

## Биологические свойства вирусов, выделенных из легких свиней, больных пневмонией

---

Т. Г. КОЛЬЦОВА

В отдельных хозяйствах Витебской области на протяжении ряда лет поросята отъемного возраста заболевают пневмонией. В результате исследования патологического материала от 40 поросят (1965—1966—1967 гг.) в 30% случаев выделены вирусы (12 штаммов).

Методы выделения, особенности культивирования и некоторые биологические свойства выделенных нами вирусов описаны в журнале «Известия» Академии наук БССР, 1967, № 1; в книге «Зооветеринарная наука — производству», Минск, «Урожай», 1968.

Из выделенных вирусов 7 штаммов по своим свойствам приближались к возбудителям гриппа. Указанные штаммы не удалось адаптировать к куриным эмбрионам или к культуре ткани.

Из числа остальных 5 штаммов, выделенных только из ткани легких и медиастинальных лимфоузлов, три хорошо размножаются в куриных эмбрионах при заражении в желточный мешок и по своим морфологическим свойствам были отнесены к группе микроорганизмов орнитоза — лимфогранулеммы. В мазках-отпечатках с желточного мешка погибших куриных эмбрионов, окрашенных по Романовскому—Гимза и по Маккиавелло, можно было видеть элементарные тельца как в цитоплазме клеток в виде скоплений, заключенных в оболочку, так и в межклеточном пространстве (одиночные или в виде скоплений), окрашенные в фиолетовый, красно-синий или ярко-красный цвет, округлой формы, размером 0,2—3  $\mu$ .

Два штамма вирусов (№ 9 и 30) были адаптированы к куриным эмбрионам (вызывают их гибель при любых методах введения материала) и к культуре ткани (с 1965 г. сохраняются в лаборатории). При культивировании на перевиваемой культуре ткани путем титрации по цитопатогенному действию (ЦПД) установлен их

титр. Титр вируса № 9 — ТЦД<sub>50</sub> в 0,1 мл на клетках HeLa = 10<sup>-7</sup>, Д-6 = 10<sup>-6</sup>, С-18 = 10<sup>-4</sup>, СОЦ = 10<sup>-4</sup>, Нер = 10<sup>-1</sup>. Титр вируса № 30 — ТЦД<sub>50</sub> в 0,1 мл на клетках HeLa = 10<sup>-7</sup>, АМН = 10<sup>-7</sup>, Д-6 = 10<sup>-6</sup>, С-18 = 10<sup>-3</sup>, СОЦ = 10<sup>-3</sup>, Нер — нечувствительны.

Для выяснения этиологической роли вирусов, выделенных нами из легких свиней, в возникновении пневмонии в 1966—1967 гг. было поставлено 2 эксперимента: I—на 6 поросятах 3-месячного возраста, II—на 15 поросятах 2-месячного возраста. Путем экспериментального заражения суспензией из пораженных легких больных свиней, а также материалом, содержащим вирусы № 9, 15, 30 и 34, у поросят 2 и 3-месячного возраста воспроизводили пневмонию. Результаты опытов изложены в тезисах, опубликованных в сборнике материалов 3-й Всесоюзной ветеринарной вирусологической конференции 23—25 января 1968 г.

Так как вирусы № 9 и 30 хорошо культивируются на куриных эмбрионах и культуре ткани и имеют аналогичные биологические свойства в целях их идентификации и возможности выявления наличия специфических антител в сыворотке зараженных поросят (эксперимент II), парные сыворотки, полученные от подопытных поросят, исследованы в РСК с антигеном вируса № 9 и, кроме того, орнитозным и аденовирусным антигенами. Два последних антигена использованы в целях типизации указанных вирусов. Орнитозный антиген был получен из Одесского научно-исследовательского института им. И. И. Мечникова, аденовирусный антиген — из Московского научно-исследовательского института вирусных препаратов. В целях изготовления антигена из вируса № 9 клетки С-18, зараженные этим вирусом, были подвергнуты термолизису путем многократного замораживания и оттаивания.

Положительные результаты в РСК получены с антигеном из аденовирусов и вируса № 9, что указывает на присутствие соответствующих антител в сыворотках крови подопытных животных.

С аденовирусным антигеном положительно реагировали (1—3 креста в титре 1:8, 1:16) пять сывороток, полученных от поросят № 5, 9, 10, 11 и 12; с вирусом № 9—шесть сывороток от поросят № 5, 8, 9, 10, 11, 12. Сыворотки, полученные до заражения от всех подопытных

животных, не реагировали в РСК с вирусом № 9, орнитозным и аденовирусным антигеном. Следовательно, сыворотки от пяти поросят, зараженных вирусом № 9, положительно реагировали как с антигеном вируса № 9, так и с аденовирусным. Это указывает на наличие в сыворотках зараженных поросят комплементсвязующих антител против вируса № 9 и свидетельствует о существовании антигенной близости между вирусами № 9, 30 и аденовирусами.

Вирусы № 9 и 30 (антигены) с аденогруппоспецифической сывороткой также реагировали положительно в разведении 1:32.

При люминесцентно-микроскопическом методе исследования вирусов № 9 и № 30 в мазках-отпечатках, приготовленных из оболочек и органов куриных эмбрионов и обработанных акридином оранжевым, в цитоплазме клеток и межклеточном пространстве хорио-аллантоисной оболочки и желточного мешка находилось большое количество элементарных телец зеленого цвета, округлой формы, диаметр которых составлял примерно 0,2—2 м.

При сравнительном изучении в МЛ-2 монослая клеток *HeLa*, С-18 и куриных фибробластов, полученного на покровных стеклах после заражения вирусами (№ 9 и 30) через различное время, установлено следующее: в клетках *HeLa* через 3 часа после заражения вирусом морфологические изменения отсутствовали, была замечена адсорбция вирусных частиц округлой формы на поверхность этих клеток; через 5 часов в цитоплазме отдельных клеток обнаружена светло-зеленая зернистость; в дальнейшем, через 7—10 часов, в цитоплазме некоторых клеток появились темно-зеленые включения размером 0,2—3 м. Кроме того, у 60% клеток отмечалась ядерная зернистость, лизис ядерной и клеточной оболочек, набухание цитоплазмы, в результате чего клетки принимали форму шара. К 21—55-му часу наблюдалось образование гигантских многоядерных клеток с 2—3 ядрами типа симпластов, в цитоплазме которых (50%) ближе к ядру имелись округлые включения темно-зеленого цвета, размером 0,2—3 м. После 55 часов флуоресценция зараженных клеток прекратилась в связи с их отслоением от стекла.

В клетках С-18 и куриных фибробластах морфологические изменения наступали в более поздние сроки. Ад-

сорбция вируса на поверхности клеток начиналась через 3 часа после заражения монослоя. Однако флуоресцирующие элементарные тельца вируса, находящиеся в цитоплазме, ближе к оболочке клеток можно было видеть только через 50 часов. Гигантские клетки типа синцитиев с цитоплазматическими включениями зеленого цвета, расположенными вокруг ядра, образовывались через 138 часов. В это же время начиналось отслоение клеточного монослоя от стекла.

Принимая во внимание зеленую люминесценцию вирусных включений, мы сочли возможным отнести вирусы № 9 и 30 к числу ДНК-содержащих вирусов.

## Выводы

1. При исследовании патологического материала от 40 поросят из хозяйств, неблагополучных по пневмонии, выделено 12 штаммов вирусов.

2. Учитывая особенности выделения (паренхиматозные органы), культивирования на куриных эмбрионах, гемагглютинирующие и патогенные (для белых мышей) свойства, 7 штаммов вирусов отнесены к группе возбудителей гриппа.

3. Изучение биологических свойств (РСК, люминесцентная микроскопия, титрование в различных культурах тканей, патогенность для поросят 2—3-месячного возраста) вирусов, выделенных из легких свиней, больных пневмонией, позволило установить, что три штамма № 8, 15, 34 относятся к группе возбудителей орнитоза — лимфогранулемы; два штамма № 9, 30 (ДНК-содержащие) являются антигенородственными с аденовирусами.

4. Причиной пневмонии свиней, диагностируемых в отдельных хозяйствах Витебской области, по-видимому, являются микроорганизмы группы орнитоза — лимфогранулемы, вирусы гриппа и аденовирусы.