

ПОПЫТКА ЗАРАЖЕНИЯ СВИНЕЙ ЧЕЛОВЕЧЕСКИМ ШТАММОМ ВИРУСА ГРИППА А-СИНГ 57

(Предварительное сообщение)

Ф. ПАТОСКА, Е. SCHREIBER, V. KUBELKA, J. KORB, S. JOHN, E. SCHÖN

Из Отдела медицинской микробиологии и иммунологии Карлова университета, Прага

В ранних экспериментальных исследованиях по биологии вируса гриппа, то е. до 1948 г. (Maут),¹ три вида животных рассматривались как постоянно восприимчивые к человеческому вирусу (обычно — к типу А). Считалось, что к нему наиболее восприимчивы хорьки, далее — белые мыши при наличии адаптации, и, наконец, в отношении отдельных штаммов (WS, PR 8) — свиньи. Однако впоследствии Моут и Джонс показали, что восприимчивость этих животных к человеческим штаммам вируса носит непостоянный характер.

Дальнейшие открытия, установившие, что к человеческому вирусу гриппа восприимчивы дикообраз (Стюарт-Харрис),² китайская норка (Танг),³ некоторые породы белки и, при наличии определенных условий — морские свинки (Дюжарик де ла Ривьер,⁴ Паточка),⁵ не имели большого значения для изучения патогенеза этой вирусной инфекции.

Одна из существующих теорий относительно генеза вируса гриппа свиней, вместе с непроверенным сообщением о случившейся в Китае эпидемии гриппа, вызванной вирусом А-Синг 57, когда заболевания начались среди свиней и лишь позже распространились среди людей, побудили нас заняться выяснением вопроса — в какой мере свиньи восприимчивы к вирусу А-Синг 57 при условиях, хотя и сходных с условиями, при которых протекали опыт Шоупа и Фрэнсиса,⁶ но все же несколько отличных от них. Основные различия имелись в технике выделения вируса и обнаружения специфических антител.

Насколько нам известно из доступной нам литературы, в 1934 г. Элкелесу⁸ впервые удалось экспериментальное заражение свиней вирусом WS. В 1936 г. Шоуп и Френсис заражали 6—14-недельных поросят 10%-ной взвесью легочной ткани мышей, инфицированных штаммом WS и выделенным незадолго до опыта штаммом PR 8. Материал вводился интраназально при легком эфирном наркозе. Когда для заражения применяли только вирус, признаки заболевания были выражены очень слабо, не всегда наблюдались и, в большинстве случаев выявлялись с трудом.

У свиней с симптомами болезни незначительное повышение температуры отмечалось только на следующий день после заражения. На вскрытии в легких обнаруживались лобулярные очаги ателектаза, из которых удавалось выделить вирус. Те участки легкого, где отсутствовали анатомические изменения, не содержали вируса.

Таблица 1. Первый пассаж на свиньях.

Свинья №	День после заражения	2	4	7	23	День после заражения	Антитела подавляющие гемагглютинацию			
							Выделен	Антиген	до заражения	23
223	Вирус	—	—	—	—	А-Синг 57 Св.	32—	32—	128+	32—
	Бакт. инфл. св.	—	+	—	—					
224	Вирус	+	—	—	—	А-Синг 57 Св.	32—	32—	128+	32—
	Бакт. инфл. св.	+	+	—	+					
225	Вирус	+	+	+	—	А-Синг 57 Св.	32—	512+	512+	256+
	Бакт. инфл. св.	+	+	—	+					

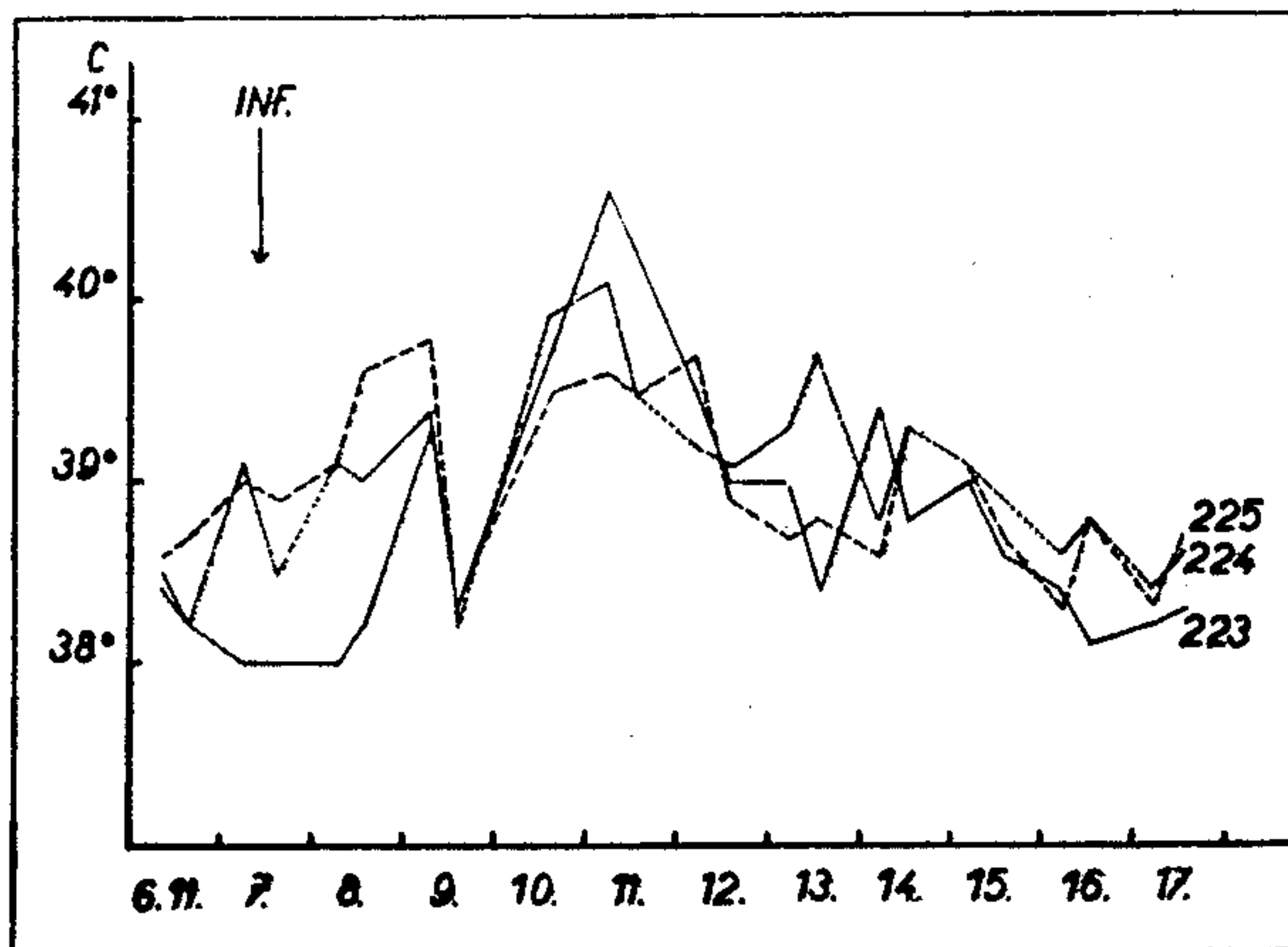


Рис. 1. Температурная кривая свиней при первом пассаже. Температура измерялась дважды в день: в 8 и 13 часов.

В другой серии опытов, когда свиньям вводили смесь вируса гриппа и бактерии инфлюэнцы свиней (*Haemophilus influenzae suis*), у животных возникало клинически выраженное заболевание, сопровождающееся повышением температуры, длившееся обычно не более трех дней. По своему характеру клиническая картина была весьма сходной с клиникой вирусного гриппа свиней, отмечены лишь некоторые различия чисто количественного порядка. У заболевших животных обнаружены нейтрализующие антитела и установлено наличие иммунитета к гомологичному вирусу. При пассировании на свиньях человеческий вирус не изменял своих свойств

и его вирулентность для свиней не повышалась. В 1939 г. Моут и Фосер-гилл¹ подтвердили прежние данные и притом установили, что человеческие штаммы *H. influenzae* не оказывают синергического влияния на вирусную инфекцию.

В связи со всем вышесказанным полезно вспомнить сообщение Шоупа⁹ (1939 г), обнаружившего в Нью-Джерси нейтрализующие антитела

Таблица 2. Второй пассаж на свиньях.

Свинья №	День после заражения Выделен	До заражения	4	7	11	24	День после заражения Антиген	Антитела подавляющие гемагглютинацию		
								до заражения	14	24
226	Вирус Бакт. инфл. св.	—	+	—	—	—	А-Синг 57 Св.	32—	64+	64+ 32—
227	Вирус Бакт. инфл. св.	—	+	—	—	—	А-Синг 57 Св.	32—	64+	64+ 32—

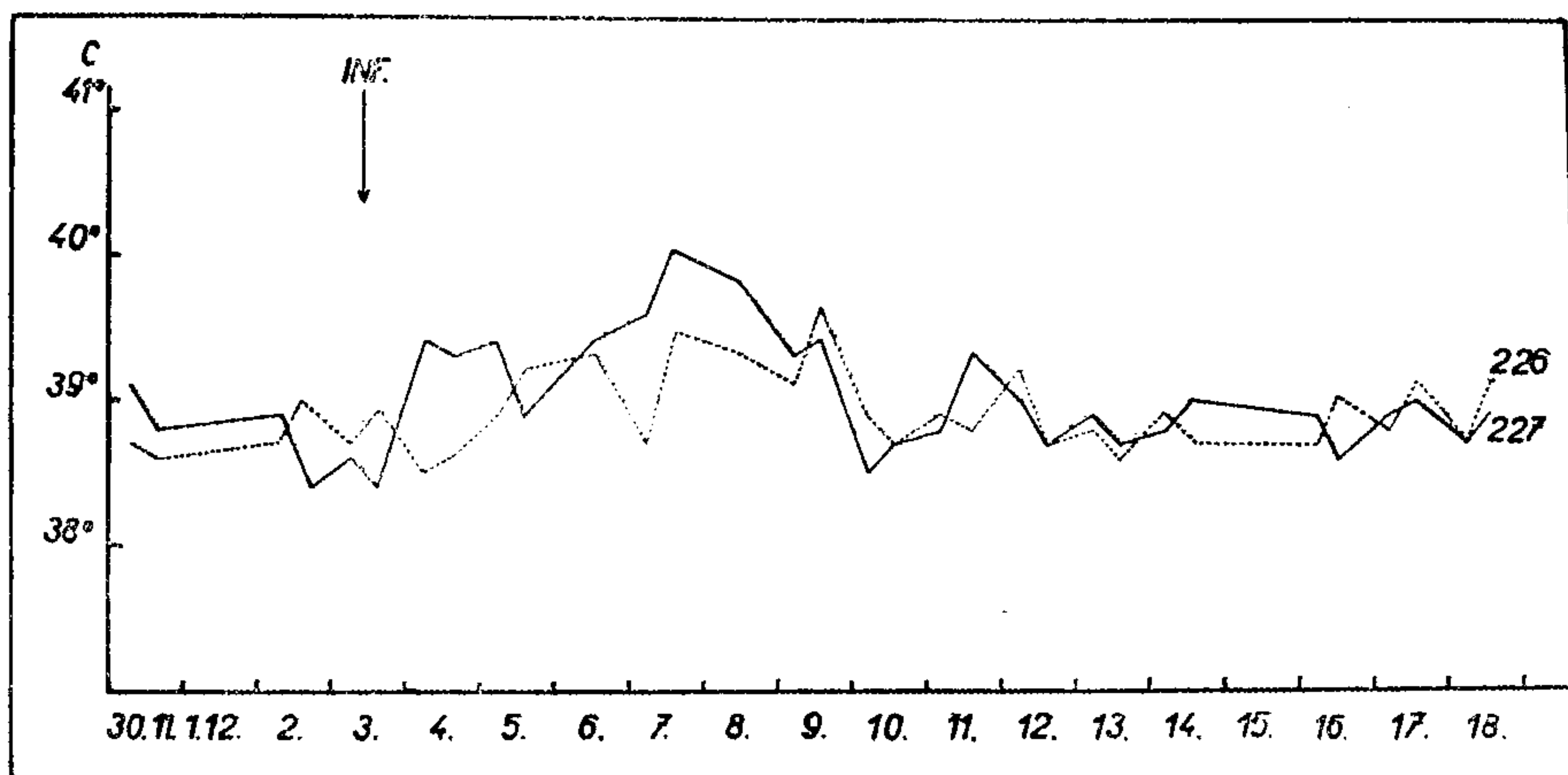


Рис. 2. Температурная кривая свиней при втором пассаже. Температура измерялась дважды в день: в 8 и 13 часов.

у взрослых свиней, которые, повидимому перенесли инфекцию во время эпидемии гриппа среди людей; у свиней, родившихся после эпидемии, такие антитела не обнаружены.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

В первой серии опытов мы работали со штаммом А-Синг 57, полученным от д-ра Тумова из Института эпидемиологии и микробиологии. Мы не могли выяснить, сколько раз этот вирус был пассирован через куриные зародыши. Обычным исследованием обнаружен титр гемагглютинации 1280+ с 1/2% взвесью куриных эритроцитов и 640+ с эритроцитами морской свинки.

При первом пассаже свиньям № 223, 224, 225 вводили под легким эфирным наркозом по 2 мл аллантоисной жидкости интраназально.

При втором пассаже свинье № 226 введено, также под легким эфирным наркозом, 3 мл взвеси вируса, выделенного у свиньи первого пассажа после трехкратного пассирования через амниотическую и однократного — через аллантоисную полость куриного зародыша. Так как при втором пассаже титр гемагглютинации оказался очень низким (1:40+, 1:80±), мы концентрировали вирус адсорбцией на эритроцитах с последующей

Таблица 3. Третий пассаж на свиньях.

Свинья №	День после заражения		4	7	11	Антитела подавляющие гемагглютинацию	
	Выделен	До заражения				до заражения	14
232	Вирус		+	Еще не выполнено		А-Синг 57	32—
	Бакт. инфл. св.		—	+	+	Св.	32—
233	Вирус		+	Еще не выполнено		А-Синг 57	32—
	Бакт. инфл. св.		—	+	+	Св.	32—

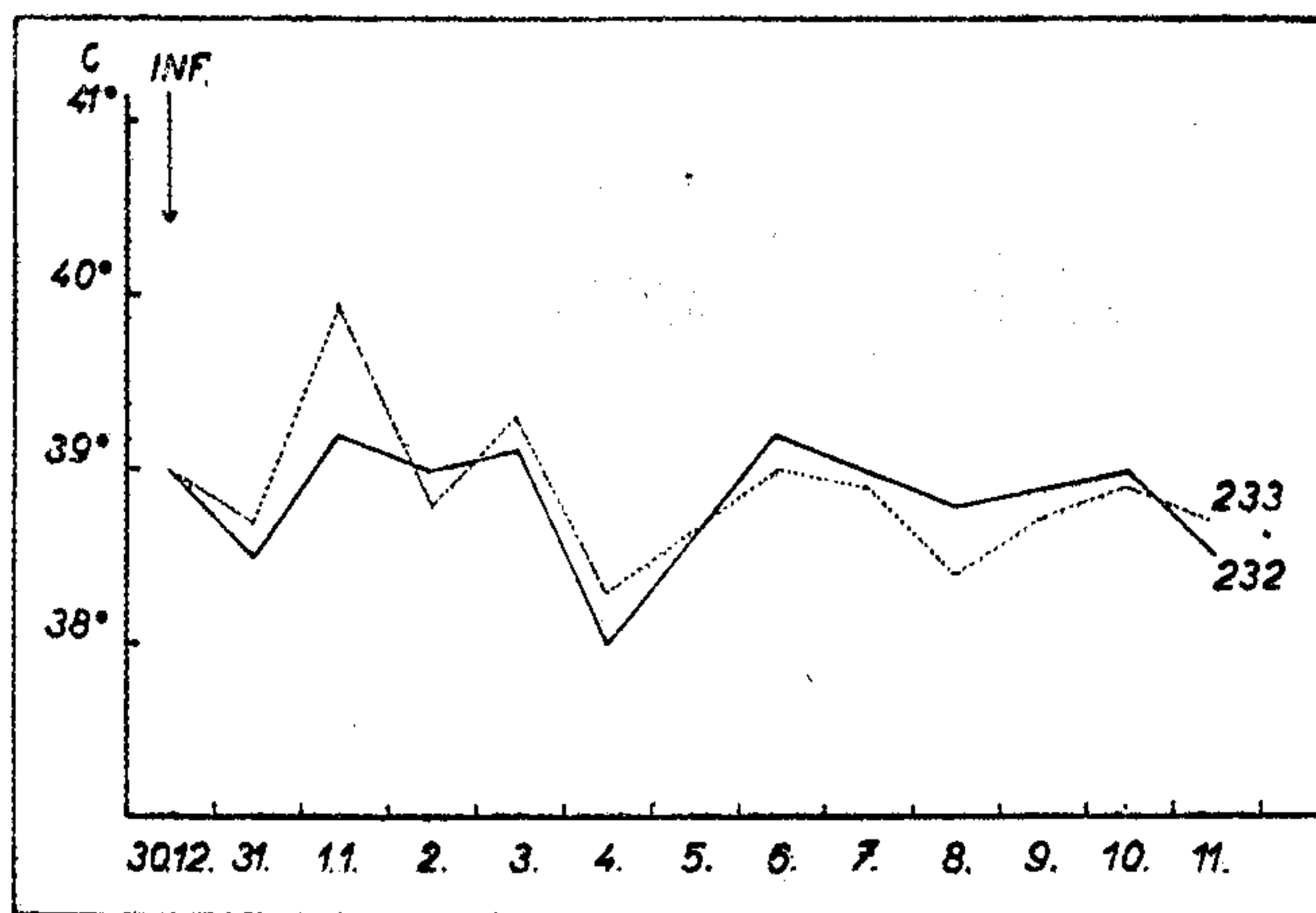


Рис. 3. Температурная кривая свиней при третьем пассаже. Температура измерялась раз в день.

элюцией; в результате титр повысился до 1:640+. Свинье № 227 при втором пассаже ввели 4 мл амниотической жидкости куриных зародышей, зараженных вирусом, выделенным от свиней первого пассажа, без попытки его концентрировать; после третьего пассажа вируса через амниотическую полость титр гемагглютинации был равен 1:80.

При третьем пассаже свиньям (№№ 232 и 233) был введен вирус, выделенный от свиней второго пассажа, пассированный трижды через амниотическую полость и один раз через аллантоисную полость куриного зародыша. Животным вводили по 3 мл аллантоисной жидкости с титром гемагглютинации 160+ и 320+.

Первый пассаж был сделан на трех поросятах весом 15—16 кг. У всех трех животных из носовой слизистой оболочки были обнаружены *H. influenzae suis*. Для второго пассажа были взяты более взрослые животные весом 25—28 кг у которых не был выделен

H. influenzae suis. Для третьего пассажа были отобраны поросята весом 12—15 кг; до их заражения штаммом А-Синг 57 у них ни разу не были выделены гемофильные палочки, но после заражения их неоднократно выделяли на всем протяжении опыта.

Материал для посева вируса брали ватным тампоном на длинной проволоке, которым удавалось провести по всему протяжении носовой раковины. Затем тампоны погружались в раствор Хэнкса. После центрифугирования элюата к нему добавляли пенициллин из расчета 1000 единиц и стрептомицин из расчета 1000 гамма на миллилитр. Приготовленный таким способом материал вводили в амниотическую полость 11-дневных куриных зародышей.

Кровь для исследования брали шприцем из сердца. Температуру тела измеряли *per rectum*.

Пробу подавления гемагглютинации ставили по Солку, применяя ½% взвесь куриных эритроцитов (в разведениях начиная с 1:32). Штаммы, выделенные с тампонов, исследовались иммунными сыворотками крыс и хорьков против вирусных штаммов: А-Синг 57, PR 8, А-Мост, В-Братислава, С, Д и против возбудителя инфлуэнцы свиней.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Полученные результаты, свидетельствующие о постоянном присутствии и, по нашему мнению, также о размножении вируса в слизистых оболочках верхних дыхательных путей свиньи, представлены в 3 таблицах, относящихся каждая к одному пассажиру.

На этих таблицах показано также постепенное нарастание титра подавляющих гемагглютинацию антител против данных штаммов; последнее доказывает, что все животные перенесли вирусное заболевание (таблицы 1, 2, 3).

Клинические симптомы, т. е. повышение температуры у отдельных групп животных, показаны в рисунках 1, 2 и 3.

ОБСУЖДЕНИЕ И ВЫВОДЫ

Из полученных результатов видно, что поросята оказались восприимчивы к вирусу А-Синг 57, несмотря на то, что штамм, с которым мы работали, несомненно был много раз пассирован через куриный зародыш, а это, как известно, резко снижает заразительность вируса гриппа для человека и хорька. Разница в титре антител до и после заражения животных, и вирусологические данные, показанные в таблицах 1 и 2, свидетельствуют о значительной восприимчивости поросят к вирусу. Мы не игнорируем то обстоятельство, что присутствие автохтонного *H. influenzae suis* несомненно играет роль синергического микробного агента. Поэтому животные не столь восприимчивы к вирусу, как это представляется из таблицы № 1.

Температурные кривые наиболее ясно показывают наличие клинической реакции на инфекцию. При двух первых пассажах максимальное повышение температуры наступало на четвертый день; в среднем у молодых животных она повышалась больше, чем у более взрослых. При сравнении наших данных с опытами Шоупа и Фрэнсиса⁶ создается впечатление (отчасти предположительного порядка, поскольку третья серия наших опытов еще не закончена), что адаптация вируса к организму свиньи несколько повышает его вирулентность; об этом можно судить по температурным кривым при третьем пассаже на свиньях (рисунок 1), где максимальное повышение температуры наступало уже на второй день.

То обстоятельство, что нам не удалось выделить вирус от свиней № 223 и 224 можно объяснить методическими погрешностями.

Выделенные от свиней штаммы, по-видимому, ведут себя так же, как штаммы, свежесвыделенные от больного человека (это проявляется наиболее отчетливо при первом

пассаже), поскольку в опытах заражения даже концентрированным вирусом выделенные штаммы (выделить их не трудно) обладают низким титром гемагглютинации, который несколько повышается при последующих пассажах через яйцо.

Адаптированный вирус способен агглютинировать свиные эритроциты, но это наше наблюдение подлежит дальнейшему изучению.

Наблюдения, сделанные пока еще только в одном единственном опыте, дают основание считать, что вирусом, вторично пассируемым через свинью, не заражается здоровая свинья, находящаяся в одном стойле с зараженной.

В целом, результаты наших опытов совпадают с результатами, полученными более 20 лет назад Элкелесом, Шоупом и Фрэнсисом.

Подтверждая выводы этих авторов, наши опыты распространяют их на недавно выделенный человеческий вирус типа А, получивший название А-Синг 57.

Материал, которым мы в настоящее время располагаем, еще не позволяет сделать окончательные выводы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Mote J. R.: Virus and Rickettsial Diseases. Harvard University Press, 1948. — 2. Stuart-Harris C. H.: Brit. J. exp. Path. 17, 324, 1936. — 3. Tang F. F.: Brit. J. exp. Path. 19, 179, 1938. — 4. Dujaric de la Rivière: Ann. Inst. Past. 59, 5, 1937. — 5. Patočka F.: Čas. lék. čes. 80, 813, 1941. — 6. Shope R. E., Francis T. jr.: J. exp. Med. 64, 791, 1936. — 7. Raška K.: личное сведение. — 8. Elkeles G.: Mededeelingen uit het Inst. Praev. Geneesk., Leiden, 1934. — 9. Shope R. E.: J. exp. Med. 67, 739, 1938.

Статья поступила в редакцию 14. I. 1958.

Prof. dr. F. Patočka, Ústav pro lék. mikrobiologii,
Praha 2, Studničkova 7, Československo