

Г. К. БОЯДЖЯН, С. Р. ПОСТОЯН

К ВОПРОСУ О ПЕРЕЖИВАНИИ ВИРУСА ЯЩУРА В КЛЕЩАХ  
*ORNITHODORUS LAHORENSIS* NEUM, 1908

(Искусственное заражение клещей)\*

В литературе имеется всего несколько работ, посвященных изучению клещей как агентов, способных сохранять в своем организме вирус ящура и передавать его от больных к восприимчивым животным.

Л. Денин [1], обобщив в своей статье имеющиеся литературные сообщения, ссылается на Молера, Галлова и др. авторов. Приводит он также и свои экспериментальные данные о заражении вирусом ящура животных.

С. Джупина [2] также приводит данные по искусственному заражению вирусом ящура морских свинок и крольчат.

Недостаточная изученность этого вопроса выдвигает необходимость расширения и углубления дальнейших исследований с целью более полного выяснения значения того или иного вида клеща в распространении ящура среди животных.

В своих опытах мы преследовали цель: выяснить возможность и сроки сохранения вируса ящура при искусственном введении его в организм клеща *O. lahorensis*.

**Материал и метод.** Половозрелые клещи *O. lahorensis*, собранные в благополучных по ящуру хозяйствах, инфицировались вирусом ящура, а затем периодически исследовались на вирусоносительство.

Инфицирование клещей проводили введением вируса ящура непосредственно в полость тела клеща. До введения вируса, из общего сбора отбирали более активных клещей, переносили их в чашку Петри и в течение 15—20 мин. снаружи обрабатывали растворами антибиотиков (по 500 ЕД пенициллина и стрептомицина в 1 мл дистиллированной воды). Затем клещей тщательно подсушивали стерильной фильтровальной бумагой и фиксировали на парафиновом столике в вертикальном положении, погрузив заднюю часть клеща в парафин, предварительно растопленным горячим железным предметом. Под биноклем, в условиях асептики, удаляли лапку одной из передней пары ножек с помощью приспособленных для этой цели ножниц и пинцета. Вытекающую гемолимфу, составляющую обычно 0,015—0,020 мл, собирали в стерильную микропипетку и переносили в пробирку с культурой тканей, чтобы выяснить влияние неинфицированной гемолимфы на культуру тканей. Затем с помощью стерильной микроканюли отбирали вируссодержащую жидкость и в количестве 0,015—0,020 мл вводили через отсеченную ножку

\* Сообщение 1-ое.

в полость тела клеща, затем прижигали поврежденную ножку (место введения вируса). Клещей содержали в пробирках под ватной пробкой при комнатной температуре.

**Культуры тканей.** Использованы однослойные трипсинизированные культуры тканей, полученные из паренхимы почек 4—5 дневных крольчат, свинных и куриных эмбрионов. В качестве среды роста использовали солевой раствор Хенкса, содержащий 0,5% гидролизата лактальбумина и 10% нормальной сыворотки крупного рогатого скота. Поддерживающей средой служила среда Паркера (199) без сыворотки. В опытах использовались преимущественно пробирочные культуры с хорошим клеточным ростом (4—5 дней инкубации). По мере необходимости готовили тканевые культуры и в 100 мл флаконах Повицкого.

**Заражение тканевых культур.** Из пробирок и флаконов заранее удаляли поддерживающую среду, вносили туда вируссодержащий материал (обычно 0,015—0,020 мл гемолимфы и 0,2—0,4 мл культуральной жидкости при последующих пассажах) и оставляли при комнатной температуре в течение 1,5—2 час., перераспределяя исследуемый материал по поверхности клеточного слоя через каждые 15—20 минут. Затем добавляли среду Паркера 199 без сыворотки и переносили в термостат при 37°C. Опытные пробирки микроскопировали ежедневно в течение 5—9 дней. О результатах судили по наличию или отсутствию цитопатогенного действия вируса ящура, появляющегося в культурах тканей после внесения гемолимфы или другого исследуемого материала. Однако, независимо от полученных результатов делали до четырех пассажей исследуемого материала. К опытным пробиркам оставляли и контрольные пробирки с культурой тканей. Кроме того, чтобы убедиться в наличии вируса ящура в культурах тканей из пробирок с дегенеративным клеточным слоем брали культуральную жидкость и заражали интраплантарно морских свинок.

**Вирус.** Для заражения клещей использовали цитопатогенный штамм вируса ящура типа «О», прошедший многократные пассажи на культурах тканей почек крольчат. При инфицировании клещей, ТЦД<sub>50</sub> используемого штамма равняется  $10^6$ — $10^7$  в одном мл. Обычно, при заражении культуры тканей указанный штамм в дозе 0,1—0,2 мл через 24 часа вызывает выраженное цитопатогенное действие, а через 48—72 часа приводит к полной гибели и отпадению клеточного монослоя с поверхности стекла. Этот штамм является апатогенным для белых мышей, вызывает афтообразование у морских свинок. Цитопатогенное действие на культуры тканей оценивали следующим образом: полное разрушение клеточного слоя отмечали цифрой 4, начальные очаги дегенерации клеток—1, промежуточные степени дегенерации цифрами 2, 3.

**Результаты исследования.** Проведено два опыта: в первом опыте инфицировали 8 клещей, из них 4 клеща исследовали на вирусоносительство через 7 дней и 4—через 15 дней, после их заражения. В обоих случаях получили положительные результаты. Цитопатогенное действие вируса ящура было обнаружено через 24 часа после внесения в культу-

ры тканей гемолимфы, полученной от инфицированных клещей. Специфическое действие вируса на культуры тканей появлялось также в последующих четырех пассажах. Через 20 дней после инфицирования, 8 клещей повторно исследовали на вирусоносительство с положительным результатом. При этом незначительное цитопатогенное действие, обнаруженное через 120 часов после внесения гемолимфы в культуры тканей, стало более выраженным в последующих пассажах и в 4 пассаже оно проявилось через 24 часа после заражения культурой ткани. Через 32 дня после инфицирования 5 клещей из 8 в третий раз были исследованы на вирусоносительство, также с положительным результатом. В культурах тканей, обработанных гемолимфой указанных 5 клещей, через 24 часа было отмечено цитопатогенное действие вируса. Однако через 48 час. в указанных культурах было обнаружено бактериальное загрязнение. Культуральная жидкость этого пассажа была обработана антибиотиками, центрифугирована при 5000 оборотов в мин. в течение 25 мин. и надосадочная жидкость была внесена в культуры тканей, в которых через 24—48 часов снова было отмечено цитопатогенное действие вируса, проявляющееся также в последующих четырех пассажах. У 3 клещей из 8, исследованных на вирусоносительство через 38 дней после инфицирования, получены отрицательные результаты.

Во втором опыте было заражено 15 клещей, из которых 5 исследовали на вирусоносительство через 28 дней и 7—через 48 дней после инфицирования. При исследовании положительные результаты были получены только в тех культурах тканей, в которые была внесена гемолимфа, полученная от клещей, исследованных через 28 дней после их инфицирования вирусом ящура. Вторым пассажем этого вируса была заражена мерская свинка, у которой через 48—72 часа образовались афты на месте введения вируса (задние лапки). От 3 зараженных клещей этого опыта не удалось получить стерильную гемолимфу. Культуры тканей, обработанные гемолимфой, полученной от клещей до инфицирования, остались нормальными в течение всего опыта.

Результаты цитопатогенного действия вируса ящура на культуры тканей после внесения гемолимфы, полученной от инфицированных клещей, приведены в табл. 1. Из таблицы видно, что изменение силы цитопатогенного действия вируса в период нахождения его в организме клещей происходит не постепенно, а скачками. После 7-дневного нахождения вируса в организме клеща, сила цитопатогенного действия остается ближе к исходной. Через 15—20 дней она заметно ослабевает и к 28—32 дням, снова приближаясь к исходному, совершенно пропадает через 38—48 дней. Кроме того, во всех последующих пассажах вирус закономерно восстанавливает исходную силу цитопатогенного действия.

### В ы в о д ы

1. Культуральный вирус ящура типа «О» переживает в клещах *O. lahogensis* при искусственном их заражении в течение 28—32 дней, сохраняя при этом силу цитопатогенного действия ближе к исходной.

Цитопатогенное действие вируса ящура на культуры тканей, обработанных гемолимфой инфицированных клещей вида *O. lahorensis*, 1908

Заражение культуры тканей гемолимфой, полученной после их инфицирования	Пассажи после заражения тканевых культур гемолимфой клещей																									
	1 пассаж						2 пассаж						3 пассаж						4 пассаж							
	24	48	72	96	120	144	24	48	72	96	120	144	24	48	72	96	120	144	24	48	72	96	120	144		
7 дней . . . . .	2	4	X	0	0	0	3	4	X	0	0	0	3	4	X	0	0	0	3	4	X	0	0	0		
15 дней . . . . .	0	0	1	2	4	4	1	3	4	X	0	0	4	4	X	0	0	0	пассажи не произведены							
20 дней . . . . .	0	0	1	1	2	3	3	4	X	0	0	0	3	4	X	0	0	0	3	4	X	0	0	0		
28 дней . . . . .	1	2	3	0	0	0	1	3	4	4	X	0	пассажи не произведены													
32 дня . . . . .	2	4	4	X	0	0	3	4	X	0	0	0	3	4	X	0	0	0	1	2	2	3	4	X		
38 дней . . . . .	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
48 дней . . . . .	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		

1, 2, 3, 4—степень цитопатогенности.  
 X—отпадение клеточного пласта.  
 0—отрицательные результаты.

Специфическое действие вируса на культуры тканей не обнаруживается после нахождения его в клещах в течение 38—48 дней.

2. Падение силы цитопатогенного действия вируса происходит скачками: через 7 дней сила цитопатогенного действия остается почти без изменения, через 15—20 дней она значительно ослабевает, через 28—32 дня снова усиливается и затем пропадает через 38—48 дней после нахождения его в клещах *O. lahorensis*.

Лаборатория вирусологии и протозоологии  
Армянского института животноводства  
и ветеринарии

Поступило 17.VIII 1963 г.

Հ. Կ. ԲՈՅԱԶՅԱՆ, Ս. Ռ. ՓՈՍՏՈՅԱՆ

ԴԱՐԱՂԻ ՎԻՐՈՒՄԻ ՊԱՀՊԱՆՈՒՄԸ *ORNITHODORUS LAHORENSIS* NEUM,  
1908, ՏՂԻ ՕՐԳԱՆԻԶՄՈՒՄ

Ա մ փ ո փ ո յ մ

Մինչև օրս ընդամենը մի քանի աշխատանքներ են նվիրված տզերի օրգանիզմում դաբաղի վիրուսի պահպանման տևողության ժամկետի և փոխանցման հարցին:

Մեր նպատակն է եղել պարզել դաբաղի վիրուսի պահպանման ժամկետները *O. lahorensis* տզի օրգանիզմում, տզերին արհեստականորեն վարակելուց հետո: *O. lahorensis* սեռահասուն տզերը, որոնք հավաքված են եղել դաբաղից ապահով տնտեսություններում, վարակել ենք դաբաղի վիրուսով և պարբերաբար հետադոտել վիրուսի առկայությունը տզերի օրգանիզմում: Դաբաղով վարակված տզերի հեմոլիմֆան ստուգել ենք հյուսվածքային կուլտուրաների միջոցով:

Մեր փորձերը հիմք են տալիս մեզ անելու հետևյալ եզրակացությունները.

1. Դաբաղի կուլտուրալ վիրուսի «O» տիպը ապրում է *O. lahorensis* տզերի մեջ 28—32 օր, պահպանելով ցիտոպաթոզեն հատկության ուժը սկզբնականին մոտիկ: Տզերի մեջ 38—48 օր մնալուց հետո վիրուսի սպեցիֆիկ ազդեցությունը հյուսվածքային կուլտուրաների վրա չի հայտնաբերվում:

2. Վիրուսի ցիտոպաթոզեն ուժի ազդեցության անկումը արհեստական վարակումից հետո տեղի է ունենում անհավասարաչափ, հյուսվածքային կուլտուրաների վարակումից 7 օր հետո ցիտոպաթոզեն ազդեցության ուժը մնում է անփոփոխ, 15—20 օր հետո այն նկատելիորեն թուլանում է, 28—32 օր հետո նորից ուժեղանում և ապա կորչում է 38—48 օր հետո:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Д е н и н Л. Журн. Сельское хозяйство за рубежом. Животноводство, 10, 1962.
2. Д ж у п и н а С. Журн. Ветеринария, 10, 1962.