

УДК 619:616.98:578.833.1-076

В.И.ЧЕРМАШЕНЦЕВ, Н.А.ЧЕРМАШЕНЦЕВА

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЛЕЙКОЦИТОВ КРОВИ СВИНЕЙ ДЛЯ ОБНАРУЖЕНИЯ И ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ ПО ВИРУЛЕНТНОСТИ ВИРУСА КЛАССИЧЕСКОЙ ЧУМЫ СВИНЕЙ

В настоящее время существуют следующие признанные методы лабораторной диагностики классической чумы свиней (КЧС): 1-биопроба на неиммунных подсвинках (практически не применяется в РБ); 2 - гистоморфологический метод (позволяет поставить только предварительный диагноз); 3 - иммунофлуоресцентный метод диагностики при помощи перевиваемых культур клеток (позволяет выявлять вирус в патматериале только при наличии IOO и более ЛД<sub>50</sub>, характеризуется трудоемкостью и дороговизной). Следовательно, проблема изыскания простого и экономичного лабораторного метода диагностики КЧС является крайне актуальной для контроля за эпизootической ситуацией по данной особоопасной вирусной болезни свиней в Республике Беларусь.

По данным литературы, лейкопения при КЧС обуславливает снижение фагоцитарной функции организма и, как следствие этого, активацию условно патогенных микроорганизмов, всегда в большом количестве находящихся в организме животного. Полученные нами экспериментальные данные по изучению клеток-мишеней при КЧС - макрофагов позволяют объяснить этот феномен не столько количественными изменениями фагоцитов, сколько, в основном, качественными. Так, установлено, что при КЧС-инфекции *in vivo* и *in vitro* фагоцитарная активность нейтрофилов крови свиней кратковременно (до 4-х суток) снижается на 34% и составляет 14<sup>±</sup>2,9% при инфекции вакцинного штамма вируса, а при инфекции вирулентным штаммом вируса КЧС повышается процент фагоцитоза нейтрофилов на 26% (14<sup>±</sup>2,1%) и необратимо ослабляется в 2 раза фагоцитоз у макрофагов.

Модуляция функции фагоцитов во время вирусной инфекции *in vivo* и *in vitro* не является новым феноменом и описана для многих семейств вирусов, включая вирусы герпеса, гриппа, Денге, Сендай и цитомегаловирус. При некоторых из этих вирусных инфек-

ций способность репродукции вируса в клетках системы мононуклеарных фагоцитов является показателем его вирулентности.

Таким образом, в основу нового, методически простого, высокочувствительного и экономичного лабораторного способа обнаружения и дифференциации вируса КЧС был положен феномен модуляции функции фагоцитов под действием вирусной репродукции.

Методика определения фагоцитарной активности лейкоцитов крови свиней основана на визуальном учете количества фагоцитируемых частиц латекса клеток крови свиньи: нейтрофилов (в мазках крови) и макрофагов (в культуральных тест-препаратах) в процессе совместного инкубирования лейкоцитов и 0,25% суспензии полистирольного латекса, соответственно, во флаконе или пробирке. При соответствующих навыках и соблюдении методических указаний ошибка метода составляет не более  $\pm 6\%$ .

Контрольными реакциями *in vitro* являются интактный контроль культуры лейкоцитов (по 4 пробирки с культурой), контроль вируса (вакцина ЛК-ВНИИВВиМ против КЧС разведена 1:100), контроль на специфичность (используется иммунная сыворотка, тест-вирус и исследуемый вирус). Контролями реакции *in vivo* служат интактный контроль лейкоцитов здоровых неиммунных свиней - по 4 мазка крови (отрицательный контроль) и количественная оценка белой крови больных свиней, т.е. установление наличия лейкопении (положительный контроль).

Критериями дифференциации вируса КЧС по вирулентности является повышенный уровень ( $74 \pm 2,1\%$ ) нейтрофильного фагоцитоза на 2 сутки после заражения *in vivo* и *in vitro* вирулентным штаммом и пониженный уровень ( $14 \pm 2,9\%$ ) - для вакцинного штамма вируса, способного к репродукции в культуре лейкоцитов крови свиньи. Дополнительным критерием апатогенности вируса КЧС является восстановление фагоцитарной функции макрофагов на 7-8 сутки после заражения культуры лейкоцитов крови свиньи.

**В а к л ю ч е н и е.** Разработан новый способ обнаружения и дифференциации по вирулентности вируса КЧС в высокочувствительных клетках-мишенях при помощи цитопатического эффекта, выраженного в модуляции фагоцитарной активности свинных фагоцитов. Данный лабораторный метод рекомендуется использовать в ветеринарной практике в качестве ориентировочного экспресс-теста при постановке предварительного диагноза на КЧС, исследуя нейтрофи-

льный фагоцитоз в мазках крови больных свиней. Предварительный диагноз подтверждается через 4 суток угнетением макрофагального фагоцитоза при использовании культуры лейкоцитов здоровых неиммунных свиней, что позволит поставить окончательный диагноз непосредственно в хозяйстве за короткое время (в пределах 4-х суток). Информативная ценность и чувствительность предлагаемого способа делают возможным выявление минимальных доз вируса ( $I_{LD_{50}}$  или  $ImD_{50}$ ), а также проведение дифференциации вируса на вирулентный и вакцинный, то есть получить *in vitro* результаты, идентичные по чувствительности биопробе на естественно-восприимчивых животных.

Достоинствами рекомендуемого способа обнаружения и дифференциации вируса КЧС являются: методическая простота, отсутствие необходимости в сложной аппаратуре, быстрота, экономичность, достоверность, высокая чувствительность, возможность применения в полевых условиях.