу до рецептору мембрани не викликає утворення у цьому місці піноцитозної бульбашки і втягування віріону всередину клітини. Разом з тим приєднання багатьох віріонів (адсорбція) до поверхні еритроциту змінює електрокінетичний потенціал останнього, внаслідок чого порушується стабільність еритроцитів в суспензії і виникає їх аглютинація. Тому при осадженні аглютинованих еритроцитів осад формує парасольку на дні луночки. Ця властивість широко використовується для індикації цього вірусу в суспензіях. Нами встановлено, що штам «BC-1» KB BPX виявився більш аглютинабельним (титри 1:32 – 1:128) на всіх пермісивних KK, тоді як штам «S379 Riems» проявляється в титрах 1:8 – 1:16 (табл. 1).

Проведені ЕМ дослідження культуральних рідин після зараження KK коронавірусом підтвердило наявність їх в них. Ми виявляли поодинокі віріони з характерною для коронавірусів морфологією (рис. 1).

Висновки та перспективи подальших досліджень. Проведені нами дослідження показали, що пермісивними KK щодо двох досліджуваних KB BPX виявилися: PO-2 – клітини нирки вівці; MDBK – клітини ембріону нирки теляти; Vero – клітини нирки африканської зеленої мавпи; BGM – клітини нирки африканської зеленої мавпи та KCT (KST) – клітини коронарних судин великої рогатої худоби. Урожаї вірусів в цих культурах коливалися в межах: від $10^{5,05 \pm 0,25}$ ТЦД_{50/мл} в культурі клітин KCT для штаму «S379 Riems» до $10^{5,87 \pm 0,21}$ ТЦД_{50/мл} в культурі клітин PO-2 – для штаму «BC-1». Слід відзначити, що нам вперше вдалося культивувати обидва штами в KK, про які науковці раніше не повідомляли. Це культури клітин BGM – клітини нирки африканської зеленої мавпи та KCT (KST) – клітини коронарних судин великої рогатої худоби. Не спостерігали ознак репродукції KB BPX в KK, які мали безпосереднє походження із органів: свині, собаки, сірійського хом'ячка та кролика.

**Результати визначення пермісивності перещеплюваних культур клітин (КК) та їх інфекційної і
гемаглютинаційної активності стосовно коронавірусу ВРХ
на рівні другого пасажу**

№ з/п	Назва культури клітин	Коронавірус ВРХ (ВCoV) штам «BC-1»		Коронавірус ВРХ (ВCoV) штам «S379 Riems»	
		Титр		Титр	
		Інфекційної активності (lg TCID ₅₀ /мл)	ГА активності (log2)	Інфекційної активності (lg TCID ₅₀ /мл)	ГА активності (log2)
1.	Vero	5,47± 0,18	6	5,15± 0,19	3
2.	BGM	5,58± 0,25	6	5,29± 0,16	3
3.	Marc-145	–	–	–	–
4.	PO-2	5,87± 0,21	7	5,49± 0,17	4
5.	FLK	–	–	–	–
6.	MDBK	5,67± 0,21	5	5,19± 0,22	3
7.	KCT	5,45± 0,17	5	5,05± 0,25	3
8.	PK-15	–	–	–	–
9.	SPEV	–	–	–	–
10.	BHK-21/13	–	–	–	–
11.	RK-13	–	–	–	–
12.	A-72	–	–	–	–

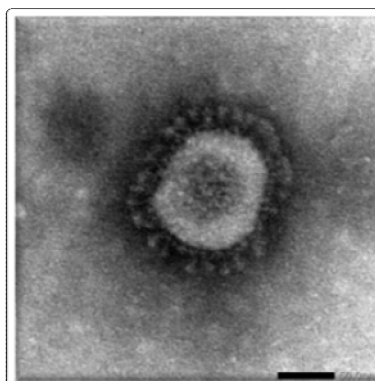


Рисунок 1. Коронавірус ВРХ штам «BC-1». Негативне контрастування.

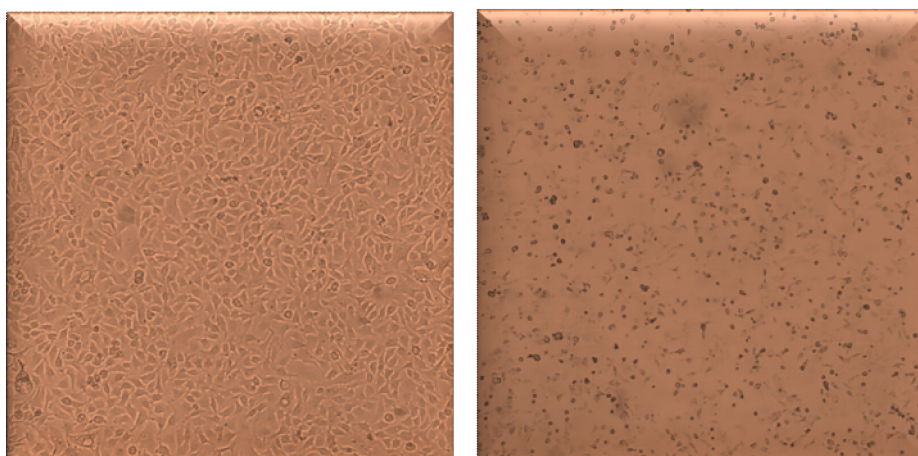


Рисунок 2. Контроль перещеплюваної культури клітин PO-2 – *ліворуч*; ця ж культура клітин з очевидною дією коронавірусу на клітини, ЦПД ВCoV штам «BC-1» через 82 год після зараження – *праворуч*.

У подальшому наші дослідження будуть спрямовані на опрацюванні визначення оптимальних режимів культивування штамів KB ВРХ з метою розробки засобів діагностики та імунопрофілактики коронавірусної інфекції новонароджених телят.

Подяка. Висловлюємо щирі вдячності колегам Центру колективного користування електронними мікроскопами (ЦККЕМ) лабораторії електронної мікроскопії Інституту ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України за проведені електронномікроскопічні дослідження зразків культуральної рідини перещеплюваних культур заражених коронавірусом ВРХ. Особлива подяка керівнику Центру колективного користування електронними мікроскопами к. б. н. Климчуку Д. О. за надання можливості провести дослідження на сучасному обладнанні.

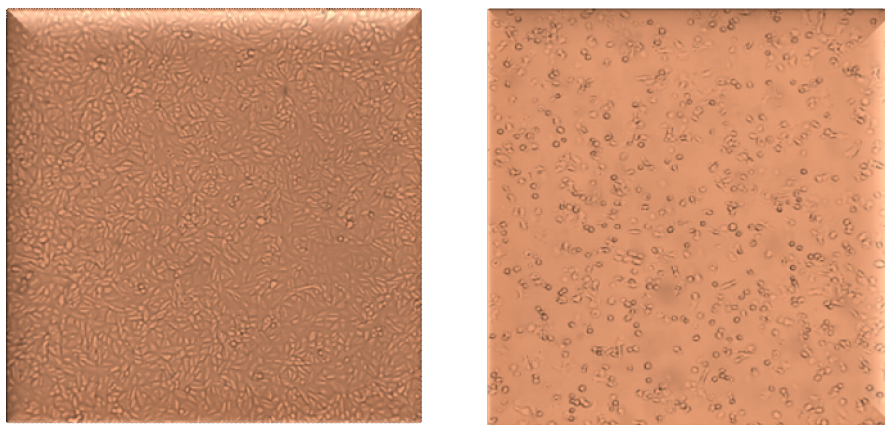


Рисунок 3. Контроль перещеплюваної культури клітин BGM – *ліворуч*; ця ж культура клітин з очевидною дією коронавірусу на клітини, ЦПД BCoV штам «S379 Riems» через 96 год після зараження – *праворуч*.



Рисунок 4. Контроль перещеплюваної культури клітин MDBK – *ліворуч*; ця ж культура клітин з очевидною дією коронавірусу на клітини, ЦПД BCoV штам «BC-1» через 48 год – *по центру* та 96 год після зараження – *праворуч*.

REFERENCES

1. Amer, H. M. (2018) 'Bovine-like coronaviruses in domestic and wild ruminants', *Anim Health Res Rev*, Dec, 19(2), pp. 113–124. doi:10.1017/S1466252318000117. PMID: 30683171; PMCID: PMC7108644.
2. Ammar, S. S., Mokhtaria, K., Tahar, B. B., Amar, A. A., Redha, B. A., Yuva, B., Mohamed, H. S., Abdellatif, N. and Laid, B. (2014) 'Prevalence of rotavirus (GARV) and coronavirus (BCoV) associated with neonatal diarrhea in calves in western Algeria', *Asian Pac J Trop Biomed*, May, 4(Suppl 1), pp. S318-22. doi:10.12980/APJTB.4.2014C778. PMID: 25183104; PMCID: PMC4025335.
3. Berezenko, A. S., Nedosekov, V. V. and Godovskiy, O. V. (2021) 'ISOLATION OF BOVINE CORONAVIRUS IN CELL CULTURES', *Sci Reports NUBiP of Ukraine*, 4(92). doi:dopovidi2021.04.001.
4. Blowey, R. W. and Weaver, A. D. (2011) 'Winter dysentery. Colour atlas of disease and disorders of cattle Third edition', pp. 58. doi:10.1016/B978-0-7234-3602-7.00005-4.
5. Cho, Y. I. and Yoon, K. J. (2014) 'An overview of calf diarrhea – infectious etiology, diagnosis, and intervention', *J Vet Sci*, 15(1), pp. 1–17. doi:10.4142/jvs.2014.15.1.1. Epub 2013 Dec 27. PMID: 24378583; PMCID: PMC3973752.
6. Dea, S., Roy, R. S. and Begin, M. E. (1980) 'Bovine coronavirus isolation and cultivation in continuous cell lines', *Am J Vet Res*, Jan, 41(1), pp. 30–8. PMID: 6767425.

7. El-Kenawy, A. A., Shahein, M. A. and Yassen, H. A. (2019) 'Isolation and identification of Bovine coronavirus (BCoV) from diarrheic calves in Dakahlia Governorate, Egypt', *Mansoura Vet Med J*, 20(1), pp. 27–34. doi:10.35943/mvmj.2019.01.102.
8. Jeong-Min, Kim, Yoon-Seok, Chung, Hye, Jun Jo, Nam-Joo, Lee, Mi, Seon Kim, Sang Hee Woo, Sehee, Park, Jee, Woong Kim, Heui, Man Kim and Myung-Guk, Han. (2020) 'Identification of Coronavirus Isolated from a Patient in Korea with COVID-19', *Osong Public Health and Res Perspectives*, 11(1), pp. 3–7. doi:10.24171/j.phrp.2020.11.1.02.
9. Hansa, A., Rai, R. B., Dhama, K., Wani, M. Y., Saminathan, M. and Ranganath, G. J. (2013) 'Isolation of bovine coronavirus (bCoV) in vero cell line and its confirmation by direct FAT and RT-PCR', *Pak J Biol Sci*, Nov, 1, 16(21), pp. 1342–7. doi:10.3923/pjbs.2013.1342.1347. PMID: 24511744.
10. Stair, E. L., Rhodes, M. B., White, R. G. and Mebus, C. A. (1972) 'Neonatal calf diarrhea: purification and electron microscopy of a coronavirus-like agent', *Am J Vet Res*, Jun, 33(6), pp. 1147–56. PMID: 4553881.
11. Saif, L. J. (2010) 'Bovine respiratory coronavirus', *Vet Clin North Am Food Anim Pract*, Jul, 26(2), pp. 349–64. doi:10.1016/j.cvfa.2010.04.005. PMID: 20619189; PMCID: PMC4094360.
12. Tashuta, S. G. (2013) 'Viral pathology of animals', K.: Agrar Media Group, 400 p.

PERMISSIVENESS OF TRANSPLANTED CELL LINES OF DIFFERENT ORIGIN TO BOVINE CORONAVIRUS

S. Tashuta, V. Bolotin

State Scientific-and-Control Institute for Biotechnology and Microorganisms' Strains, Kyiv, Ukraine, e-mail: stashuta@i.ua

Abstract. *The article presents the results of experimental studies on the determination of the sensitivity of whispering cultures of cells of various origins to the bovine coronavirus (BCoV). In our research, we used two strains of bovine coronavirus: "S379 Riems" and "BC-1". These bovine coronavirus strains were tested for their ability to reproduce in 12 transplantable cell cultures of different animal origin without prior long-term adaptation, namely at the level of two passages. Despite the fact that both strains of BCoV were adapted to certain CCs, they showed the ability to easily adapt to new cultivation conditions in other cell cultures of different animal origin. It was established that these strains were able to reproduce in 5 transplant cultures of cells out of 12 tested. Permissive CC with respect to BCoV of turned out to be: PO-2 – sheep kidney cells; MDBK – calf kidney embryo cells; Vero – African green monkey kidney cells; BGM – African green monkey kidney cells and KST – bovine coronary vessel cells. The yields of viruses in these cultures ranged from $10^{5.05} \pm 0.25$ TC₅₀/ml in the culture of KST cells for st. "S379 Riems" up to $10^{5.87 \pm 0.21}$ TC₅₀/ml in cell culture PO-2 for st. "BC-1". For the first time, it was possible to cultivate both strains in CC, which scientists had not previously reported. These are cell cultures BGM – African green monkey kidney cells and KST – bovine coronary vessel cells. There were no signs of reproduction of BCoV in CC, which had a direct origin from the organs: pig, dog, Syrian hamster and rabbit.*

Key words: Coronavirus, family Coronaviridae, cell culture (CC), cultivation of viruses, titer of infectious activity of the virus.

DOI: 10.31073/onehealthjournal2023-II-02