

## ВЫДЕЛЕНИЕ ВОЗБУДИТЕЛЯ ИНФЕКЦИОННОГО АТРОФИЧЕСКОГО РИНИТА СВИНЕЙ НА КУЛЬТУРЕ ТКАНИ

---

В. В. НИКОЛАЕВА

В наших сообщениях (Царев, Николаева, Войцеховский, 1962) отмечалось, что инфекционный атрофический ринит свиней можно воспроизвести, если поросят-сосунов заразить фильтратом, полученным из содержимого носовых полостей больных животных. В последующей работе нам удалось культивировать возбудителя болезни на развивающихся куриных эмбрионах и пассажировать выделенный вирус на белых мышатах (Николаева, 1964).

В настоящем сообщении мы приводим материалы о выделении вируса от больных животных и изолировании его на культуре ткани.

Возбудитель выделялся с помощью культуры ткани куриных эмбрионов. После вскрытия скорлупной оболочки живые куриные эмбрионы 11—12-дневной инкубации извлекали и ножницами рассекали на мелкие частицы. Полученные кусочки эмбриона три раза промывали раствором Хенкса (рН 7,2—7,4), помещали в 2,5% раствор трипсина и выдерживали при 30—32° на магнитной мешалке в течение 5—6 минут. Затем взвесь клеток в растворе трипсина переносили в охлажденные центрифужные стаканы и держали на холоде до центрифугирования. Осаждение клеток производили центрифугированием при 1000 об./мин. в течение 7 минут. Надосадочный слой жидкости из стаканов удаляли, а осадок ресуспендировали в питательной среде. Содержание клеток довели до 500 тыс. в 1 мл, а затем клеточную взвесь разливали по 1 мл. в пробирки и ставили в термостат.

Прикрепление клеток куриных фибробластов к поверхности стекла пробирок наблюдалось на следующий день. Сплошной слой клеток образовался на 3—4-й день. Отобранные с хорошим слоем клеток пробирки подвергались заражению материалом, содержащим вирус.

Для первичного заражения культур ткани материал брали от поросят, больных атрофическим ринитом. После убоя у поросят вскрывали носовые полости, извлекали содержимое носовых полостей, остатки носовых раковин, слизистую носа и решетчатой кости, тщательно растирали в ступке со стеклом, а затем полученную массу разбавляли физиологическим раствором NaCl и фильтровали через фильтр Зейтца. После проверки материала на бактериальную стерильность заражали им культуру ткани.

Для этого питательная среда из пробирок с культурой ткани сливается, а к культуре, которая плотно пристает к стеклу, добавляется

0,2 мл фильтрата, содержащего вирус. Вирус адсорбируется непосредственно на клетки культуры в течение 20—30 минут, затем в эту пробирку добавляется сохраняющая питательная среда, по составу соответствующая первоначальной, только без добавления сыворотки крови.

Вирус, попадая на живые клетки, начинает развиваться и вызывать дегенеративные изменения, выражающиеся в округлении, набухании и постепенном отслоении их от стенок пробирки. Для повторных заражений пользовались культуральной жидкостью, содержащей вирус, предварительно замороженной и оттаявшей.

Патогенность культивируемого вируса, выделенного с помощью культуры ткани, изучалась в опыте заражения поросят. Для заражения использовали 4 поросят в первые часы после рождения, 2 поросят оставляли в качестве контроля. Поросятам подопытной группы в подслизистую оболочку носа вводили культуральную жидкость, содержащую вирус, 0,3 мл каждому; кроме того, ту же жидкость закапывали в нос — раз в день три дня подряд.

Подопытные и контрольные поросята содержались в отдельных изолированных станках, при одинаковых условиях кормления и содержания. Наблюдение за животными продолжалось в течение 4 месяцев от момента заражения. До 2 месяцев поросята были на подсосе, затем их отнимали и содержали пометами в строгой изоляции.

Через неделю после заражения у всех поросят подопытной группы отмечены чихание, слезотечение, покраснение и набухание соединительной оболочки глаз. Эти признаки сохранялись в течение месяца. Температура тела как у подопытных, так и у контрольных поросят оставалась в норме. Заметных изменений в поедании корма и поведении животных обеих групп не наблюдалось.

По истечении 4 месяцев поросят обеих групп забили и подвергли патологоанатомическому исследованию. Был произведен фронтальный распил костей, образующих носовую полость, — на уровне переднего края первых верхних премоляров.

При осмотре носовой полости на распиле отмечено следующее. У всех животных не было заметных изменений в расположении челюстей, не отмечены искривление носа и выраженная складчатость кожи на спинке носа. Костная основа носовой полости, носовая перегородка на фронтальном распиле на уровне первых верхних коренных зубов видимых изменений не имела как у контрольных, так и у подопытных животных.

У подопытного поросенка № 1 верхняя и нижняя пластинки нижней раковины в заднем отделе носовой полости были уменьшены в объеме, завитки пластинок выражены слабо; слизистая, покрывающая раковину, кажется высушенной. Вследствие того, что нижняя раковина в этом отделе носовой полости в целом уменьшена, общий носовой ход представлен в виде довольно большой зияющей щели. Увеличен также нижний носовой ход. В переднем отделе носовой полости нижняя и верхняя пластинки раковины разрушены совершенно. Сохранилась небольшая часть костной пластинки в месте прикрепления ее к верхней челюстной кости. Поскольку нижняя раковина в большей части разрушена, общий нижний и средний носовые ходы слились и образовали общую полость, в которую сбоку со стороны верхней челюсти выступали костные остатки нижней раковины.

У подопытного поросенка № 2 обнаружены такие же изменения. Атрофия нижней раковины в задней части носовой полости не вызвала сомнений, общий носовой ход расширен, увеличен и нижний носовой ход. В передней части носа вместо носовых ходов образована одна

общая полость, в которой видны бесформенные остатки костных пластинок нижней раковины.

У подопытных поросят № 3 и 4 рисунок нижней раковины был сохранен, отмечались истончение костных пластинок, атрофия слизистой оболочки, покрывающей раковину, расширение общего и нижнего носовых ходов.

У контрольных поросят конфигурация носовых раковин на распиле сохранена, завитки раковин хорошо развиты, носовые ходы, в том числе и общий, — умеренной величины.

Таким образом, данные патологоанатомического вскрытия показывают, что поросята в результате заражения их культуральным вирусом заболели атрофическим ринитом, который протекал у них в легкой форме.

Следовательно, нам удалось воспроизвести заболевание поросят атрофическим ринитом в лабораторных условиях и подтвердить ранее высказанное мнение о том, что возбудителем этого заболевания является фильтрующийся вирус.