

К ИЗУЧЕНИЮ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ВИРУСОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ПРИ ПНЕВМОНИЯХ ПОРΟΣЯТ В ХОЗЯЙСТВАХ ВИТЕБСКОЙ ОБЛАСТИ

Т. Г. КОЛЬЦОВА

Согласно классификации вирусных респираторных инфекций, в настоящее время различают три вирусные инфекции свиней: грипп (инфлуэнца), параинфлуэнцу и вирусную пневмонию свиней (Сюрин, Осидзе, 1964).

Типичным возбудителем гриппа является оригинальный вирус гриппа свиней, впервые выделенный в Англии (Shope, 1931). Возбудителями гриппа у свиней могут быть также вирусы гриппа человека типа А₁ и А₂.

Параинфлуэнца свиней вызывается гемагглютинирующим вирусом (парагриппозный вирус сендай), выделенным в Японии (Sasahara, 1955).

Возбудитель вирусной пневмонии свиней впервые описан английскими учеными Гуларджани и Бевериджем (Gulrajani, Beveridge, 1951). Его Кёбе (Kobe, 1933) ошибочно называл вирусом гриппа поросят. Впоследствии этот вирус изучали шведские ученые Хьерре, Динтер и Бакос (Hjärre, Dinter, Bakos, 1952). В Советском Союзе выделены цитопатогенные агенты из пораженных легких поросят при пневмониях в хозяйствах Татарии (Николаев, Николаева, Сметанин, 1964).

При гриппе и параинфлуэнце вирусы выделяются не только из легких, но и из других органов. При вирусной пневмонии вирус является строго пневмотропным и может быть получен только из ткани легких и медиастиальных лимфоузлов.

Цель нашей работы — определить возможность выделения респираторных вирусов при пневмониях поросят и изучение их биологических свойств.

Материал, необходимый для исследования, взят в 10 хозяйствах Витебской области от 30 поросят в возрасте от 1,5 до 4 месяцев, павших или вынужденно уби-

тых, с патологоанатомическим диагнозом острая катаральная (25 случаев) или хроническая (5 случаев) пневмония. От каждого поросенка брали две пробы: в первую входили легкие и медиастинальные лимфоузлы, во вторую—остальные паренхиматозные органы (части печени, почки, селезенки). Из глубины пораженных паренхиматозных органов вырезали кусочки весом 2—3 г, помещали их в стерильные флаконы, заливали раствором Хенкса в соотношении 1 : 10 и хранили в холодильнике при минусовой температуре. В последующем материал оттаивали, промывали раствором Хенкса, помещали в фарфоровую ступку со стеклянным пестиком, тщательно растирали, заливали раствором Хенкса в соотношении 1 : 10. Суспензию центрифугировали 20—30 минут при 2000—3000 оборотах в минуту. К надосадочной жидкости добавляли антибиотики (1000 е. д./мл пенициллина и 500 е. д./мл стрептомицина) и оставляли на 2 часа при комнатной температуре, затем проверяли на стерильность (посев на сахарный МПБ и МПА) и после этого заражали куриные эмбрионы и культуры ткани (куриные фибробласты, клетки Hela, С-18, амниона человека). Куриные эмбрионы получали на Витебской птицефабрике. Куриные фибробласты готовили методом Дульбекко и Фогта в модификации Янгера (метод трипсинизации). Перевиваемые штаммы клеток Hela, С-18 и амниона человека получали из Минского института микробиологии, эпидемиологии и гигиены.

В качестве ростовой среды для культуры ткани использовали гемогидролизат или 0,5%-ный гидролизат лактальбумина с 10% бычьей сыворотки. Поддерживающей средой после заражения монослоя были те же среды, но без сыворотки.

Куриные эмбрионы 5—6-дневного возраста заражали путем введения 0,2 мл материала в желточный мешок. Зараженные эмбрионы инкубировали в термостате при температуре 37°.

Куриные фибробласты и перевиваемые линии клеток культивировали в термостате при температуре 37°. При появлении клеточного монослоя среду роста сливали и заражали клетки вирусодержащей жидкостью. Для исследования каждой пробы использовали 2—3 пробирки с клеточным монослоем, в которые вносили по 0,2 мл вирусодержащего материала. После этого пробирки

оставляли в наклонном положении на 0,5—1 час для контактирования вируса с клетками, затем добавляли 0,8—1 мл поддерживающей среды и помещали их в термостат при температуре 37°.

При заражении куриных эмбрионов и фибробластов выделено 12 штаммов вирусов, пять из которых (№ 8, 9, 15, 19, 20) были строго пневмотропными, так как их выделяли только из легких и медиастинальных лимфоузлов. Остальные семь штаммов выделяли как из легких, так и из других паренхиматозных органов (№ 21, 22, 23, 25, 27, 28, 29). Эмбрионы погибали на 3—8-е сутки на 50—100%. В одном случае из пяти гибель эмбрионов наступила не в первом, а только в третьем пассаже (анализ № 15), что указывает на возможность постепенного повышения патогенности вируса в процессе культивирования. На поверхности тела, в подкожной клетчатке и внутренних органах погибших эмбрионов наблюдались разлитые кровоизлияния. Контрольные эмбрионы развивались нормально.

Цитопатогенное действие (ЦПД) на культуре ткани из куриных фибробластов было выявлено на 3—4-й день культивирования вирусов в виде округления, скупивания клеток и отслоения клеточного монослоя от стенки пробирки. Степень ЦПД вируса составляла 2—4 креста (рис. 1). Указанное явление отмечалось в трех последовательных пассажах. В контрольных пробирках клеточный монослой оставался без изменений (рис. 2).

Использование перевиваемых линий клеток позволило выявить ЦПД пневмотропных вирусов на клетках Hela от двух поросят (№ 9, 15); на клетках С-18 (рис. 3) и амниона человека в пяти пробирках (№ 8, 9, 15, 19, 20). В контроле изменений не наблюдалось (рис. 4).

Таким образом, в опытах на куриных эмбрионах, фибробластах и перевиваемых линиях клеток из аналогичного материала было выделено пять штаммов пневмотропных вирусов, или 8,33% общего количества проб, и семь штаммов респираторных вирусов, находившихся в легких и других паренхиматозных органах (11,6%). При этом был изучен характер ЦПД и особенности культивирования каждого штамма вирусов. Наиболее активно размножались респираторные вирусы в куриных эмбрионах и слабее в куриных фибробластах.



Рис. 1. Клеточный монослой куриных фибробластов на 5-е сутки после заражения респираторным вирусом (штамм № 9), 3-й пассаж, ЦПД — 4 креста.

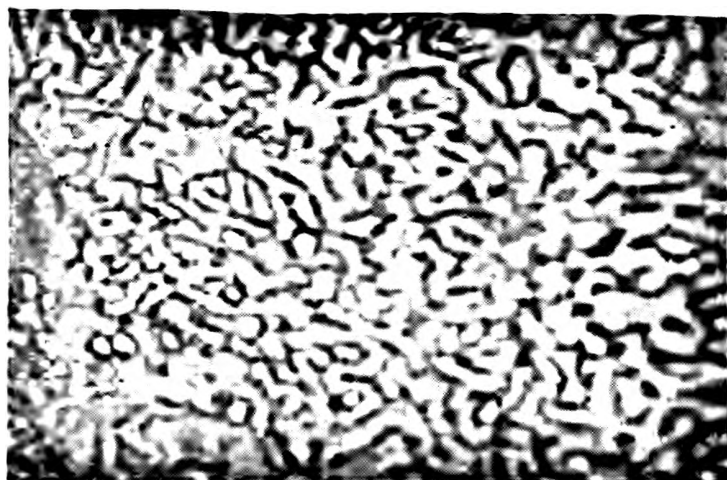


Рис. 2. Монослой куриных фибробластов в норме (контроль).

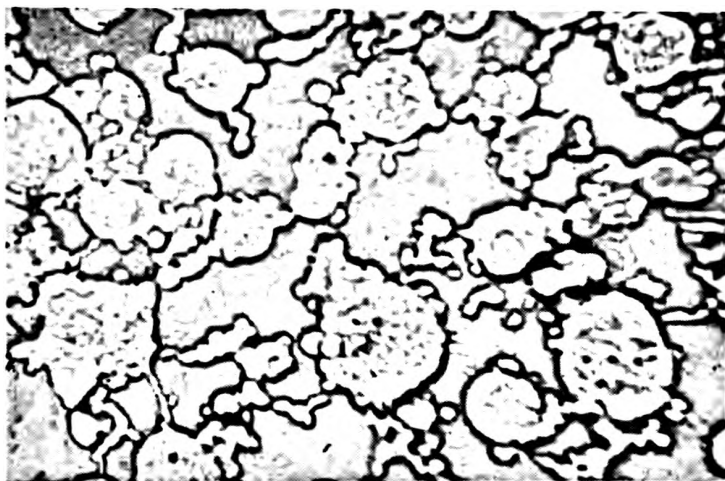


Рис. 3. Монослой клеток С-18 на 3-и сутки после заражения респираторным вирусом (штамм № 9), 3-й пассаж, ЦПД — 4 креста.

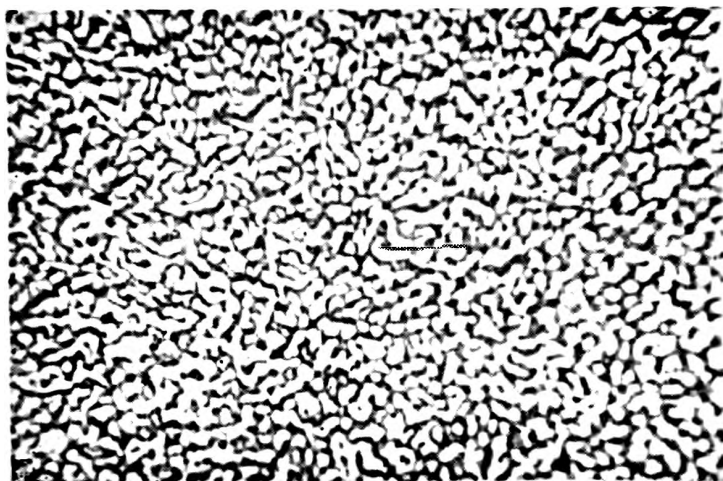


Рис. 4. Монослой клеток С-18 в норме (контроль).

В культуре ткани из перевиваемых линий клеток развивались только пневмотропные вирусы, причем клетки С-18 и амниона человека были более чувствительными к ЦПД вируса, чем клетки Hela. Реакция гемагглютинации эритроцитов кур с материалом, содержащим пневмотропные вирусы, была отрицательной, исключая вирус № 9. Реакция гемагглютинации и гемадсорбции с остальными респираторными вирусами во всех случаях проходила на 2—3 креста и оценивалась как положительная (рис. 5).

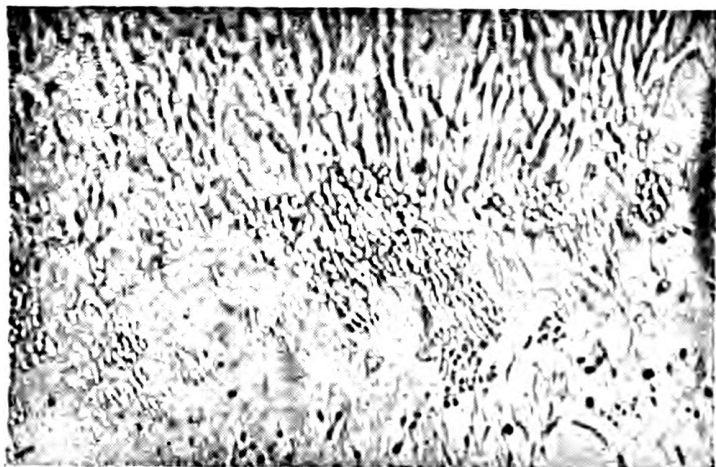


Рис. 5. Реакция гемадсорбции эритроцитов кур (2 креста) в монослое куриных фибробластов (штамм № 21).

Патогенные свойства выделенных вирусов изучались путем интраназального заражения белых мышей материалом, содержащим различные штаммы вирусов (эмбриональная жидкость, суспензия ткани зараженного эмбриона, разрушенный клеточный монослой). Положительный результат получен только в двух случаях при использовании штаммов № 9 и 22, введение которых вызывало гибель мышей на 14-е сутки. Это указывает на слабую вирулентность вирусов для мышей. В процессе последующих 5 пассажей на мышах вирулентность штамма № 9 возросла в два раза: мыши погибли через 5—7 суток при тех же условиях заражения. На вскры-

Таблица

Биологические свойства респираторных вирусов, выделенных при пневмониях поросят

№ штамма вируса	Материал	Культивирование в культуре тканей				Реакции с эритроцитами кур		Патогенность для белых мышей при интраназальном заражении	Виды сопутствующей бактериальной флоры	
		Курином эмбрионе	Куриные фибробласты	C-18	Янция человека	клетки HeLa	гематоглини		гематоскопия	патогенной для белых мышей
8	Легкие и ме- диастинальные лимфоузлы	+	+	+	+	—	—	—	<i>Bact. typhi suis</i>	<i>Staph. albus</i>
9	»	+	+	+	+	+	+	+	Нет	<i>Bact. typhi suis</i> <i>Bact. c. aerogenes</i>
15	То же	+	+	+	+	+	+	+	<i>Pasteurella suis</i> <i>Bact. suipestifer</i>	<i>Staph. albus</i>
19	»	+	+	+	+	+	+	+	То же	<i>Sir. pyogenes</i>
20	»	+	+	+	+	+	+	+	Нет	<i>Staph. albus</i>
21	Легкие и др. органы	+	+	Не про- водили	Не про- водили	—	+	+	<i>Bact. c. communis</i>	<i>Pasteurella suis</i> , <i>Bact. c. communis</i>
22	То же	+	+	То же	То же	—	+	+	Нет	<i>Pasteurella suis</i> , <i>Bact. c. communis</i> <i>Pasteurella suis</i>
23	»	+	+	»	»	—	+	+	Нет	То же
25	»	+	+	»	»	—	+	+	Нет	Нет
27	»	+	+	»	»	—	+	+	<i>Pasteurella suis</i>	
28	»	+	+	»	»	—	+	+	Нет	<i>Bact. pyocyaneum</i> , <i>Sir. pyogenes</i>
29	»	+	+	»	»	—	+	+	<i>Bact. suipestifer</i>	<i>Staph. albus</i>

тии у всех них установлена пневмония. Материал из легких павших мышей вызывал гибель куриных эмбрионов в 50—100% случаев. На куриных фибробластах и клетках С-18 отмечалось ЦПД в 4 креста.

Проведенная работа позволила установить возможность получения, особенности культивирования, гемагглютинирующие, гемадсорбирующие и патогенные свойства респираторных вирусов, выделяющихся при пневмониях поросят, в куриных эмбрионах и культуре ткани.

С целью определения этиологической роли вирусов в возникновении пневмонии одновременно изучали также патогенные свойства сопутствующей бактериальной флоры. Подробная характеристика выделенных штаммов вирусов и бактериальной флоры приведена в таблице.

Как видно из данных этой таблицы, в семи случаях вирусы и патогенные бактерии выделялись одновременно, в пяти исследованиях (№ 9, 21, 23, 25, 28) вирусы выделялись в сочетании с непатогенными микроорганизмами. Основными бактериальными видами были *Pasteurella suis*, *Str. pyogenes anhaemoliticus*, *Staph. albus*, *Bact. c. communis*, *Bact. typhi suis*, *Bact. suispestifer*. Следует полагать, что в последних пяти случаях причиной пневмонии у поросят явились вирусы.

В результате изучения биологических свойств выделенных вирусов и на основании классификации респираторных вирусов, предложенной В. Н. Сюриным и Д. Ф. Осидзе (1964), мы пришли к заключению, что пять штаммов пневмотропных вирусов приближаются по своим свойствам к числу возбудителей вирусной или энзоотической пневмонии поросят, остальные семь штаммов респираторных вирусов — к возбудителям гриппа.

Выводы

1. При исследовании патматериала от 30 поросят из хозяйств, неблагополучных по пневмониям, в 12 случаях выделены респираторные вирусы.

2. Выделенные вирусы интенсивно размножались в куриных эмбрионах и менее активно в куриных фибробластах. При культивировании на перевиваемых линиях

клеток цитопатогенное действие их наиболее активно проявлялось на клетках С-18 и амниона человека и слабее на клетках HeLa.

3. Учитывая особенности культивирования на куриных эмбрионах в культурах ткани, а также гемагглютинирующие и патогенные свойства, пять штаммов вирусов следует считать строго пневмотропными, приближающимися по своим свойствам к возбудителям вирусной пневмонии свиней. Семь штаммов респираторных вирусов ориентировочно отнесены к группе возбудителей гриппа.

ЛИТЕРАТУРА

Николаев В. А., Николаева Л. В., Сметанин М. А. Изучение вирусной пневмонии поросят в хозяйствах ТАССР. Мат-лы Всесоюзной конференции по вопросам ветеринарной вирусологии. М., Изд-во МСХ и ВАСХНИЛ, 1964.

Сюрин В. Н., Осидзе Д. Ф., Пантелеева Ю. В. К проблеме гриппа и гриппоподобных заболеваний свиней. «Вест. с.-х. науки», 1962, № 12.

Сюрин В. Н., Осидзе Д. Ф. Рациональная терминология вирусных респираторных болезней свиней. «Ветеринария», 1964, № 7.

Guljarani T. S., Beveridge W. J. Infections pneumonia of pigs. Nature, vol. 167, 856, 1951.

Hjärre A., Dinter Z., Bakos K. Über Züchtungsversuche mit dem Schweineinfluenzavirus (Rhope) und dem Virus der enzootischen Schweinepneumonie in vitro. Nord. Vet. Med. vol. 4, № 12, 1952.

Kobe K. Die Aetiologie der Ferkelgrippe (enzootic pneumonia des Ferkels). Zbl. Bact. Parasitol. Infekt., 129, 1933.

Shope R. E. Swine influenza Filtration Experiments and Etiology. J. Exp. Med. vol. 54, № 3, 1931.

Sasahara J. Studies on the HVJ (Hemagglutinating virus of Japan) newly isolated from the swine. Report № 30 of Nation. instit. of animal health. Tokyo, 1955.