

Page Denied

Next 27 Page(s) In Document Denied

УЧЕНИЕ О МЕХАНИЗМЕ ПЕРЕДАЧИ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ЗАРАЗНЫХ БОЛЕЗНЕЙ В ПРИМЕНЕНИИ К ВОЗБУДИТЕЛЯМ ВИРУСНОЙ ПРИРОДЫ

Л. В. ГРОМАНОВСКИЙ

(Киев)

Паразитические организмы различной природы используют в качестве среды своего обитания организм своего биологического хозяина (человек, животное, растение), к которому они адаптированы с высокой степенью совершенства. Эта историко-биологическая закономерность широко признана и является почти бесспорной в современной науке.

Однако одна только эта сторона дела не обеспечивает полностью условий для сохранения вида паразита в природе, так как фаза паразитирования паразита в индивидуальном организме биологического хозяина не может длиться вечно (ограниченная продолжительность жизни самого паразита, например, у гельминтов, выработка организмом хозяина специализирующего иммунитета при некоторых инфекционных болезнях, неминуемая смерть хозяина). Это разрешается наличием другой закономерности, присущей всем паразитическим явлениям в природе, которая может быть выражена в форме следующего биологического закона: всякий паразитический вид вследствие того, что паразитирование в индивидуальном организме хозяина возможно лишь на протяжении ограниченного срока, может существовать в природе при обязательном условии, что на протяжении срока паразитирования в индивидуальном организме осуществляется его перенос на новый организм, пригодный для роли хозяина. Такой перенос осуществляется посредством объективно существующего в природе процесса, получившего обозначение «механизм передачи» паразитического организма.

Учение о механизме передачи возбудителей заразных болезней наиболее широко разработано применительно к медицинской эпидемиологии; оно привлекло к себе некоторое внимание со сто-

репы представителей ветеринарной эпизоотологии (проф. Верещагин, С. Р. Дидович, Я. А. Голода и др.), но в равной степени может быть использовано в эпизоотологии при изучении волчков распространения заразных болезней растений, а также применительно к вопросам общей паразитологии.

Обобщая данные, накопленные эпизоотологией по вопросу о природе механизма передачи, которым распространяются возбудители заразных болезней, поражающих человека, показали, что при всем разнообразии этих механизмов, наблюдающихся при отдельных болезнях, все они могут быть подразделены на четыре типа, соответствующие основной локализации возбудителя в организме. При этом оказалось возможным осуществить естественную классификацию заразных болезней человека, распределив их на четыре группы в зависимости от характера возбудителя и соответствующей каждой из этих локализаций формы механизма передачи: а) кишечные инфекции с фекально-оральным механизмом передачи; б) инфекции дыхательных путей, передающиеся воздушно-капельным путем (чаще всего возбудители фебрильных заболеваний); в) кровяные инфекции, передающиеся кровососущими животными; г) инфекции, передающиеся фекально-оральным путем (среди них различают факторы передачи: фекально-капельный, фекально-оральный, фекально-воздушный).

Точкой зрения является то, что среди современных врачей наблюдается тенденция к распространению всех заразных болезней, обусловленная, прежде всего, развитием антибиотиков, что способствует их распространению, а также к применению антибиотиков при лечении заболеваний, вызванных простейшими, что способствует их распространению.

Обобщая данные, накопленные эпизоотологией по вопросу о природе механизма передачи, которым распространяются возбудители заразных болезней, поражающих человека, показали, что при всем разнообразии этих механизмов, наблюдающихся при отдельных болезнях, все они могут быть подразделены на четыре типа, соответствующие основной локализации возбудителя в организме. При этом оказалось возможным осуществить естественную классификацию заразных болезней человека, распределив их на четыре группы в зависимости от характера возбудителя и соответствующей каждой из этих локализаций формы механизма передачи: а) кишечные инфекции с фекально-оральным механизмом передачи; б) инфекции дыхательных путей, передающиеся воздушно-капельным путем (чаще всего возбудители фебрильных заболеваний); в) кровяные инфекции, передающиеся кровососущими животными; г) инфекции, передающиеся фекально-оральным путем (среди них различают факторы передачи: фекально-капельный, фекально-оральный, фекально-воздушный).

Вirusy, являющиеся внутриклеточными паразитами, по своей природе не могут обладать высокой устойчивостью, что во многих случаях является общепризнанным (например, эмпирически установлено отсутствие устойчивости к инфекциям при большинстве вирусных инфекций). Неудивительно, что из четырех наиболее важных групп инфекционных болезней, поражающих человека, большинство вирусных инфекций сосредоточено в группах инфекции дыхательных путей (быстрога и легкость осуществления капельного способа передачи, превосходящая в 300-1000 раз

механизму инфекции обеспечить бытования легкой и возбудители вызывают мез Групп здесь свои ине подти в ре будители (так наз отнесенн ко в пас возбудит простран инф джасте его при Након вается в механиз должны знения у так и де

ОСОБИ

Появи А2 явиле страны- в вать сре, различно В теч этнолони в ряде го; к пандем Харак волност ральной с 1961 г. Н

тологии (проф. Веревкин), но в равной степени при изучении патогенов, а также примени-

мости по вопросу распространения возбудителя человека, показало, что наблюдающаяся при отращивании в оркестре естественного человека, распределение их возможным локализованной из этих локализаций инфекции с фекально-оральным механизмом и кровяные инфекции (членики и др.) распространяющиеся (членики и др.) реже при возбудителях (болезни укуса) и современных паразитных болезнях. У идеальных случаев антропогенного происхождения процесса олемиа.

активизация, длительных измов, проявляется в устойчивости, а также характером, а также паразитическим, болезней, а также от совершенно неограниченности, то и соответствующую осуществление.

паразитами, по своей восточности, что во многих примерах, эмпирически инфекции при бо- что из четырех наз- поражающих чело- оточено в группах, осуществляемая в 300—1000 раз

механизм передачи кишечных инфекций) и в группе кровяных инфекций (механизм передачи с помощью живых переносчиков обеспечивает паразитическое состояние возбудителя и в фазе пребывания во «внешней среде»). Среди инфекций самой многочисленной из классификационных групп - инфекций наружных покровов - имеется несколько вирусных инфекций, но, очевидно, их возбудители используют наиболее интенсивно действующие варианты механизма передачи, свойственного этой группе инфекций.

Группа кишечных инфекций до недавнего времени представлялась свободной от инфекций с вирусной этиологией. Это положение подверглось некоторому испытанию в последние десятилетия в результате обнаружения группы инфекций, вирусные возбудители которых выделяются лабораторными методами из кала (так называемые «энтеровирусы», но полиомиелит и т. д.), а также отнесения к кишечным инфекциям инфекционного гепатита. Однако в настоящее время все меньше остается сомнений в том, что возбудители упомянутой группы «энтеровирусных» инфекций распространяются канальным механизмом, а потому в группу кишечных инфекций не должны включаться, а инфекционный гепатит и уж даже еще в большой работе для окончательного выяснения его природы.

Наконец, все те случаи, когда отдельным вирусам приписывается высокая устойчивость, а также те случаи, когда детали механизма передачи вирусных возбудителей точно не установлены, должны явиться предметом специального изучения как с точки зрения уточнения природы и биологических свойств возбудителей, так и деталей особенностей механизмов их передачи.

ОСОБЕННОСТИ РАСПРОСТРАНЕНИЯ ГРИППА В СССР (1958—1963 гг.)

М. К. ПИСТУНКО, Я. М. СЛАВИЧЕВ
(МОСКВА)

Появившийся в 1957 году новый вариант вируса гриппа типа А2 явился причиной возникновения пандемии, которая охватила страны всего мира. Этот новый вариант, продолжал циркулировать среди населения, в последующие годы вызывает эпидемии различной интенсивности.

В течение прошедшего периода в нашей стране вирус А2 был этиологической причиной эпидемий 1959 и 1962 годов, которые в ряде городов и республик по своей интенсивности приближались к пандемии 1957 г.

Характерной особенностью эпидемии 1962 года была ее двухволновость. Первая волна появилась в некоторых городах центральной части страны в последних числах апреля, начале мая 1961 г. Наступившее теплое время года прервало распростране-

IX
IV
2-
2-
X
1-

ние заболеваемости, значительный рост которой начал регистрироваться в конце декабря, и в январе перерос в значительную эпидемию, охватившую большую часть страны.

В этот же период в СССР наблюдались две эпидемии, вызванные вирусом В. Первая эпидемия в 1959 году следовала непосредственно за эпидемией А2.

В 1962 году в ряде городов наблюдалась аналогичная картина. На спаде эпидемии, вызванной вирусом А2, началась вторая эпидемический подъем, вызванный вирусом В. В некоторых городах эпидемия В развилась значительно позже - в ноябре-январе 1963 г.

Обращаясь к данным по выделению вируса гриппа в этот период, можно отметить, что, начиная с 1958 года, первого года после пандемии, доминирующим являлся вирус А2. Так, в 1958 г. 94,3% из числа выделенных вирусов были вируса типа А2 и лишь 1,6% - вирусы типа В; в 1959 году - 91,9% и 8,1% и в 1960 г. - 62,1% и 1,8%; в 1961 г. - 45,0% (вирус В не выделялся); в 1962 г. - 58,6% и 0,7% и в 1963 г. - 7,6% и 21,5% соответственно.

Таким образом, вирусологические исследования подтверждают, что доминирующим в эти годы являлся вирус А2. Начиная с 1962 года увеличивается удельный вес выделений вируса В. Это объясняется тем, что в 1962 г. и начале 1963 г. имела место эпидемия, связанная с этим типом вируса.

В зарубежных странах в период, прошедшей после пандемии, также наблюдались значительные эпидемии гриппа. Две из них были связаны с вирусом А2 (1961 г. и 1963 г.) и одна эпидемия была вызвана вирусом В (1962 г.).

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ПРИРОДНЫХ ОЧАГОВ БЕШЕНСТВА В РАЗЛИЧНЫХ ЛАНДШАФТНЫХ ЗОНАХ СССР

В. А. КАНТОРОВИЧ
(МОСКВА)

Несмотря на значительное число работ, посвященных проблеме бешенства, вопросы природной очаговости этого заболевания остаются мало изученными. В течение 1954—1964 гг. нами впервые было осуществлено сравнительное эпизоотологическое и эколого-вирусологическое исследование природных очагов рабической инфекции в ряде ландшафтных зон СССР (тундра, тайга, лесостепь, степь). В тундровой зоне изучена этиология, патогенез и эпизоотология «дикования» животных, что позволило характеризовать указанное заболевание как разновидность бешенства диких животных. Рабическая природа «дикования» подтверждена нами в последний период при обследовании единичных случаев за-

болевал
очагами
тогенез
преобла-
жение
ших же
са в ту
ках ла
инфекци
сжные
В т
процес
ральны
При ви
вотных
го воз
В т
района
лисни
болева
ные сл
Сов
ности
протяж
ние од
тически
колеба
тель в
75% в
депрес
кварта
Изу
полово
исследо
читель
особей.
Оси
первог
возраст
Взросл
между
провед
видов
инфекци
вергнут
шевидн
Наи
живаю

торой начал регистрироваться в значительных количествах. В некоторых случаях вызвал эпидемии, вызвал в аналогичной картине А2, начале второго В. В некоторых случаях позже в ноябре года, первого года вирус А2. Так, в 1958 году выявлено А2 в 91,9% и 8,1% и в вирусе В не выделялось в 70% и 21,6% соответственно. Данные подтверждаются вирусом А2. Наличие вируса В. Эпидемии имеют место в северных районах тундры после зимней оттепели. Две из них в 1964 году эпидемии

ИНЫХ ОЧАГОВ ЛАНДШАФТНЫХ

решения проблемы этого заболевания в 1964 г. нами впервое проведено экологическое и эпизоотическое обследование очагов рабической инфекции в тундре, тайге, степях, что позволило определить характерные черты бешенства дикой природы. Подтверждена на ряде случаев за-

болевание людей гидрофобией после контакта с «дикующими» животными. Основным резервуаром инфекции в северных природных очагах являются полярные песцы. «Диковайне» обладает рядом патогенетических особенностей (короткий инкубационный период, преобладание паралитических форм болезни, избирательное поражение двигательных ядер черепно-мозговых нервов у заболевших животных), определяющих характер эпизоотического процесса в ландшафтных очагах. Анализ эпизоотической ситуации на стыках ландшафтных зон не выявил распространения рабической инфекции из северных природных очагов в лесотундровые и таежные районы.

В таежной зоне динамика эпидемического и эпизоотического процесса, в основном, определяется заносом инфекции из центральных районов СССР, неблагоприятных по бешенству собак. При вирусологическом обследовании различных видов диких животных в лесной зоне не удалось выявить резервации рабического возбудителя.

В лесостепной и степной зонах, а также в ряде полупустынных районов СССР выявлены активные очаги бешенства среди диких лисиц и корсаков, обуславливающие значительные подъемы заболеваемости сельскохозяйственных животных, а также отдельные случаи гидрофобии людей.

Совместно с М. Н. Горбенко исследована динамика зараженности диких плотоядных в зонах тундры, лесостепи и степи на протяжении различных эпизоотических периодов, а также в течение одного сезона. Выявлена тесная взаимосвязь между эпизоотической ситуацией, показателями зараженности популяции и колебаниями численности диких животных. Рабически возбудитель выделяется из мозга забитых без клиники животных в 50-70% в годы высокой численности и в 5-19% случаев в период депрессии. Показатели зараженности были наибольшими в IV квартале года и значительно снижались в другие периоды.

Изучена зависимость уровня зараженности от возрастной и половой структуры популяции диких плотоядных. В течение всех исследованных периодов зараженность молодых животных значительно превышала частоту выделения вируса от взрослых особей.

Основную роль в рассеивании инфекции играют животные первого года жизни, удельный вес которых в популяции резко возрастает в годы увеличения численности и миграций животных. Взрослые особи обеспечивают сохранение возбудителя в период между эпизоотиями. В течение ряда эпизоотических периодов проведено массовое вирусологическое обследование различных видов мышевидных грызунов в эндемичных очагах рабической инфекции. Полученные отрицательные результаты позволяют отвергнуть гипотезы Эльтона и Питцшке о возможном участии мышевидных грызунов в резервации рабического возбудителя.

Наиболее напряженные очаги рабической инфекции обнаруживаются в районах, для которых характерны частые и резко вы-

раженные колебания численности диких плотоядных. Характерной особенностью дикого очага бешенства является быстрое рассевание инфекции между особями одного вида и медленное вовлечение в процесс других видов диких плотоядных. Обнаруженные эпизодические особенности природных очагов рабической инфекции создают возможность прогнозирования вспышек бешенства. Предвестником возможной эпизоотии следует считать значительное увеличение удельного веса молодых животных в общей численности популяции.

В комплексе мероприятий по борьбе с гидрофобией важное место занимает истребление диких носителей инфекции. Однако до настоящего времени отсутствует рациональная система проведения указанных работ. Для разработки соответствующих нормативов, а также в целях вирусологического контроля за ходом оздоровления территории необходимо проведение систематических зоолого-вирусологических наблюдений в наиболее стойких очагах «дикого» бешенства. Анализ экологических закономерностей бешенства в различных природных очагах должен быть теоретической основой для разработки эффективной программы мероприятий по сокращению природных резервуаров рабической инфекции на территории СССР.

НОЗОГЕОГРАФИЯ ИНФЕКЦИОННОГО ГЕПАТИТА (БОЛЕЗЬ БОТКИНА)

И. И. РИШЕТНИКОВ
МОСКВА

Инфекционный гепатит, или болезнь Боткина, занимает одно из ведущих мест в общей инфекционной патологии человека. Широкое и повсеместное распространение инфекционного гепатита рассматривается многими исследователями как пандемия. Первая пандемия была в 1915 - 1922 гг., охватившая все страны Европы и США. Второй пандемия (1939 - 1945 гг.) охватила все страны мира (В. М. Жданов, 1948). Начало третьей пандемии относится к 1950 - 1952 гг. (Мусабаев, 1961, Жуматов, 1963 и др.).

О. В. Бароян (1956, 1962), Я. Костьжевский, В. Магдзик (1959) и др., анализируя заболеваемость инфекционным гепатитом за послевоенный период (1945 - 1955 гг.), полагают, что она несколько снизилась, однако, обширный круг стран, вовлеченных в эпидемический процесс, сохраняется.

За последние 10 лет (1950 - 1961 гг.) в различных странах мира было зарегистрировано свыше двух миллионов случаев заболевания инфекционным гепатитом. Только в 1960 году в 100 странах было учтено 326.000 случаев заболеваний. Из этого числа 68% было зарегистрировано в 22 странах Европы и 17% в 16 странах Америки. Начиная с 1951 года наблюдается тенденция

роста частоты заболеваемости 20 раз. По данным (О. Е. Екимовым) гепатитом болеет 2,6 раза, на время втроеваемости:

3,5 раза и т. д. в различных странах

Карта различия заболеваемости гепатитом позволила показать, что заболеваемость гепатитом в третьем квартале 200-летним странам, умеренностью.

Сравнение развития с Примером: гепатитом которой с предельными эпидемическими 10 лет и с отнесены к Венгрии, Венгрии. По расчетам и показателями 1956 - 11,3 ственно: 33 национальн Карла Давид тех же пок 1952 - 113,6; 1957 - 87,6; отличаются

За последние 10 лет соком уровнем 31.000 случаев

ядных. Характерно
я быстрое рассеива
едленное вовлечени
бнаруженные эпизо
еской инфекции соз
ешенства. Предвест
ачительное увеличе
и численности допу

трофобластическую
инфекции. Однако
ная система прове
ете-вующих форм
троля и ходом оз
те систематическим
олее стойких оча
х закономерностей
жен быть теорети
граммы мер
в, рабической на

ГЕПАТИТА

а, занимает оди
ни человека. Ши
онного гепатита
пидемия. Пер
все страны Евро
вагита все стра
и пандемия опи
в, 1963 и др).
ин, В Магдзак
ционному гепати
лагают, что она
ав, вовлеченных
ных странах ви
в случаев забо
году в 100 стра
Из этого числа
ы и 17% в 16
ется тенденция

роста частоты крупных эпидемий гепатита. В 1950 по 1955 гг. заболеваемость инфекционным гепатитом в США увеличилась в 20 раз, Норвегии - 12 раз, Дании - 10 раз, Швеции - 8 раз и т.д. (О. В. Баронн, 1962). В 1961 году заболеваемость инфекционным гепатитом в сравнении с 1955 годом увеличилась: в Польше - 2,6 раза, Югославии - 3 раза, США - 2,3 раза, Канаде - 3 раза, на Филиппинах - 1,5 раза, в Италии - 1 раза. В то же время в ряде стран имеет место значительное снижение заболеваемости: в Финляндии - 1,5 раза, Норвегии - 5 раз, Дании - 3,5 раза и т.д. В Венгрии, Чехословакии, Греции, Испании и других странах - некоторая стабилизация.

Карта «Динамика заболеваемости инфекционным гепатитом в различных странах мира за 1950-1961 гг.» наглядно освещает заболеваемость за последние 12 лет. Заболеваемость на карте представлена в справочных показателях (на 100 000 населения), что позволило объединить страны в шесть групп в зависимости от заболеваемости инфекционным гепатитом с помощью ступенчатого показателя. К первой группе относятся страны, где пятилетний показатель не превышает 1 000 000; вторая группа - 10 000 000; третья группа - 10 50 000 000; четвертая - 50 200 000 000; пятая - 200 350 000 000; шестая - 350 000 000 000. В соответствии с этим страны мира расчленились на группы с высокой, средней и низкой умеренной степенью заболеваемости.

Сравнительный анализ заболеваемости гепатитом в различных странах мира необходимо проводить с учетом особенностей развития страны, ее уклада, организации здравоохранения и др. Примером могут служить сведения о заболеваемости инфекционным гепатитом, опубликованные в работе Mc Collum (1962), в которой страны по заболеваемости инфекционным гепатитом расчленились на четыре группы: предэпидемическая, вошедшие в эпидемическую среду, достигшие вершины точки, и вышедшие за 10 лет и с очень высокой заболеваемостью. По этой схеме США относятся к странам, вошедшим в эпидемическую среду. Чехословакия, Венгрия и др. - к странам с высокой степенью заболеваемости. По данным Mc Collum, заболеваемость в США на 100 000 населения характеризуется следующими показателями: 1952 - 11,2; 1953 - 21,3; 1954 - 31,3; 1955 - 19,5; 1956 - 11,5; 1957 - 8,8 и 1958 - 9,4. Для Чехословакии соответственно: 331, 315, 405, 366, 308, 179, 152. Однако, по сведениям национального центра статистики здравоохранения США (статья Карла Дауэра, 1961), заболеваемость гепатитом, выраженная в тех же показателях по годам, явно отличная, так: 1951 - 58,9; 1952 - 113,6; 1953 - 216,0; 1954 - 314,9; 1955 - 116 - 116,4; 1957 - 87,6; 1958 - 94,1 и 1959 - 133,6. Как видно, эти сведения отличаются друг от друга.

За последние 9 лет заболеваемость гепатитом остается на высоком уровне, так, в США ежегодно регистрируется в среднем 31.000 случаев; Польше - 46.000; Чехословакии - 35.000; Фин-

Явдлин - 1.000, Дании - 3.000, Югославии - 15.000, Болгарии - 13.000 и др.

Приведенные некоторые статистические сведения и карты д. намьки заболеваемости инфекционным гепатитом свидетельствуют о его широком географическом распространении.

Грипп-пандемия (1951-1961 гг.) охватила все страны мира, причем уровень заболеваемости инфекционным гепатитом был выше двух предыдущих.

НОСИТЕЛЬСТВО ЦИТОПАТОГЕННЫХ ВИРУСОВ СРЕДИ ЗДОРОВЫХ ДЕТЕЙ ГРУДНОГО ВОЗРАСТА

В. ВЛАСОВА
(СВЕРДЛОВСК)

За последние годы опубликованы отдельные сообщения о значительном распространении цитопатогенных вирусов среди здоровых детей. Из данных о двух авторов выделение цитопатогенных вирусов у детей грудного возраста колеблется в пределах 17-38% (Moscow et al., др., 1959; Илдулен и Каневи, 1960; Болрат, 1963; Каслаји, 1963 и др.). Другие исследователи отмечают более высокий процент вирусонегативности среди здоровых детей в возрасте до 3 лет - 90-95% (Henigst, 1959; Модестова и др., 1963).

Наименее освещен вопрос о циркуляции цитопатогенных агентов среди здоровых детей грудного возраста и особенно среди новорожденных. Из опубликованных материалов касаются новорожденных известны исследования Moscow et al. (1959, Италия), Henigst и др. (1961, США), Масленникова (1963, Ленинград), выделявших вирусы ЕСНО, в основном типы 7 и 15, Коксаки В-1 и аденовирусы. Вопрос о выделении на вирусную флору грудного ребенка режима вскармливания в литературе не освещен.

Задачей настоящего исследования явилось изучение вирусонегативности у новорожденных и детей грудного возраста. Проводилось вирусологическое обследование 69 здоровых детей, из которых 39 находились на естественном грудном вскармливании и 30 - получали с первых дней жизни прикорм.

Первое обследование детей в возрасте от 13 дней до 3 месяцев было проведено в марте 1963 года, повторное обследование этих же детей в возрасте 6-8 месяцев - в августе-сентябре 1963 года.

Цитопатогенные агенты выделялись на двух тканевых культурах: Нерв-2 и кожу мышечной ткани эмбриона человека. Для идентификации выделенных вирусов использовались вируснейтрализующие сыворотки к трем типам полиовируса, вирусам ЕСНО (Г-27 типов), Коксаки В (1-6) и А-9.

При первом обследовании установлена высокая циркуляция цитопатогенных агентов среди детей смого раннего возраста (до 10

3 мес
ванши
Де
возра
шнее
сине
льсь
ани, ч
78,5%
дней
Ци
обслед
ми ЕС
то выд
вскармли
жизни,
котор
корм,
таминг
вой ин
Пог
льсь в
жизни,
автор

РАС
1
МАССС

Анал
обследо
полном
и други
1956
В И
ных раз
диагноз
фекции,
ских все
Всего
большое
циркулю
В ра С

ни - 15.000. Болгарии
ние сведений и карта дис-
епатитом свидетельствуют
ащени.

затила все страны мира.
дионным гепатитом был

X ВИРУСОВ СРЕДИ ГО ВОЗРАСТА

льные сообщения о зна-
вирусов среди здоровых
ше ни. от детей (весь
2 - 38% (Moscow 1963;
7, 1963; Касаки, 1963;
е высокий процент ви-
з возраст до 3 лет
63)

а цитопатогенных аген-
а и особенно среди по-
алов, в связи с по-
оией и др. (1959, Ита-
чковой (1963, Ленин-
ном тины 7 и 15. Кок-
и на вирусную флору
итературе освещен
сь изучение вирусно-
ного возраста. Прово-
доровых детей, из ко-
ном вскармливании и
от 13 дней до 3 мес-
торное обследование
в августе - сентябре

твух тканевых куль-
эмбриона человека
снотьювались вирус
лиовируса, вирусом
9.
высокая циркуляция
раннего возраста (до

3 месяцев). Выделителями цпа оказалось 31,9% всех обследо-
ванных.

Дети, получавшие прикорм с первых дней жизни, выделяли в
возрасте до 3 месяцев цпа значительно чаще, чем дети, находив-
шиеся на естественном вскармливании (40% и 25,6% соответ-
ственно). При повторном обследовании эти соотношения измени-
лись и среди детей, находившихся на естественном вскармлива-
нии, число выделявших цпа оказалось значительно большим -
78,5% против 59% среди детей, получавших прикорм с первых
дней жизни.

Цитопатогенные агенты, выделенные от 22 детей при первом
обследовании в своем большинстве (13 из 22) оказались вируса-
ми ЕСНО серотипов 3, 7, 11, 17 и 22. Вирусы ЕСНО одинаково час-
то выделялись как в группе детей, находившихся на естественном
вскармливании, так и среди получавших прикорм с первых дней
жизни. В пяти случаях были выделены вирусы полиомиелита,
которые циркулировали только в группе детей, получавших при-
корм, что можно объяснить большими возможностями для кон-
таминации среди детей этой группы в период проведения массо-
вой иммунизации живой противополиомиелитной вакциной.

Повторное обследование показало, что носителями цпа оста-
лись все дети, выделявшие вирусы ЕСНО в первые три месяца
жизни. У детей, являвшихся носителями полиовирусов, цпа при
повторном обследовании обнаружены не были.

РАСПРОСТРАНЕНИЕ ЭНТЕРОВИРУСОВ НА УКРАИНЕ В 1960—1963 гг В ПЕРИОД ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ МАССОВОЙ ПРОТИВОПОЛИОМИЕЛИТНОЙ ВАКЦИНАЦИИ ЖВС

Н. Ф. ГОЛУБ
(КИЕВ)

Анализируются данные систематического вирусологического
обследования различных групп населения УССР, накопленные
полиомиелитной лабораторией Института инфекционных болезней
и другими вирусологическими лабораториями Республики за
1956—1963 гг.

В Институте инфекционных болезней обследовано 1130 боль-
ных различными формами полиомиелита, 1140 больных с другими
диагнозами, 616 больных детей из 18 очагов энтеровирусных ин-
фекций, возникавших в виде более или менее крупных эпидемиче-
ских вспышек в различных местностях Республики.

Всего было выделено 692 штамма вирусов полиомиелита,
большое число парополиомиелитных (Коксаки и ЕСНО) и пети-
пирующихся штаммов.

В работе будет показана связь выделяемых штаммов с забо-

ДО-
В
ИВ-
ЭТ-
ИВ-
ИВ-
--
ИХ
ОМ
а-
с-
м
И
Э,
Г-
Г-
-
э
Г

леваниями, распределение штаммов в зависимости от места вы-
деления. Будет дана групповая, типовая, а для штаммов вируса
полномиелига и генетическая характеристика по признакам Д и Т

предп
и в ч
Со
сняя
Было
и ком
ни на
длите
ты ви
на пр
коде
ных л
дотв
витар
Де
забол
та, од
новны
конъю
тия. Е
вяти
ва для
кровь
лин. В
ных и
вания
Вы
ем за
жами.
Вит
тел му
терный
из них
ской с
тирапро
роткам
сены к
отмеч
ангиге
Выд
из фека
Мы
уточнит
Азии.

К ВОПРОСУ ОБ ЭПИДЕМИОЛОГИИ И ЭТИОЛОГИИ КОНЪЮНКТИВИТОВ В ТУРКМЕНИИ

(Предварительное сообщение)

БЕЛЯЕВА Л., СУХОВА М. Н., ТЕТЕРОВСКАЯ Т. О., СТАРОДУБСКАЯ В.
(МОСКВА, ТАШКАНТ)

На протяжении ряда лет в Туркменской ССР наблюдаются
вспышки заболеваний, основным синдромом которых является
конъюнктивит (катаральный, фолликулярный), часто сочетающийся
с острым катаром дыхательных путей.

Заболевание чаще поражает детей, но нередко встречается и
среди взрослых.

Отмечены значительные сезонные летне-осенние подъемы забо-
леваемости.

До настоящего времени считалось, что данные заболевания
обуславливаются палочкой Кох Уикса, близкой по своим куль-
туральным, морфологическим и антигенным свойствам к палочке
инфилюэнцы (Золотарева 1952).

Зиминьим, Парадоксовым и Механиковой (1947) показано, что
базарные мухи являются переносчиками этой инфекции в Таджикистане.

Возможность трансмиссивного пути передачи инфекции по
средством мух данного вида была доказана авторами в опытах
самозаражения. Уничтожение базарных мух в различных городах
Туркмении способствовало снижению заболеваемости конъюнктивитами в 5--10 раз (Сухова М. Н. 1953, 1963 и др.). Этот облигатно-симбиотический вид является факультативным гематофагом. Имаго активно нападают на людей, подлизывают пот, отделяемые слизистых, кровь. Саждаясь на глаза больных, базарные мухи располагаются вокруг глазной щели, глубоко погружая хоботок в конъюнктивальный мешок. Насекомое забирается передней частью своего тела под нижние веки, причем снаружи виден только конец его брюшка.

Развитие личинок этих мух происходит в фекалиях человека.

Несомненно, что кроме трансмиссивного, имеются и другие пути передачи инфекции, обуславливающие ее распространение в течение круглого года.

Большое разнообразие симптоматиологии этих заболеваний в Средней Азии объединяемых под собирательным названием эпидемические конъюнктивиты, часто отрицательные бактериологические и бактериоскопические анализы без серологического подтверждения (серология еще не разработана), позволила нам

исности от места вы
для штаммов вирус
а по признакам Д и Г

И ЭТИОЛОГИИ (МЕНИИ

не)

СТАРДУБСКАЯ В

ССР не выделяю
м которых является
), часто сочетающий

редко встречается в

енные подъемы забо

аболе заболеваний
сой по своим куль
войствам к палочк

1947) показано, что
и инфекции в Тел

ачи инфекции по
вторами в опытах

различных городах
емости конъюнктив
др.). Этой облигат

ным гемагофагом
ют пог, отделяемос

азарные мухи рас
ружая хоботок в
я передней частью

виден только ко
екалиях человека.

ются и другие пу
распространение в

х заболеваний в
м названием эпи
де бактериологи

логического под
позволила нам

предположить наличие здесь и других этиологических факторов
и в частности аденовирусную природу заболеваний.

Соответственно мы предположили, что некоторые облигатно-
специфические виды мух могут быть переносчиками аденовирусов.
Было показано (Беляев, Сухова, Тетеревская, 1963), что базарные
и комнатные мухи в эксперименте после контакта с аденовируса-
ми на 3-4 недели становятся носителями вирусов и способны
длительно загрязнять аденовирусами продукты питания и предме-
ты внешней среды. Кроме того, в эпидемиологических опытах,
на протяжении ряда лет было показано совпадение сезонного
подъема заболеваемости конъюнктивитом с численностью базар-
ных мух в ряде городов Туркмении, а также возможность пре-
дотвращения сезонного подъема инфекции путем проведения са-
нитарно-гигиенических и противомушиных мероприятий.

Летом и осенью 1963 г. были изучены вспышки упомянутых
заболеваний в г. Ташаузе. Чаще болели дети дошкольного возраста,
однако были отмечены заболевания и среди взрослых. Основ-
ными симптомами были катаральный или фолликулярный
конъюнктивит, ринит, иногда фарингит и шейная лимфаденопа-
тия. В 6 детских дошкольных учреждениях от 49 больных были
взяты тампонами отделяемые конъюнктивы, слизи носа и зе-
ва для вирусологического исследования. Параллельно брали
кровь для серологического изучения парных сывороток и фека-
лии. В этих же очагах были отловлены непосредственно с боль-
ных и в их окружении базарные и комнатные мухи для обследо-
вания на наличие на поверхности и во внутренностях мух вирусов.

Выделение вирусов проводили на культуре HeLa с наблюдени-
ем за пробирками по 3-4 недели и последующими 1-2 пасса-
жами.

Вирусы, выделенные от больных (6 штаммов), из смывов с
тел мух и взвесей растертых мух (12 штаммов), давали харак-
терный для аденовирусов цитопатогенный эффект. Большинство
из них при титровании в РСК с гипериммунной сывороткой мор-
ской свинки были отнесены к аденовирусам. Часть штаммов при
титровании в реакции нейтрализации на культуре HeLa с сыво-
ротками к 3 и 7-а типам аденовирусов и с их смесью были отне-
сены к 3 типу аденовирусов. В большинстве парных сывороток
отмечено 2-4 х кратное нарастание титров к аденовирусному
антигену в РСК.

Выделение вирусов из материалов от больных (в том числе и
из фекалий) и их титрование продолжается.

Мы надеемся, что наши дальнейшие исследования помогут
уточнить этиологию и эпидемиологию конъюнктивитов в Средней
Азии.

ВИРУСОЛОГИЧЕСКОЕ ОБСЛЕДОВАНИЕ РОЖЕНИЦ, БОЛЬНЫХ И ПЕРЕБОЛЕВШИХ ЭПИДЕМИЧЕСКИМ ГЕПАТИТОМ

Н. Н. КРИВАЯ ≈ УШЕРЕНКО и Е. В. ЛЫЧКОВСКАЯ
(ОДЕССА)

УСТ

Болезнь Боткина (эпидемический гепатит) в современных условиях его широкого распространения является одной из частых причин желтух у беременных.

Беременность отягощает заболевание эпидемическим гепатитом, так как сочетание гепатита с токсокозом — фактор, представляющий серьезную опасность для здоровья женщины в связи с развитием патологического процесса в печени. Возможно также влияние беременности в отношении обострения хронических заболеваний печени после перенесенного эпидемического гепатита.

Дифференциальная диагностика вирусной этиологии желтух у беременных до последнего времени базировалась в основном на клинических наблюдениях и постановке биохимических проб, указывающих на нарушение функции печени.

В настоящее время имеется ряд сообщений отечественных и зарубежных исследователей о выделении вирусных агентов из крови и фекалий больных эпидемическим гепатитом. Получены положительные результаты в реакции связывания комплемента и нейтрализации выделенных агентов сыворотками крови людей, переболевших эпидемическим гепатитом.

Наши наблюдения о возможности применения культуры ткани для выделения и изучения вирусных агентов от больных эпидемическим гепатитом также свидетельствуют о перспективности указанного метода.

Вирусологическому обследованию подвергались роженицы, у которых детальные клинические, лабораторные и эпидемиологические наблюдения указывали на заболевание или перенесенный в прошлом эпидемический гепатит.

Материалом для вирусологических исследований у рожениц служили кровь, плацента, околоплодные воды, плод.

Материал исследовался путем заражения культуры ткани первичных клеток Детройт—6 и Л.

В результате проведенных исследований от рожениц, больных и переболевших эпидемическим гепатитом, удалось выделить вирусные агенты, пассируемые на культуре ткани.

Изучение специфичности выделенных культур вируса свидетельствует о их возможной этиологической связи с эпидемическим гепатитом.

Проведенные серологические исследования крови и выделений рожениц при помощи реакции связывания комплемента показали наличие антигена вируса у обследованных лиц.

Над матерями и детьми ведется длительное клинико-эпидемиологическое и лабораторное наблюдение.

Спец
та (ЭГ)численн
божом.За по
тому ге

ничного

са, Ю. А

дится от

Учите

других

ранений

вию тем

защиты и

В ка

тата, шт

на белых

При

подвергл

Особ

пература

часов, и

мени.

При

ное кипя

При с

аппарата

в течение

Полна

режиму:

а) тем

30 минут;

б) тем

минут;

в) тем

минут.

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ РОЖЕНИЦЫ И ЭПИДЕМИЧЕСКИМ

УСТОЙЧИВОСТЬ ВИРУСА СОБАЧЬЕГО ГЕПАТИТА К ВОЗДЕЙСТВИЮ ТЕМПЕРАТУРЫ.

ТЫЧКОВСКАЯ

Т. И. ИСТОМИНА И Л. И. МЫНДРА
(МОСКВА)

т) в современных ус-
ется одной из частых
идемическим гепати-
зом — фактор, пред-
вляя женщины в свя-
ечени. Возможно так-
ения хронических за-
емического гепатита.
й этиологии желтух
залась в основном на
амических проб, ука-
ий отечественных и
русских агентов из
патитом. Получены
ания комплемента и
камн крови людей.
ения культуры тка-
ов от больных эпи-
о перспективности
ались роженицы, у
те и эпидемиологи
или перенесенный
ований у рожениц
плод.
ультуры ткани пе-
роженниц, больных
лось выделить ви-
ур вируса свиде-
изи с эпидемичес-
рови и выделений
лемента показали
клинико-эпидемио-

Специфического вируса — возбудителя эпидемического гепати-
та (ЭГ) — до настоящего времени не выделено, несмотря на много-
численные работы в этом направлении как у нас, так и за ру-
бежом.

За последние годы все больше внимания уделяется сывороточ-
ному гепатиту, передаваемому парентеральным путем при раз-
личного рода лечебных манипуляциях. По данным Е. А. Пактори-
са, Ю. М. Рогозя и др., на этот путь распространения ЭГ прихо-
дится от 25,5% до 40—60% от общей заболеваемости.

Учитывая столь большую роль стерилизации шприцов, игл и
других хирургических инструментов в парентеральном распро-
странении ЭГ, мы решили изучить устойчивость вируса к воздей-
ствию температурного фактора: кипячению, сухо-жаровой стерили-
зации и автоклавированию.

В качестве модели мы пользовались вирусом собачьего гепа-
тита, штаммом «Рекс». Штамм «Рекс» поддерживали пассажами
на белых мышках.

При изучении устойчивости вируса к нагреванию испытанию
подвергли только первое разведение вирусосодержащей суспензии.

Особенно устойчив вирус к нагреванию на водяной бане. Тем-
пература 50°C не инактивировала вирус даже в течение полутора
часов, и только температура 60°C инактивировала его к этому вре-
мени.

При кипячении вирус погибает довольно быстро, 5≈ минут-
ное кипячение полностью инактивировало его в массе суспензии.

При обработке вирусосодержащего материала в сухожаровых
аппаратах инактивация вируса наступала при температуре 140°C
в течение 30 минут.

Полная инактивация происходила при автоклавировании по
режиму:

а) температура 110°C — 113°C, давление 0,5 ати, экспозиция
30 минут;

б) температура 120°—121°C; давление 1 ати; экспозиция 30
минут;

в) температура 125°—127°C; давление 1,5 ати; экспозиция 30
минут.

ВЫЖИВАЕМОСТЬ ВИРУСА КОКСАКИ В ВО ВНЕШНЕЙ СРЕДЕ И ЕГО УСТОЙЧИВОСТЬ К ДЕЗСРЕДСТВАМ

Е. К. СЕРЕБРЯКОВА
(МОСКВА)

Заболевания, вызываемые энтеровирусами, наблюдаются почти во всех странах света, но количество литературных данных о выживаемости этих вирусов во внешней среде и их устойчивости к воздействию дезинфицирующих агентов очень не велико.

В ЦНИИ изучалась выживаемость вируса Коксаки В₃ на искусственно инфицированных объектах и его устойчивость к воздействию высокой температуры и хлорамину.

В качестве объектов для заражения вирусом были взяты стеклянные поверхности, бязь, колодезная и дистиллированная вода. Инфицированные объекты сохраняли при комнатной температуре (20—22°C), относительной влажности (58—70%), на свету и в темноте и в холодильнике при 2+4°C.

На сроки выживаемости вируса имеют влияние условия хранения зараженных объектов (температура, освещение).

На стеклянных поверхностях вирус был обнаружен в сроки от 30 до 120 суток (в зависимости от условий хранения), на бязевых тестах 15—80 суток и в воде свыше 200 суток.

При нагревании до 50°C вирус был жизнеспособен свыше 60 минут; при 55°C — до 45 минут; при 60°C — 30 минут; при 65°C — 15 минут и при 70°C — 5 минут.

В суспензиях вирус не погиб при воздействии 0,5% раствора хлорамина в течение 3 часов и 1% раствора — 2½ часа. 3% растворы хлорамина вызвали гибель вируса после 1-часовых экспозиций.

Изучена также устойчивость вируса на инфицированных матерчатых тестах к воздействию растворов хлорамина.

ДИАГНОСТИКА РАСПИРАТОРНЫХ ВИРУСНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПО СЕРОБАНКУ

Э. И. СЧАСТНЫЙ И В. В. РИТОВА
(МОСКВА)

Установление закономерностей циркуляции аденовирусов, парагриппозных и респираторно-интеральных вирусов до их открытия в вирусологии, представляет большой интерес. При длительном серологическом обследовании детей раннего возраста в период с 1948 по 1956 гг было установлено, что при ряде острых респираторных заболеваний не удавалось поставить лабораторно-вирусологический диагноз гриппа. В эпидемическое по гриппу время до 50% всех клинических форм «гриппа» не подтвержда-

лось лабо
острых за
ия услови
сенной
Все со
ротки от
сохраняли
В 1963
ных сыво;
дилось по
гемагглют
ванным в
Для се
сорбция и
Изуче
вали аде
Из респи
тание ант
саки А2, А
Подоби
ной нам л
Провед
торий пре
что новые
парагорнь
не были с
невых кул
личество
логию заб
сов позво
логию ряд

КОМПЛИ
Р

Работа
рагриппоз
гическими
тики, люми
В лите
личных по
ряду други
Компле
использова
иммунохим
2-1455

**ВО ВНЕШНЕЙ
СРЕДСТВАМ**

лось лабораторно, а в межэпидемическое по гриппу время до 80% острых заболеваний оставались не расшифрованными в то время условно назывались острыми контагиозными катарамми с невыясненной этиологией.

Все собранные нами серонегативные по гриппу парные сыворотки от переболевших детей подвергались вакуумной сушке и сохранялись в холодильнике при +4°C.

В 1963-1964 гг. мы провели серологическое изучение 240 парных сывороток, собранных с 1948 по 1956 годы. Изучение проводилось по реакции связывания комплемента и реакции задержки гемагглютинации микрометодом, разработанным и модифицированным в нашей лаборатории.

Для серотипажа проводились реакция нейтрализации и гемагглютинация на культурах ткани почки обезьян. HeLa, Coe и LL.

Изучение показало, что уже в 1948 г. среди детей циркулировали аденовирусы типа 1, 2, 3, 6 и 7, парагриппозные типа 1, 2. Из респираторно-энтеральных вирусов нередко отмечалось нарастание антител к вирусам Рео 1 и 3 типов, ЭКХО 6,28 и 20 и Коксаки А2, А21 и В5.

Подобных наблюдений и исследований по имеющейся доступной нам литературе мы не нашли.

Проведенные наблюдения, как нам кажется, заполняют некоторый пробел по сероэпидемиологии прошлых лет и показывают, что новые вирусы не появились как этиологические факторы респираторных заболеваний, а давно циркулировали в природе, но их были открыты до разработки новых методов. Применение тканевых культур позволило в короткий срок выделить большое количество ранее неизвестных вирусов и установить их роль в этиологии заболеваний человека и животных. Антигены этих вирусов позволяют установить по серобанку парных сывороток этиологию ряда заболеваний прошлых лет.

**КОМПЛЕКСНЫЙ МЕТОД ДИАГНОСТИКИ СМЕШАННЫХ
РЕСПИРАТОРНЫХ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ**

В. В. РИТОВА, Ф. П. ЕРШОВ
(МОСКВА)

Работа посвящена изучению смешанной аденовирусной и парагриппозной инфекции. Наряду с серологическими и вирусологическими методами мы применяли, как ранний метод диагностики, люминесцентно-микроскопическое исследование.

В литературе нет указаний об ассоциации двух вирусов, отличных по типу входящих в их состав нуклеиновой кислоты и ряду других свойств.

Комплексный метод диагностики респираторных инфекций с использованием высокочувствительных и специфических цито- и иммунохимических методов в сочетании с вирусологическим

2 1455

17

наблюдаются почти
турных данных о
их устойчивости
не велико.

Коксаки В₃ на
стойчивость к воз-

были взяты стек-
пированная вода.
тностью температуре
) на свету и в

ние условия хра-
ржен в сроки от
нения), на бязе

особен свыше 60
т: при 65°C - 15

0,5% раствора
3 часа. 3% раст-
часовых экспо-

пированных ма-
та.

РУСНЫХ

еновирусов, на-
з до их откры-

При длитель-
зраста в пери-
де острых рес-
лабораторно-
ое по гриппу
е подтвержда-

серологическим анализами представляется в этом случае весьма перспективным. Так данные люминесцентной микроскопии подтверждены выделением четырех штаммов аденовируса и трех штаммов гемадсорбирующих ИА1. От двух больных выделены аденовирусы и гемадсорбирующие вирусы, что достоверно указывает на смешанную инфекцию.

Вирусологические данные подтверждены серологическими исследованиями по нарастанию титра антител в 4-8 раз к выделенным вирусам. Изученные случаи имели выраженную клинику с острым началом болезни, катаром дыхательных путей, изменением со стороны сердечно-сосудистой и нервной систем. Воспалительный процесс в легких проявлялся поражением альвеолярной и интерстициальной ткани и хорошо определялся рентгенологическими исследованиями.

В настоящей работе показано, что первоначальные результаты, полученные с помощью методов люминесцентной микроскопии четко согласуются с данными последующей вирусологической диагностики.

Особый интерес представляют изученные нами случаи смешанной аденовирусно-парагриппозной инфекции, когда о наличии в исследуемом материале двух различных вирусов можно было предположить после окраски акридин-оранжем, что удалось подтвердить и первоначально идентифицировать с помощью метода флуоресцирующих антител и окончательно установить позже после постановки РЗГА, РСК и реакции нейтрализации с выделенными штаммами вирусов.

Таким образом, сочетание вирусологических и серологических методов диагностики с применением люминесцентной микроскопии позволяет в ранние сроки ставить раздельную диагностику вирусных инфекций. При использовании флюорохрома акридин-оранжа удается установить характер поражения клетки и изменение плотности и распределение нуклеиновых кислот. А метод флуоресцирующих антител позволяет выявить локализацию специфического вирусного антигена и произвести предварительную быструю диагностику заболевания.

ВЫЯВЛЕНИЕ КРИТЕРИЯ АВИДИТЕТА И ЕГО ЗНАЧЕНИЯ У ШТАММОВ ВИРУСА АЗИАТСКОГО ГРИППА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ИХ АНТИГЕННОЙ СТРУКТУРЫ В РТГА

С. С. ГАЛИТАРОВ
(СВЕРДЛОВСК)

Экспериментальное изучение вируса азиатского гриппа в реакции торможения гемагглютинации показало наличие существенных штаммовых различий выявляемых при взаимодействии вируса с сывороточными ингибиторами, антителами и эритроцитами. Эти

разли
неаде
струк
ся сте
В
польз
шения
ность
медле
и ку
В
ные в
антис
устра
стан
свор
О гру
Ра
РТГА,
ражен
нами
мов. А
быстр
ный к
анти
вече
итра
ифик
руса.
Ве
штамм
к титр
едини
имает
Дав
нимо в
Как
трипа
штамм
ределе
руса в
35 пок
Достов
степень
тельны.
Варден
значени
ным пр
ного ин
2

в этом случае весьма
ой микроскопии под-
аденовируса и трех
больших выделены аде-
достоверно указывает

серологическими ис-
в 4-8 раз к выделен-
раженную клинику с
ных путей, изменени-
ой систем. Воспален-
женнем альвеолярной
делался рентгенологи-

начальные результа-
центной микроско-
ей вирусологической

нами случаев смешан-
когда о наличии в
русов можно было
ем, что удалось под-
с помощью метода
тановить позже пос-
лизации с выделен-

их и серологических
центной микроско-
ь раздельную диаг-
нии флюорохрома
поражения клетки
синовых кислот. А
ыявить локализа-
онизвести предвари-

ЕГО ЗНАЧЕНИЯ РИППА ДЛЯ КТУРЫ В РТГА

ого гриппа в ре-
личие существен-
одействии вируса
ритроцитами. Эти

различия свойств у штаммов вируса группа А2 создают известную
неадекватность условий при изучении в РТГА их антигенной
структуры в одном опыте. В этом отношении особенно сказывается
степень avidности исследуемых штаммов.

В РТГА при 1-2 часовом контакте вируса с сывороткой и ис-
пользовании куриных эритроцитов не происходит полного завер-
шения серологической реакции у невидных (в противополож-
ность авидным) штаммов вируса гриппа типа А2, так как первые
медленнее реагируют с антителами и более активно адсорбируют-
ся куриными эритроцитами из комплекса вирус-антитело.

В силу этого невидные штаммы вируса гриппа А2, идентич-
ные в антигенном отношении авидным, нейтрализуются в РТГА
антисыворотками в меньших титрах, чем авидные штаммы. Для
устранения этого явления предложена модификация метода по-
становки РТГА, предусматривающая 18-часовой контакт вируса с
сывороткой при 4°C и использование человеческих эритроцитов
(О группы) (А. А. Смородицев и Г. П. Александрова).

Различия в титрах нейтрализации вируса антисывороткой в
РТГА, поставленной по обычной и модифицированной схемам, вы-
раженные отношением обратных величин титров, использованы
нами для определения показателя avidности исследуемых штам-
мов. Мы исходили при этом из того, что для авидных штаммов,
быстро вступающих в реакцию с антителами и образующих проч-
ный комплекс вирус-антитело, увеличение срока взаимодействия
с антисывороткой до 18 часов с заменой куриных эритроцитов че-
ловеческими О группы мало или совсем не влияет на повышение
титра нейтрализации. Для невидных же штаммов подобная мо-
дификация РТГА значительно повышает титр нейтрализации ви-
руса.

Величина отношения гетерологического титра нейтрализации
штамма антисывороткой в РТГА, поставленной по обычной схеме,
к титру сыворотки в модифицированной РТГА будет тем ближе к
единице, чем авиднее исследуемый штамм. Эту величину мы при-
нимаем за показатель степени avidности штамма.

Для получения статистически достоверного показателя необхо-
димо исследовать вирус с большим числом сывороток.

Каждый из 36 изучавшихся нами штаммов вируса азиатского
типа исследован по обеим схемам РТГА с 35 гетерологическими
штаммоспецифическими сыворотками. По каждой сыворотке оп-
ределены отношения обратных величин титров нейтрализации ви-
руса в РТГА. Для каждого штамма строился «ряд отношений» из
35 показателей, за среднюю величину принималась медиана ряда.
Достоверность значения медиан и их различий, характеризующих
степень avidности штаммов, определялась с помощью довери-
тельных интервалов (из таблицы, рассчитанной по методу Ван дер
Вардена), с 95% степенью вероятности ограничивающих истинное
значение медиан. Различия величин медиан считалось достовер-
ным при большей величине значения нижней границы доверитель-
ного интервала большей медианы по сравнению со значением

верхней границы доверительного интервала меньшей медианы. Исследованием 35 штаммов вируса азиатского гриппа (31 ингибиторочувствительного и 5 ингибиторорезистентных) при помощи описанного метода определения критерия avidности удалось разделить их на avidные, неavidные и занимающие промежуточное положение между крайними проявлениями степени avidности.

Подтверждены имеющиеся наблюдения о раздельности признаков avidности и ингибиторочувствительности у вируса гриппа.

Показана неоднородность результатов изучения антигенной структуры одних и тех же штаммов вируса азиатского гриппа при параллельном исследовании их в РТГА по обеим схемам в случаях введения в опыт штаммов с равной степенью avidности.

Изучение в РТГА антигенной структуры штаммов вируса азиатского гриппа с различной степенью avidности необходимо проводить в модифицированной постановке реакции.

О ЗНАЧЕНИИ ПАРАГРИППОЗНЫХ ВИРУСОВ В ЭТИОЛОГИИ ОСТРЫХ РЕСПИРАТОРНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

А. С. ДЮМЕРЖЕ, М. Г. ГАЛДУЖКА, Г. И. ИМОРЦАНКО

(ХАРЬКОВ)

Исследования по определению роли парагриппозных вирусов в этиологии респираторных заболеваний были нами проведены с целью изучения титров сывороток больных с респираторным синдромом, как взрослых, так и детей, в период с апреля по сентябрь 1957 года. Результаты исследования содержания антител в сыворотках больных обнаружены и в сыворотках доноров.

В результате изучения сывороток здоровых людей (доноров) в реакции задержки геммагглютинации было установлено значительное распространение инфекции парагриппозными вирусами среди населения. Так, при исследовании 140 сывороток антигеммагглютинины к парагриппозному вирусу 3 типа были обнаружены в 126 сыворотках (90%), преимущественно в титре 1:160 и выше. Антитела к 1 типу вируса обнаружены в 85 сыворотках (60,7%) и по 2 типу — в 69 сыворотках (49,9%).

Комплексообразующие антитела были обнаружены в 13—15% исследованных сывороток в невысоком титре — 1:20—1:40.

Содержание антигеммагглютининов к парагриппозным вирусам в сыворотке плазменгарном гаммаглобулине определяли в 23 сериях этого препарата. Как и в сыворотках здоровых людей, содержание антител в гаммаглобулине к парагриппозному вирусу 3 типа было самым высоким — от 1:640 до 1:2560. Титры антител к вирусу

1 ти
е на
не -
рия
вы -
не
бул
инт
эти
был
инт
тен
м
до
х и
инф
охв
забо
Тех
Н.
вскр
ва
тел
ва
под
тел
док
жит
ного
сп
ной
Нес
жит
пл
ном
I
вес
забо

меньшей медианы тского гриппа (31 ислентных) при по ия авидности уда имающие пролежу иями степени авид

здельности призна у вируса гриппа. чения антигенной атского гриппа при ем схемам в слу дью авидности. аммов вируса ази и необходимо про-

ВИРУСОВ ЗАБОЛЕВАНИИ

ЧАГОРЬ ИКО

ипнозных вирусов нами проведение спираторным син реля по сентябрь итител в коревом

людей (доноров) ановлено значи ными вирусами ронок антигемаг- ыли обнаружены с 1 : 160 и выше. отках (60,7%) и

аружены в 13 - е -- 1 : 20 -- 1 : 40. позмим вирусам яли в 23 сериях людей, содержа у вирусу 3 типа итител к вирусу

1 типа были ниже, в пределах от 1 : 80 до 1 : 320. Уровень антител к парагриппозному вирусу 2 типа находился в широком диапазоне от 1 : 40 до 1 : 1280, причем антитела содержались в 17 сериях гаммаглобулина из 23-х. К 1 и 3 типам антитела обнаружены во всех изученных сериях гаммаглобулина. Высокое содержание антител против парагриппозных вирусов в коревом гаммаглобулине позволяет рекомендовать этот препарат для лечения пневмоний парагриппозной этиологии у детей раннего возраста.

Для серологических исследований, проведенных при изучении этиологии острых респираторных заболеваний взрослых и детей, было использовано 153 образца парных сывороток. Прирост антител к парагриппозным вирусам в 4 и более раз был установлен в 64 сыворотках, что составляет 41,8%. Из них к парагриппозному вирусу 1 типа, положительных сывороток было 20 (31,2%), к 2 типу -- 15 (23,3%) и к 3 типу -- 15 (23,3%). Одновременно к двум или трем типам вируса -- 14 (21,8%).

Значение парагриппозных вирусов при групповых заболеваниях у детей было изучено нами во время вспышки респираторных инфекций в одном из родильных домов в Луганска. Вспышка охватила 36 детей из 46, находившихся в стационаре. Признаки заболеваний: повышение температуры, заложенность носа, кашель. Температурная реакция различной интенсивности от 38,0 до 40. Из заболевших тяжело больных было -- 8, 2 ребенка умерли. На вскрытии была установлена геморрагическая пневмония.

Для вирусологического исследования были взяты слизь из зева и носа и содержимое прямой кишки. Исследовались также легкие трупа ребенка М. на наличие вирусного антигена в реакции связывания комплемента с типовыми гриппозными сыворотками А и В, аденовирусной и парагриппозными трех типов.

Заражение культуры ткани (кожномышечной ткани эмбриона человека) вызвало слабо выраженный цитопатогенный эффект, повторявшийся в пассажах. Реакция гемадсорбции была положительной и нейтрализовалась сывороткой против парагриппозного вируса 3 типа. Реакция связывания комплемента с суспензией легкого трупа дала положительный результат с парагриппозной сывороткой против 3 типа вируса и отрицательный с гриппозной сывороткой, аденовирусной и парагриппозными 1 и 2 типов. Исследование фекалий на вирусы ЭХО и Коксаки не дало положительных результатов.

Таким образом, показана пригодность реакции связывания комплемента для обнаружения парагриппозного антигена в трупном материале.

Проведенные исследования подтверждают большой удельный вес парагриппозной инфекции в этиологии острых респираторных заболеваний.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ДАННЫЕ К УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЮ МЕТОДА ПОЛУЧЕНИЯ ОЧИЩЕННЫХ И КОНЦЕНТРИРОВАННЫХ ПАРАГРИППОЗНЫХ АНТИГЕНОВ

И. А. ЯХНО
(МОСКВА)

Применение метода демаскировки, очистки и концентрации с помощью адсорбции на формализированные эритроциты морской свинки и элюции с них в гипертонический раствор NaCl скрытых геммаглобулинов парагриппозных вирусов 1, 2 и 3 типов открыло широкие возможности получения необходимых для практики стабильных, концентрированных геммаглобинирующих антигенов.

В настоящем сообщении излагаются данные по усовершенствованию метода получения концентрированных парагриппозных антигенов.

Первоначально демаскировка геммаглобулинов проводилась только при культивировании парагриппозных вирусов на первично трипситивированных линиях обезьян. Проведенные исследования показали, что перевиваемые линии клеток также пригодны для этих целей. Причем перевиваемые линии клеток СОЦ, HeLa, KB, амниотическую клетку человека (штамм А-1) и другие чувствительны только к вирусам парагриппа 2 и 3 типов, в то время как перевиваемые клетки почек обезьян и почек морской свинки чувствительны ко всем 4 типам парагриппозных вирусов. При этом перевиваемая линия почек морской свинки является более чувствительной, чем перевиваемая линия почек обезьян. Для изготовления антигена линия перевиваемой почки морской свинки может культивироваться на средах как с бычьим, так и с человеческой сыворотками.

В опытах с эталонными сыворотками и при исследовании сывороток переболевших в РЗГА установлено, что очищенные концентрированные парагриппозные антигены, полученные с перевиваемых линий, не уступают по качеству парагриппозным антигенам, полученным с дермичными культурами тканей почек обезьян и почек морских свинок. Кроме того, установлено, что вид ткани не влияет на специфичность антигена и его качество.

Парагриппозный вирус 4 типа хорошо размножается на перевиваемых линиях почек обезьян и почек морской свинки. Титр вируса в этих клеточных культурах составляет от 10^3 до 10^5 ТЦД₅₀/мл, однако свободные геммаглобулины не обнаруживаются в тканевой среде. Попытки демаскировать и сконцентрировать геммаглобулины парагриппозного вируса 4 типа с помощью стандартного метода адсорбции на формализированные эритроциты морской свинки и элюции в гипертонический раствор NaCl не дали положительных результатов, что свидетельствует о его своеобразии.

При
было ус
можно
при это
меньше
ниях, пр
Изу
с форм
осевооб
повтор
позвол

ИЗУ

Пре
на нах
лов М.
Для
ряд за
получи
во авто
+4°
В п
ровани
защит
перату
лены з
сред д
В з
кость
и типа
сред п
лешны
мни
глюкин
Пер
2 мл в
розиль
часов,
ных аг
подогр
сов.
Уст
5% пе

ител
лазо-
17 се-
руже-
ержа-
агло-
челны
ста.
чени
детей,
т ан-
анов-
иноз-
20%),
ленно
лева-
рих
ядка
деки
цель.
40).
На
з зс-
ажке
а в
ыво-
а
иона
рект,
юло-
поз-
нзи-
поз-
поз-
юло-
ком-
руп-
ный
ных

БЕ ОЛУЧЕНИЯ ННЫХ В

При исследовании условий очистки и концентрации вируса было установлено, что помимо 5% раствора NaCl для элюции можно успешно применять 3 и 2% растворы NaCl. Полученные при этом антигены сохраняют свойственную им стабильность и в меньшей степени подвержены осмотическому шоку при разведениях, применяемых в ходе работы.

Изучение механизма освобождения парагриппозных вирусов с формализированных эритроцитов показало, что для полного освобождения эритроцитов от вируса необходима многократная повторность элюатов. Разработаны оптимальные условия элюции, позволяющие ограничить число элюатов до трех.

ИЗУЧЕНИЕ СТАБИЛЬНОСТИ ЛИОФИЛИЗИРОВАННОГО ВИРУСА ГРИППА

Б. М. ПАРИЖ, Р. Л. БЯЛИК, Л. А. ПОРУБЕЛЬ
(МОСКВА)

Процессы стабилизации биологических свойств вируса гриппа находят отражения в многочисленных исследованиях (Соколов М. И., Яковлева Л. С., Аннер М. и др.).

Для повышения устойчивости вируса при хранении предложен ряд защитных сред, причем, наиболее широкое распространение получил желточно-сахарозный стабилизатор. Однако большинство авторов изучало выживаемость вируса только при температуре $+4^{\circ}$ $+8^{\circ}\text{C}$.

В предыдущих работах нами было показано, что лиофилизированный вирус гриппа при использовании желточно-сахарозной защитной среды не обладал достаточной стабильностью при температуре $+22^{\circ}$, $+37^{\circ}$, $+60^{\circ}\text{C}$. В настоящем сообщении представлены экспериментальные данные по изысканию новых защитных сред для лиофилизации вируса гриппа.

В опытах использовалась инфицированная аллантоисная жидкость вируса гриппа типа А2 штаммов 101 (Краснодар, 1959 год) и типа «В» штамм Лих (Москва, 1959 год). В качестве защитных сред применялся нативный, ферментативно и кислотно расщепленный белок, (желток, желатина, гидролизаты казеина и альбумина и пептон), глютомат натрия и углеводы (сахароза, полиглюкин).

Перед замораживанием все опытные варианты разливались по 2 мл. в 6 мл. ампулы. Замораживание проводилось в воздушно-морозильной камере при температуре -45° -50°C в течение 18—24 часов. Высушивание осуществлялось в камерных вакуум-сушильных аппаратах модели Л—200 г-д при вакууме 50—100 микрон и подогреве 30°C . Продолжительность сушки не превышала 27 часов.

Установлен отчетливо выраженный стабилизирующий эффект 5% пептона как защитной среды при воздействии температуры

+ 22, + 37, + 60°C. В параллельных пробах инфекционные титры пептонового варианта лиофилизированного вируса гриппа были почти в 100 раз выше, чем при использовании других защитных сред.

Выявлено стабилизирующее действие пептона на гемагглютинирующие и ферментативные свойства вируса гриппа. Препараты вируса гриппа типов А2 и В, высушенные с 5% пептоном, выдерживали кипячение при 100°C в течение 6 часов и автоклавирование в течение 15 минут без снижения гемагглютинирующей ферментативной активности.

Обнаружено уменьшение скорости элиции пептоновых вариантов вируса гриппа. Особенно отчетливо это выражено в первые 30 минут элиции при 37°C.

Пептоновый вариант живой гриппозной вакцины обладал высокой реактогенностью, давал 100% приживаемости вируса и высокий иммунологический ответ при испытании на добровольцах.

ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ НЕКОТОРЫХ МИКСОВИРУСОВ В СВЯЗИ С ИХ ВИРУЛЕНТНОСТЬЮ

И. И. КОЛТУРИНА
(МОСКВА)

Вопрос о биологических свойствах вирусов, связанных с их вирулентностью, особенно по отношению к человеку, недостаточно изучен и представляет теоретический и практический интерес.

В литературе имеются указания на связь вирулентности вирусов с температурой, при которой происходит их размножение. Показано, например, что полновирусы размножаются при высокой для них оптимальной температуре являются, в основном, вирулентными штаммами, а штаммы, имеющие низкую оптимальную температуру размножения, менее вирулентными (Львов и Львов, 1960). Однако большинство исследователей сопоставляли различные свойства вирусов с их вирулентностью для животных, куриных эмбрионов, но не для человека.

Мы изучали оптимальную температуру размножения и некоторые другие свойства аттенуированных (вакцинных) и патогенных штаммов вирусов гриппа, эпидемического паротита и кори.

При изучении оптимальной температуры размножения выявлена общая закономерность для указанных штаммов из группы миксовирусов. Оптимальная температура размножения вакцинных штаммов вирусов гриппа, паротита и кори была ниже оптимальной температуры для патогенных штаммов.

На примере вируса гриппа типа А2 показано, что адаптация к пониженной температуре приводит к утрате способности вызывать заболевание гриппом у людей. Вакцинные штаммы вируса гриппа А2 с оптимальной температурой размножения 32° обладают способностью приживаться на слизистых оболочках верхних

дыхательной
крови. Адап-
пературе,
ных, но и
Температу-
ра вируса
на А2, вы-
Более выс-
паратита и
Некого
тивирован-
ных эмбри-
дее низко-
другие шт-
частные с
обходима
Таким
русов грип-
температу-
личающим
Привод
штаммов с

ПОВЫШ

с м

Двукра-
вер в дози
физиологи-
15 минут)
ного проце-
са и 9-кра-
интервалам
логическог
Измене-
кратно ма-
логическог
венно от и
руса без ф
тина в лег-
ройств, ре-
хиального
холпневмони

инфекционные титры
вируса гриппа были
и других защитных

она на геммаглобулин
а гриппа. Препараты
с 5% неаэрозольных
и автоклавированной
глютинационной.

неаэрозольных вариан
и в первые

ины обладали вы
сти вируса и высе
а добровольцах.

НЕКОТОРЫХ ИДЕНТИЧНОСТЬЮ

взаимных с их ви
ху, недостаточн
ский интерес
и вирулентности в
их размножение
ющиеся при вы
еся, в основном,
изкую оптималь
ными (Дьбов и
ей сопоставляли
для животных

жения и некото
ых) и патоген
ротита и кори.
ноженная выяв
ионов из группы
иона вакцинных
ниже оптималь-

что адаптация
способности вызы
штаммы вируса
ия 32° облада
очках верхних

дыхательных путей человека и вызывать нарастание антител в крови. Адаптация штаммов вируса гриппа А2 к более низкой температуре, чем 32° приводит к утрате вирусом не только патогенных, но и иммуногенных свойств.

Температура 32° являлась оптимальной для вакцинного штамма вируса паротита. Так же как вакцинные штаммы вируса гриппа А2, вакцинный штамм вируса паротита размножался при 25°. Более высокий инфекционный титр вирулентного штамма вируса паротита получен при культивировании при температуре 37--40°.

Некоторые штаммы вируса гриппа, кори и паротита при культивировании при температуре 36° в культуре ткани или в куриных эмбрионах приобретают способность размножаться при более низкой температуре и утрачивают вирулентность. Однако, другие штаммы этих вирусов более стойко сохраняют первоначальные свойства и для получения аттенуированных штаммов необходима специальная адаптация к пониженной температуре.

Таким образом, способность аттенуированных штаммов вирусов гриппа, паротита и кори размножаться при более низких температурах может служить дифференциальным признаком отличающим их от вирулентных штаммов (маркер Т).

Приводятся данные о связи температурной характеристики штаммов с другими генетическими признаками.

ПОВЫШЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ МЫШЕЙ К МАЛЫМ ДОЗАМ ВИРУСА ГРИППА

С. М. БЕЛОЦКИЙ, И. С. ЛЕВЕНЬБУК, А. Е. ЧИГИРИНСКИЙ,
И. Т. КРАВЧЕНКО
(МОСКВА)

Двукратное интраназальное введение вируса гриппа А Шклявер в дозах 10^5 — 10^6 LD₅₀ с последующим 8-кратным введением физиологического раствора (интервалы 24, 12, 6, 3, 1 час, 30 и 15 минут) влечет за собой развитие специфического инфекционного процесса. Это имеет место при однократном введении вируса и 9-кратном введении физиологического раствора с теми же интервалами, а также при 2-кратном введении вируса без физиологического раствора с интервалом в 30 минут.

Изменения в легких мышей, зараженных 2-кратно или однократно малыми дозами вируса с последующим введением физиологического раствора, не отличаются качественно и количественно от изменений при однократном введении больших доз вируса без физиологического раствора. Патоморфологическая картина в легких складывается из значительных сосудистых расстройств, резкого расширения просвета бронхов, изменения бронхиального эпителия, перибронхиальных ателектазов, очагов бронхопневмонии. Гибель мышей от специфического инфекционного

Г В
гем-
ген-там-
нип-
25°.
уса
40°.
ль-
ри-
бо-
ико-
на-
не-ви-
ких
от-

кии

М

ия-
см
и
ин-
у-
же
го-
ю-
го-
ст-
н-
р-
т-
н-
н-
го
25

процесса начинается только после пятикратного введения физиологического раствора вслед за однократным введением вируса в дозе 1/1 тыс. LD₅₀, и смертность животных постепенно возрастает к 8-9 введению (интервал 30 мин.).

Чувствительность мышей к малым дозам вируса гриппа под влиянием неспецифического раздражителя повышается на фоне однократного внутрибрюшинного введения коклюшной вакцины, вакцины БЦЖ и кортизона. Дезоксикортикостерон не меняет чувствительность мышей к вирусу гриппа. Чувствительность мышей к малым дозам вируса гриппа резко снижается, если интраназально ввести новокаин до начала введения физиологического раствора или до второго введения вируса.

ИЗУЧЕНИЕ МИКРОФЛОРЫ В ЛАКУНАХ МИНДАЛИН У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ТОНЗИЛЛИТОМ

В. Г. КРАСНОВА, А. У. СКЫРСКАЯ
(ДНЕПРОПЕТРОВСК)

Важным фактором в патологии органов дыхания является наличие постоянного очага инфекции в организме — хронического тонзиллита. Его связь с расстройствами других органов и систем может осуществляться как гуморальным путем в виде интоксикации и сенсибилизации, так и нервно-рефлекторно (Л. Д. Лебедев, Е. И. Волкова, 1957). Хотя механизм воздействия указанного очага еще окончательно не выяснен, однако сенсибилизация макроорганизма и изменение его реактивности несомненны. Это все отражается на течении острых инфекций дыхательных путей.

Первым этапом в изучении патологии миндалин является выяснение этиологии заболевания. По этому вопросу имеется значительное количество работ в литературе, но нет единого мнения о возбудителе хронического заболевания.

Одни авторы считают этиологическим фактором заболевания гемолитический стрептококк (Л. А. Луковский, П. В. Осипова и Д. А. Пигулевский и др.), другие — сочетание гемолитического стрептококка и белого негемолитического стафилококка (Д. Д. Лебедев и Е. И. Волкова). Не исключается этиологическая роль в возникновении хронического тонзиллита у детей зеленого стрептококка (Н. В. Журавская и Е. М. Гофман) и аденовирусов (В. И. Марченко, Н. А. Матвеева, Н. И. Пинегина).

В нашей работе приведены наблюдения 97 больных хроническими тонзиллитами, у которых изучались характер микрофлоры в лакунах миндалин и ее значение в этиологии данного заболевания.

Исследования проводились в направлении выделения вируса гриппа на куриных эмбрионах — (44), аденовирусов на различных клетках культур тканей и изучения уровня гуморального иммуни-

гета
ра в
В
куп
1
жени
тов э
них 1
ловек
далы
лись
позор
III
И
повы
1:40
лее т
В
ка с
В
а три
а ге
комп
Т:
ким
пови
стат
же к
И
дены
1-8
были
арб-
но в
заслу
Б
лам
выяв
65 с.
ляетс
чески
заме
ким,
куль-
хрон
верхи
в ма
гичес
III т
стреп

ного введения физиологическим раствором с введением вируса постепенно возрастает

вируса гриппа повышается на фоне коклюшной вакцины. Остерон не меняет чувствительность мышей, если интраперитонеально вводится физиологический

Х МИНДАЛИН У ТОНИЛЛИТОМ

ПРСКАЯ

заболевания является на фоне хронического тонзиллита и системных органов и систем в виде ангины, фарингита (Л. Д. Лебедев). Эффективность вакцинации как сенсибилизации неоспорима. Это для дыхательных путей тонзиллит является выяснению имеется значительное единство мнений о

втором заболевании (Л. П. В. Осипова). Не гемолитического стрептококка (Л. Д. Тонзиллитическая роль детей зеленящего ангины и аденовирусов).

больных хроническим бактер микрофлоры и данного заболе-

выделения вируса аденовирусов на различных участках орального иммуни-

тата к аденовирусам. Кроме этого, изучалась бактериальная флора в 67 мазках на обычных микробиологических средах.

В результате вирусологического исследования мазков из лакуны на куриных эмбрионах вирус гриппа не выделен. При заражении клеток культур тканей (Хила, клетки почки и фибробластов эмбриона человека) выделено 8 цитопатогенных штаммов. Из них на клетках Хила выделено 3, на клетках почки эмбриона человека — 1 и на клетках фибробластов эмбриона человека — 4. В дальнейших пассажах все цитопатогенные штаммы культивировались на клетках Хила. В реакции нейтрализации штаммы нейтрализовались аденовирусными иммунными сыворотками типов III — 6 и II — 2 штамма.

Из 26 сывороток, изученных в реакции нейтрализации с типовыми аденовирусными штаммами, выявлены антитела в титрах 1:40 — 1:80: к одному типу в 4-х, к двум типам — в 3-х и к более трем типам — в 17.

В реакции связывания комплемента исследовано 51 сыворотка с антигенами гриппа, аденовирусов и парагриппозных вирусов.

Выявлены антитела к аденовирусам в сыворотках 11 больных, к гриппу и аденовирусам — у 25 больных, к гриппу, аденовирусам и гемадсорбирующим вирусам — у 15 больных. Не обнаружены комплементсвязывающие антитела в 3-х сыворотках.

Таким образом, 50% обследованных лиц, болеющих хроническим тонзиллитом имеют антитела в крови к вирусам гриппа, аденовирусам и гемадсорбирующим вирусам. Чаще встречаются сочетания антител к аденовирусам и гемадсорбирующим (12), реже к гриппу и аденовирусам (2).

Интересно отметить, что у 4-х больных, у которых были выделены аденовирусы, в крови выявлены антитела в титре 1:40 — 1:80 к III типу. К другим штаммам аденовирусов титры антител были низкие (1:10). Можно полагать, что возможно длительное пребывание вируса в лакунах миндалин даже в случаях довольно высокого содержания антител в крови больного. Эти случаи заслуживают дальнейшего изучения.

Бактериологическое изучение мазков, взятых у лиц с хроническим тонзиллитом и после длительного лечения в клинике ЛОР, выявило присутствие в миндалинах зеленящего стрептококка в 65 случаях из 67 обследованных. По-видимому, этот микроб является постоянным обитателем миндалин как у больных с хроническим тонзиллитом, так и у практически здоровых лиц. Было замечено, что сочетание зеленящего стрептококка с гемолитическим, протеем или белым стафилококком, или присутствие чистой культуры гемолитического стрептококка совпадало с явлением хронического тонзиллита, частых проявлений ангины и катаров верхних дыхательных путей. В единичных случаях было выявлено в мазках у больных хроническим тонзиллитом сочетание гемолитического стрептококка, зеленящего стрептококка и аденовируса III типа. Чаще аденовирусы выявлялись в сочетании с зеленящим стрептококком.

Наибольшее количество исследований, хотя и не дает возможности сделать определенные выводы, однако нужно отметить, что указанная микрофлора, выявленная в лакунах миндалин, несомненно имеет значение в развитии хронического тонзиллита, а обострение его провоцируют чаще сочетания зеленеющего стрептококка с гемолитическим, протеем и стафилококком, устойчивых к широко применяемым антибиотикам.

ВЫДЕЛЕНИЕ ВИРУСОВ КОКСАКИ ИЗ ЛИКВОРА ПРИ НЕЙРОИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

Е. А. СУПТЕЛЬ
(КИЕВ)

В настоящее время с достаточной убедительностью доказано, что вирусы Коксаки вызывают заболевания с самой разнообразной симптоматикой. В задачу наших исследований входило выяснение роли вирусов Коксаки, изолированных из спинномозговой жидкости, в патологии человека.

Было обследовано 332 больных, поступивших в нейроинфекционное отделение ИИБ МЗ УССР г. Киева в течение 1963 и первой половины 1964 гг. с диагнозами полиомелит, менингит, парез лицевого нерва, менингоэнцефалит, мезоаденит, энцефалит, постгриппозная нейроинфекция, полирадикулоневрит, грипп, туберкулезный менингит. Всего произведено 379 анализов. При соответствующих показаниях ликвор у больных забирали 2-5кратно.

Возбудители выделяли из спинномозговой жидкости на новорожденных мышцах при внутрибрюшинном заражении. Выделенные вирусы Коксаки идентифицировали в реакции нейтрализации с имеющимися в нашем распоряжении мышинными и кроличьими иммунными сыворотками - Коксаки В1-6 и А1-20 на культурах тканей клеток почек обезьян, Ф-9 и новорожденных мышцах. Парные сыворотки больных, взятых в начале болезни и в период реконвалесценции, изучали в реакции нейтрализации.

Ткани мышей, инфицированных выделенными вирусами Коксаки, подвергали гистологическому исследованию.

Выделено 57 штаммов вируса Коксаки, относящихся к группе В (В1-5; В2-2; В3-3; В4-11), к группе А (А2-4; А3-2; А6-10; А10-2; А11-2; А16-3) и 13 штаммов, не типизирующихся имеющимся набором сывороток.

Вирусы Коксаки обнаружены в спинномозговой жидкости больных следующих возрастных групп: 0-2 года - 5; 3-5 лет - 12; 6-10 лет - 11; 11-15 лет - 12; 16-20 лет - 10; 21 год и выше - 7.

Возбудители удавалось выделить из проб ликвора, взятых на 1-2 сутки болезни в 2-х случаях; 3-5 сутки в 12 случаях; на

не дает возмож-
но отметить, что
мигдалит, несом-
тонзиллита, а
ящего стрепто-
м. устойчивые

6-10 сутки в 17 случаях; на 11-15 сутки в 8 случаях; на 16-20
сутки в 3 случаях; на 21 сутки и более в 14 случаях. При повтор-
ном исследовании ликвора, произведенном у 7-ми больных через
4-9-11-22-26-72 суток после первого забора, в котором
вирус Коксаки обнаружен, получены отрицательные результаты.
У трех больных при повторном заборе спинномозговой жидкос-
ти были выделены вирусы Коксаки тех же типов, что и при пер-
вичном исследовании.

В 2/3 исследуемых случаев вирус Коксаки выделен из ликвора
в острой стадии болезни или в период обострения.

ЛИКВОРА ИЗМЕНЕНИЯХ

ДИАГНОСТИКА АДЕНОВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ ЧЕЛОВЕКА И ОБЕЗЬЯН В СВЯЗИ С ОСОБЕННОСТЯМИ ЛОКАЛИЗАЦИИ ВОЗБУДИТЕЛЯ

*С. ДРЕЗНИН, М. I. СУХАРЕВА, М. И. ЧИДЖАВАДЗЕ, М. А. КОС-
ТЮКОВ, В. И. ГАВРИЛОВ, Е. С. ВОРОНИН, Н. М. ЗЛАТКОВСКАЯ, Л. И.
ЕВА, Н. И. НИСЕВИЧ*

(МОСКВА)

стью доказано,
ой разнообра-
входило выяв-
пняном гово-

з нейтроинфек-
ше 1963 и пер-
менингит, па-
нт, энцефалит
ит, грипп, ту-
тизов. При со-
абирала 2-5

ости на ново-
ния. Выделен
нейтрализа-
ными и кро-
5 и А1 20 на-
оворожденных
але болезни и
рализации.
вирусами Кок-

ихся к группе
(А2-4; А3-2;
типизирующих

ндкости боль-
3-5 лет - 12;
21 год и вы-

ра, взятых на
случаях; на

Полученные в последние годы нами и другими исследователя-
ми данные позволяют расширить представления о патогенезе и
иммунитете аденовирусных инфекций. В отличие от аденовирусов
типов 3, 7, 4, 14, 21, вызывающих вспышки клинически остро
протекающей инфекции, после которой вирус не удается изолиро-
вать, аденовирусы типов 1, 2, 5 и 6 чаще вызывают спорадические
случаи заболеваний и обнаруживают склонность к длительному
сохранению в лимфоидной ткани миндалин и аденоидов.

Не только при аденовирусных заболеваниях, этиологически
связанных с латентными серотипами, но и при заболеваниях,
вызванных типами 3, 7 и 14 (представителями подгруппы «возбу-
дителей острых заболеваний»), также наблюдается склонность к
рецидивации. При ряде вспышек аденовирусных заболеваний
Хьюнер, Собель, Кендалл, Иванс и др., а также и мы наблюдали
увеличение миндалин (их отек и гиперплазию), периферических
лимфоузлов, печени и селезенки. Из селезенки трупов 2 детей,
погибших от аденовирусной пневмонии, а также из печени одно-
го из них нами были выделены аденовирусы.

За последние годы удалось показать, что аденовирусные забо-
левания протекают не только с симптомами поражения дыхатель-
ных путей и конъюнктивы глаз, но и кишечного тракта. При об-
следовании нами 209 детей в возрасте от 2 месяцев до 3 лет бы-
ла доказана аденовирусная этиология диаррей в 29,5% случаев.
Они были вызваны преимущественно «латентными» серотипами.
Кишечные расстройства возникали тем чаще, чем ребенок моло-
же, и характеризовались умеренно выраженными симптомами

энтерита или энтероколита, не сопровождались токсикозом и были кратковременными по течению. Эти диарреи по своей сущности являются аденовирусными заболеваниями маленьких детей с респираторным и кишечным синдромом (последний более резко выражен).

Из верхних дыхательных путей, по-видимому, с заглатываемой слизью вирус попадает в желудочно-кишечный тракт. Мы выделили вирус типа 3 из суспензии желудка трупа ребенка, погибшего от аденовирусного заболевания.

Независимо от того, проявляется ли аденовирусное заболевание симптомами респираторными или респираторными и кишечными симптомами (диарреи), обнаружено размножение аденовирусов в кишечнике.

Количественные показатели выделения вируса из отделяемого зева, фекалий и крови больных аденовирусными заболеваниями с респираторными (О. Р. З., ФКА, ангины) и респираторным и кишечным синдромом (диарреи) в динамике инфекционного процесса свидетельствуют о размножении вируса в кишечном тракте в течение 8-10 и более дней, т. е. в сроки более длительные, чем в дыхательных путях этих же больных. Титр вируса в фекалиях в первые дни ниже 10^6 ТЦД₅₀/0,1 мл, чем в более поздние сроки 10^7 ТЦД₅₀/0,1 мл. В первые дни инфекции аденовирусы изолируются преимущественно из дыхательных путей, а затем одновременно их удается выделить и из кишечного тракта. Однако, у больных с диарреями вирус выделяется из дыхательных путей в первые три дня болезни, тогда как в фекалиях обнаруживается с первых же дней болезни. В группе респираторных больных вирус изолируется из дыхательных путей более длительное время, в фекалиях появляется позднее.

Аденовирус был также выделен из взвеси тонкого кишечника трупа ребенка, погибшего от аденовирусной пневмонии на 10-й день болезни — титр вируса 10^2 ТЦД₅₀ в 0,1 мл 10% суспензии.

Аденовирусы не только из первичных очагов поражения (дыхательный тракт, конъюнктив глаза); но и из кишечника могут проникать по лимфатическим путям в региональные лимфатические узлы. В период, совпадающий с размножением аденовирусов в кишечном тракте, у небольшого числа детей наблюдали картину острого живота, связанного с мезоаденитом, в 2 случаях, приведшим к инвагинации. Из мезентеральных лимфоузлов, удаленных во время операции, выделены аденовирусы и получены серологические доказательства острой инфекции, связанной с латентными серотипами (у 8 из 31 обследованных). При гистологическом исследовании иссеченных мезентеральных лимфатических узлов имелось полнокровие, отек и лимфоидная гиперплазия их.

Доказана вирусемия при заболевании, вызванном аденовирусом типа 3. В период максимального размножения вируса в дыхательных путях, в ряде случаев ОРЗ, ФКА, ангины удавалось выделить вирус из крови (у 4 из 18 обследованных). Необходимы дальней-

30

шие исследования, связанные

Шесть обезьян гибшей

Вирус конъюнктивит на 3 дня (пути).

Шесть обезьян сходных фекалий

7 день фекалий после за

Получено и доказано диагностическое значение при обсе

K

Для инфекции устойчивой длительно целью и инфекции, работки стабильные экспе

Для жидкости типа Е с центре в териниде лась перфекции Е

Наличие центрации

ь токенизмом и бы
и по своей сущнос
маленьких детей с
етний более резко

ому, с заглывае
ный тракт. Мы вы
на ребенка, погиб-

вирусное заболева
рными и кишечны
ожение аденовиру-

уса из отделяемо
ыми заболеваниями
и респираторным
е инфекционного
в кишечном тракте,
более длительные,
тр вируса в фека
мл, чем в более
инфекции адено
тельных путей, а
кишечного тракта,
и из дыхательных
зальных обнаруж
ираторных боль
олее длительное

никого кишечника
евмонии на 10-й
10% суспензии.
поражения (ды
кишечника могут
ные лимфатичес
ием аденовирусов
наблюдали кар
м, в 2 случаях,
тимфоузлов, уда
ы и получены се
вязанной с ла
. При гистологи
х лимфатическ
ая гиперплазия

ом аденовирусом
руса в дыхатель
валось выделить
одимы дальней-

ные исследования для выявления возможных проявлений инфек
ции, связанных с вирусом.

Шесть обезьян Макака резус были заражены аденовирусом
обезьян типа М4 штамм ЛП, выделенным из легкого обезьяны, по
гибшей от аденовирусной пневмонии. Титр вируса 10^6 ТЦД₅₀/0,1 мл.
Вирус втирали (смоченными во взвеси вируса тампонами) на
конъюнктиву глаза, слизистую зева и носа. Обезьяны заболели
на 3 день (конъюнктивиты и поражения верхних дыхательных
путей). Количественные показатели выделения вируса в дина
мике инфекционного процесса при экспериментальной инфекции
обезьян выявили закономерности размножения аденовирусов,
сходные с размножением аденовирусов при естественной ин
фекции у людей. Из отделяемого глаза вирус был выделен с 3 по
7 день после заражения, из отделяемого зева с 3 по 15 день. В
фекалиях вирус появлялся позднее и выделялся, начиная с 7 дня
после заражения до более 20 дней после заражения.

Полученные данные об особенностях локализации аденовиру
сов и динамике их обнаружения в различных органах дают воз
можность выработать оптимальные схемы взятия материалов при
диагностике аденовирусных инфекций. Кроме того, эти сведения
необходимы для правильной оценки вирусологических находок
при обследовании больных.

К ИЗУЧЕНИЮ СТАБИЛЬНОСТИ АДЕНОВИРУСОВ В ВОЗДУХЕ

В. В. ВЛОДАВЕЦ, Р. А. ДМИТРИЕВА
(МОСКВА)

Для изучения путей и механизма распространения воздушных
инфекций в коллективе существенное значение имеет определение
устойчивости возбудителя во внешней среде и в первую очередь
длительность сохранения жизнеспособности вирусов в воздухе. С
целью изучения механизма распространения аденовирусной ин
фекции, возможности индикации во внешней среде, а также раз
работки методов неспецифической профилактики была изучена
стабильность аденовирусов в капельной фазе аэрозоля. В качест
ве экспериментальной модели использовался аденовирус 5 типа.

Для получения тонкодисперсного аэрозоля вирусодержащая
жидкость (среда 199) диспергировалась в аэрозольной камере
типа Е объемом в 500 л при помощи распылителя Барковского. В
центре камеры в вертикальном положении устанавливалась бак
терицидная ультрафиолетовая лампа БУВ-15, которая включа
лась перед началом работы и после окончания опытов для дезин
фекции воздуха.

Наличие жизнеспособности аденовируса и изменение его кон
центрации в воздухе камеры определялось по цитопатогенному

действую на культуру ткани HeLa. Параллельно проводилось изучение изменений клеток культуры тканей под действием заражения этими же пробами при последующем окрашивании их акридиновым оранжевым или гематоксилин-эозинном. Для обнаружения аденовирусов в отбор проб воздуха из камеры производился при помощи бактериоуловителя Речменского. В ходе экспериментов было установлено, что прибор Речменского обладает довольно высокой улавливающей способностью в отношении аэрозолей аденовирусов, что позволило успешно производить отбор проб воздуха как при высоких, так и при низких концентрациях данного вируса в воздухе.

Проведенные опыты довольно четко продемонстрировали значительную устойчивость аденовируса 5 типа в капельной фазе аэрозоля. Было установлено, что в воздухе аэрозольной камеры аденовирус обнаруживается в больших концентрациях через 5 минут после окончания диспергирования вирусосодержащей суспензии ($10^{2.5} - 10^{3.0}$). В последующих пробах через 30 минут, 1 час концентрация аденовируса в воздухе постепенно снижалась, достигая минимальных величин через 2—3 часа после распыления ($10^{0.25} - 10^{0.5}$). Длительность обнаружения аэрозоля аденовируса, относительно медленное снижение концентрации вируса в воздухе, небольшой перепад между титром вируса в суспензии и улавливаемыми концентрациями вируса в воздухе камеры позволяют отнести аденовирус 5 типа к устойчивым в условиях воздушной среды организмам. При изучении действия коротковолнового УФ-излучения была установлена относительно высокая устойчивость аденовируса в капельной фазе аэрозоля. Наиболее резкое падение титра аденовируса наблюдалось при небольших дозах — в первые 30 секунд облучения (с $10^{3.0}$ до $10^{1.5}$). При последующем облучении количество жизнеспособного вируса постепенно уменьшалось, а весь процесс инактивации резко замедлялся. Полная инактивация аденовируса достигалась при облучении воздуха камеры в течение 3 - 5 минут.

ПОЛУЧЕНИЕ ТИПОСПЕЦИФИЧЕСКИХ АНТИГЕНОВ ИЗ АДЕНОВИРУСОВ 3-го И 7-го ТИПОВ

П. А. ЕГОРОВ
(УФА)

Вопрос об использовании реакции связывания комплемента в целях серологической диагностики и изучения коллективного иммунитета к аденовирусам не может до настоящего времени считаться решенным, так как эта реакция не обеспечивает определения типа вируса. Однако работами ряда авторов показана возможность выделения типоспецифических фракций из культуральных жидкостей клеток, зараженных аденовирусами (Симон,

32

Вилко
приобр
Це
для Р
ляющ
На
зов 3-
русоло
клеток
освобо
ния. Г
лиз пр
цифич
матогу
кальци
лялост
в цен
приме
конце
Пр
вании
Надос
ледов
различ
В дал
ротип
Рез
дующе
гирую
однако
ции с
тах на
явлени
Фракци
типосп
своист
тями,
ствова
Дл
ментог
гена, 1
Нер-2.
ми сы
На
типосп
роток.
до раз
роткам
реакци
3—1455

о проводилось изу-
дствием зараже-
шивании их акри-
л. Для обнаруже-
еры производились
ходе эксперимен-
обладает доволь-
ношении аэрозо-
водить отбор проб
онцентрациях дан-

онтировали зна-
капельной фазе
озольной камеры
трациях через 5
держашей суспен-
з 30 минут, 1 час
снижалась, до
осле распыления
юзоль аденовиру-
ции вируса в воз-
а в суспензии и
хе камеры позво-
условиях воздуш-
коротковолнового
высокая устойчи-
Наиболее резкое

больших дозах -
При последую-
руса постепенно
замедляется. Пол-
блучении воздуха

АНТИГЕНОВ ИПОВ

и компонента в
алективного им-
то времени счи-
тывает определе-
показана воз-
из культураль-
усами (Симон,

Вилкокс). Тем не менее результаты этих исследований еще не приобрели необходимого практического значения.

Целью данной работы являлось выделение типоспецифических для РСЖ аденовирусных антигенов с разработкой метода, позволяющего получать достаточно большие количества их.

Нами были использованы лабораторные штампы аденовирусов 3-го и 7-го типов, полученные из Московского института вирусологии им. Ивановского. Культуральные жидкости зараженных клеток Her-2 после трехкратного замораживания и оттаивания освобождались от клеточного детрита путем центрифугирования. После этого производили их 10-кратную концентрацию и диализ против 0,001 м фосфатного буфера. Для выделения типоспецифического компонента применяли метод адсорбционной хроматографии с использованием в качестве адсорбента фосфата кальция. Методической особенностью наших опытов, однако, являлось то, что разделение антигена проводилось не в колонке, а в центрифужном станке. В качестве элюирующего раствора был применен фосфатный буфер, рН-7,3, в постепенно повышающихся концентрациях: 0,001 м, 0,01 м, 0,1 м, 0,2 м, 0,3 м, 0,4 м и 0,5 м.

Процесс фракционирования состоял в тщательном перемешивании антигена с адсорбентом и центрифугировании этой смеси. Надосадочную жидкость использовали в качестве антигена. Последовательное прибавление к адсорбенту фосфатного буфера различной молярности позволило получать несколько фракций. В дальнейшем они испытывались в РСЖ с гомотипичными и гетеротипичными сыворотками морских свинок.

Результаты опытов с аденовирусом 3-го типа сводятся к следующему: в небольших разведениях испытываемые фракции реагируют как с гомотипичной, так и с гетеротипичной сывороткой, однако по мере увеличения степени разведения отдельные фракции обнаруживают строгую типоспецифичность. В наших опытах наиболее постоянные типоспецифические свойства были выявлены во фракции 0,3 м при разведении ее с 1:16 до 1:64. Фракции более высокой молярности также обладали некоторой типоспецифичностью, но после разведения вообще утрачивали свойства антигенов. В опытах с нефракционированными жидкостями, взятыми в разведениях, типоспецифические реакции отсутствовали.

Для исключения положительных реакций за счет тканевых элементов было предпринято фракционирование нормального антигена, полученного из культурной жидкости незараженных клеток Her-2. Ни одна из этих фракций не реагировала с аденовирусными сыворотками.

Нами изучалась также возможность перекрестных реакций типоспецифических компонентов с более широким набором сывороток. Так, в отношении фракции 0,3 м было установлено, что до разведения 1:16 перекрестные реакции наблюдались с сыворотками 1, 2, 4, 5 и 6 типов; с сыворотками 7, 9 и 10 типов такие реакции отсутствовали.

е не
еских
тозво-
виру-
а ви-
енных
зания
рова-
диа-
оспе-
хро-
фата
, яв-
ке, а
был
гихся
1,5 м.
еши-
месн.
Пос-
фера
ций.
гете-

сле-
реа-
гой,
рак-
опы-
вы-
: 64.
орой
вали
кос-
сут-

эле-
нти-
сток
сны-

ций
ыво-
что
ыво-
акие

Аналогичные опыты были проведены и с аденовирусом 7-го типа. В этом случае типоспецифические свойства были выявлены во фракциях 0,1 м и 0,2 м.
Таким образом, изучение двух типов аденовирусов показало возможность получения из них строго типоспецифических антигенов, пригодных для реакции связывания комплемента.

ГЛИКОПРОТЕИДЫ СЫВОРОТКИ КРОВИ И С-РЕАКТИВНЫЙ БЕЛОК ПРИ ОСТРЫХ РЕСПИРАТОРНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ У ДЕТЕЙ РАННЕГО ВОЗРАСТА

Г. М. ТЕБЕНЧУК
(КИЕВ)

При изучении клиники острых респираторных заболеваний в раннем детском возрасте (в частности аденовирусных — у 115 детей, гриппа — у 60) нами констатировано, что в формировании картины болезни, помимо этиологического фактора, определенную роль играли инфекционно-аллергические реакции организма. Частота их увеличивалась с возрастом (нарастая со второго полугодия жизни), а также в связи с повторными заболеваниями дыхательных путей. По-видимому, перенесенные респираторные заболевания оказывали сенсibilизирующее влияние на детский организм.

Для подтверждения сказанного нами изучались сialовая и дифениламиновая пробы, которые позволяют судить о степени деструкции соединительной ткани. Определялось также наличие атипичного, не встречающегося у здоровых детей белкового комплекса С-протенна, который, как известно, обладает антигенными свойствами и может оказывать сенсibilизирующее действие.

Исследование гликопротеидов сыворотки крови проведено в динамике заболевания у 140 детей, С-реактивного белка — у 80 больных, преимущественно первого года жизни. У детей в возрасте первых трех месяцев, как правило, болевших впервые в жизни, показатели ДФА-реакции и сialовой кислоты были в пределах нормальных или несколько повышенных цифр (0,130—0,230 для ДФА).

У более старших детей отмечены повышенные против нормы показатели: в возрасте 3—6 мес. — 0,240—0,350; 6—12 мес. — 0,240—0,400; после 1 года — 0,260—0,500. При этом особенно высокие цифры отмечены при осложнениях пневмонией (0,300—0,350), а также при деструктивно-нагноительных процессах в легких и плевре или при наличии аллергических состояний (0,400—0,500).

В стадии реконвалесценции у детей первых месяцев жизни показатели ДФА-реакции и сialовой кислоты были нормальными. У более старших они нередко оставались повышенными или даже

наг
ле
тер
пр
из

ди
ны
6 л
ло
ле
ду
+
ви
бр
ри
пре

но
ни
ги
ко

АГ

1. 8

би
ни
ни
кри
тор
при
тер

мен
дел
мо

во
пре
ся
пер
лиц
3-

аденовирусом 7-го типа были выявлены

аденовирусов показало специфических антигенных элементов.

И С-РЕАКТИВНЫЙ Х ЗАБОЛЕВАНИХ АСТА

ных заболеваний в вирусных — у 115 детей в формировании фактора, определен реакции организма нарастая со вторыми заболеваниями респираторные заболевания на детский

иссия сыворотка и дитя о степени десакже наличие анти белкового комплекса обладает антигенным действием.

ви проведены в дитя о белка — у 80 У детей в возрасте впервые в жизни, были в пределах (0,130—0,230 для

ле против нормы 50; 6—12 мес. — этом особенно вывмонией (0,300— процессах в легостояний (0,400—

десять лет жизни по и нормальными. У нными или даже

нарастали. Последнее особенно часто констатировано у детей, болевших катаром дыхательных путей повторно, с короткими интервалами, с присоединением астматического компонента и др. проявлений аллергии, а также при выраженных остаточных изменениях в корнях легких.

С-реактивный белок у больных в возрасте первого полугодия как правило отсутствовал, изредка был слабо положительным (+), исчезая в периоде реконвалесценции. У детей старше 6 мес. С-реактивный белок не выявлялся или давал слабоположительную реакцию (+) лишь у заболевших впервые. У заболевших повторно даже при несложженных катарах дыхательных путей С-реактивный белок оказывался в наличии (++) или (+++). При осложнениях пневмониями, отитами, плевритами, вирусными энцефалитами, при наличии спастического состояния бронхов реакция была резко положительной (++++) В периоде реконвалесценции С-реактивный белок часто оставался на прежнем уровне или уменьшался незначительно.

Таким образом, показатели ДФА, сыворотки и С-реактивного белка не только отражали степень воспалительных изменений в дыхательных путях, но также свидетельствовали об аллергической перестройке организма. Возможно, изученные тесты позволят контролировать проводимое десенсибилизирующее лечение.

АГЕНТ ИТОНА И ДРУГИЕ ВОЗБУДИТЕЛИ МИКОПЛАЗМЫ— ИНФЕКЦИИ ЧЕЛОВЕКА

Я. КАГАН, Р. С. ДРЕЗИН, С. В. ПРОЗОРОВСКИЙ, Е. М. ВИХНЕВИЧ
(МОСКВА)

Одним из наиболее актуальных разделов современной микробиологии является вопрос о роли семейства микоплазм в инфекционной патологии человека. Основные направления исследований в данной области касаются экспериментальной разработки критериев патогенности микоплазм и изыскания методов лабораторно-клинических наблюдений о выделении этих возбудителей при заболеваниях, природа которых не укладывается в рамки бактериальной или вирусной этиологии.

При изучении патогенности микоплазм в условиях эксперимента встречаются серьезные затруднения, т. к. воспроизвести модель экспериментальной инфекции очень часто совершенно невозможно.

Большинство лабораторно-клинических наблюдений, проведенные во многих зарубежных лабораториях свидетельствуют о том, что представители семейства *Mycoplasma* чаще всего выделяются при некоторых заболеваниях мочеполовой сферы человека и первичных атипичных пневмониях, этиология которых открыта лишь в самое последнее время.

ей, бо-
и ин-
и др.
очных

олуго-
литель-
гарше
по-
забо-
льных
или
тами,
яния
В пе-
я на

ктив-
мене-
ллер-
поз-
ение.

ы—

ЕВИЧ

икро-
фка-
дова-
отки
ора-
елей
бак-

ери-
мо-
воз-

ные
что
ают-
и
ыта

Обширными исследованиями Динеса с сотрудниками Клинбергер-Нобель, Эдварда и др. было показано, что при абактериальных уретритах, некоторых гнойных генекологических заболеваниях и уретро-конъюнктивального-синювиальном синдроме, как правило, выделяются *M. kominis* I и II.

В 1944 году Итон путем пассажа мокроты больного пневмонией на хлопковых крысах выделил фильтрующийся агент первоначально названный агентом Итона. До 1962 года этот агент был отнесен к фильтрующимся вирусам и лишь после работы Ченока с сотрудниками, получивших рост этого агента на искусственной питательной среде, он был отнесен к семейству *Mycoplasmataceae*.

Многочисленными бактериологическими, вирусологическими, иммунологическими и эпидемиологическими исследованиями была доказана этиологическая роль агента Итона при первичных атипичных пневмониях. Биология этого агента (*M. pneumoniae*) весьма интенсивно изучается в зарубежных лабораториях, в Советском Союзе работ по этому вопросу нет. Проведенные нами изучение эталонного штамма «FN» *M. pneumoniae* выявило, что он обладает характерными признаками микоплазм. К их числу следует отнести рост в виде характерных мелких своеобразной структуры колоний, наличие типичных для микоплазм микроструктур в виде зерен, нитей, мелких шаровидных и вакуолизированных форм и зернистых тел неопределенной конфигурации, неограниченных клеточной стенкой. *M. pneumoniae* культивируется на полужидких и полутвердых средах триптического переваривания сердечной мышцы быка с добавлением дрожжевого гидролизата, нормальной лошадиной сыворотки, ацетата таллия и пенициллина. Наиболее эффективным является метод двухфазового культивирования, который пригоден для получения биомассы возбудителя.

Изучение биологических особенностей *M. pneumoniae* является первым этапом исследований значения этого возбудителя в этиологической структуре заболеваемости респираторными инфекциями в СССР.

К ХАРАКТЕРИСТИКЕ ГРИППОЗНОГО АНТИГЕНА, СЕНСИБИЛИЗИРУЮЩЕГО ЭРИТРОЦИТЫ

В. А. ИСАЧЕНКО, Л. И. СОКОВЫХ
(МОСКВА)

В литературе все чаще появляются сообщения о применении реакции пассивной гемагглютинации при различных вирусных инфекциях. Авторы представляют разноречивые данные о природе антигена, сенсibiliзирующего эритроциты и сообщают о последнем способность агглютинироваться гомологичными иммунными сыворотками.

час
лим

пре
обл
ной
В т

тип
пол
сис
ти.

ло
нос
мно
ши
сис

жи
ши
сад
дей

чив
лоти

у

Г
лова
сене
жид

молс
Е
демс
ли а

точк
мыш
сиру
фици
1 : 8.

отрудниками Клини-
и, что при абакте-
логических заболе-
льном синдроме, как

большого пневмо-
цийся агент перво-
ду этот агент был
ле работы Ченюка

на искусственной
Mycoplasmataceae.
ирусологическими
следованиями бы-
а при первичных
(M. pneumoniae)
бораториях, в Со-
Проведенные нами
и выявило, что он

К их числу сле-
еобразной струк-
и микроструктур
кулолизированных
ции, неограничен-
руется на полу-
реваривания сер-
го гидролизата,
ия и пеницилли-
азового культу-
омассы возбуди-

и pneumoniae являет-
возбудителя в
риаторными ин-

АНТИГЕНА. ЦИТЫ

о применении
их вирусных ин-
ные о природе
бщающего по-
чными иммун-

В одних случаях факт сенсибилизации связывают с вирусной
частицей (NDV, mumps, герпес), в других — с субстанцией, отде-
лимой от вируса (аденовирусы, вирус пситтакоза).

Бернет в 1946 году указал на существенные различия между
представителями группы миксовирусов: вирусы mumps и NDV
обладали ярко выраженной сенсибилизирующей активностью по от-
ношению к нативным эритроцитам, тогда как вирусы гриппа А и
В такой активности не выявляли.

В своих опытах мы показали, что антигены вируса гриппа
типа А, А2 и В обладают сенсибилизирующей активностью при ис-
пользовании предварительно таннизированных эритроцитов. Сен-
сibiliзирующий антиген накапливается в аллантоисной жидкост-
и. Применяя метод адсорбции вируса на эритроцитах можно бы-
ло разделить сенсибилизирующую и гемагглютинирующую актив-
ности препарата. Ни интактные вирусные частицы (очищенные
многократной адсорбцией и элюцией на эритроцитах), ни фрак-
ции гемагглютинина (V-антиген) не обладают способностью сен-
сibiliзировать эритроциты.

При ультрацентрифугировании вирусодержащей аллантоисной
жидкости (80.000 об/мин) было выявлено, что сенсибилизирую-
щий антиген не осаждается вместе с вирусом, а остается в надо-
садочной жидкости. Сенсибилизирующий антиген чувствителен к
действию протеолитических ферментов. Изучалась также устой-
чивость антигена к нагреванию, действию алкоголя, соляной кис-
лоты и перйодату.

УСЛОВИЯ ВЫЯВЛЕНИЯ СПЕЦИФИЧНОСТИ РЕАКЦИИ ПАССИВНОЙ ГЕМАГГЛЮТИНАЦИИ ПРИ ГРИППЕ

Л. И. СОКОВЫХ, В. А. ИСАЧЕНКО
(МОСКВА)

Представляемой работой подтверждается возможность исполь-
зования реакции пассивной гемагглютинации для обнаружения
сенсибилизирующего антигена в инфицированной аллантоисной
жидкости куриных эмбрионов и определения титра антител в го-
мологичных иммунных сыворотках.

Высокая чувствительность и специфичность реакции была про-
демонстрирована с помощью антисывороток, которые не содержа-
ли антител к нормальным компонентам хорноаллантоисной обо-
лочке. Эксперименты проводились при использовании иммунных
мышинных сывороток, приготовленных против вирусов гриппа, пас-
сированных на мышах, и сывороток петухов, иммунизированных ин-
фицированной аллантоисной жидкостью. Разведение сыворотки
1:8.000—1:16.000 вызывает агглютинацию сенсибилизированных

эритроцитов при титре сыворотки в реакции задержки гемагглютинации 1 : 320. Таким образом, с гриппозным антигеном как и с антигенами при других инфекциях РПГА оказывается в 20 - 50 раз чувствительнее РЗГА.

Применение обычных крысиных сывороток, содержащих антитела к нормальным компонентам куриного эмбриона возможно, но требует дополнительной адсорбции таких сывороток хориоантлантовыми оболочками. Без подобной обработки реакция выявляет присутствие в сыворотке неспецифических антител, титр которых может быть значительным.

ПОЛУЧЕНИЕ КОНЦЕНТРИРОВАННЫХ И ИНАКТИВИРОВАННЫХ ТКАНЕВЫХ КУЛЬТУРАЛЬНЫХ АНТИГЕНОВ ВИРУСА КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА ДЛЯ РЕАКЦИИ ГЕМАГГЛЮТИНАЦИИ И РЕАКЦИИ ТОРМОЖЕНИЯ ГЕМАГГЛЮТИНАЦИИ

В. С. КОКОРЕВ
(СВЕРДЛОВСК)

В опытах использованы 15 штаммов вируса группы КЭ: Софийский, Абсетгаров, КЛБ, ОГЛ, П-10, S-1, ПП-21, Хабаровский 18, Кх. perspicatus 11, Повассан, Хири, Пап, Хабаровский 17, 1004 и 1191 (местные) и восемь деривативных линий тканевых культур: СОП, Нела, Детройт - 6, КПЭЧ (почки эмбриона человека), КПК (почки коровы), КЛЧ (легких человека), АЧ (амниона человека).

Тканевые культуры выращивались в матрицах. Для заражения концентрация вируса при заражении была 10^3 . Контролем служили клеточные культуры, в которые была внесена 10% мозговая суспензия мышей, не зараженных вирусом КЭ. Для поддержания использовалась среда 199 с 4-5% нативной бычьей или лошадиной сыворотки. Культуральная жидкость на 7-9 день после заражения использовалась в качестве антигена. РГА и РПГА ставилась по общепринятой методике. Титр инфекционности проверялся на мышах путем внутримозгового заражения.

Для инактивации и концентрации культуральных антигенов применялось высушивание, осуществляемое открытым способом (в сушильном шкафу, в эксикаторах с безводным хлористым кальцием или концентрированной серной кислотой, в холодильной камере) при температурах 50°C, 45°C, 40°C, 37°C, 24°C, 4°C в чашках Петри. Остаточная влажность определялась дополнительным высушиванием в сушильном шкафу при 105°C до постоянного веса. До высушивания пробы антигенов, приготовленных на различных тканевых культурах, проверяли в РГА и на инфекционность. Тит-

38

ры гем-
фекцию
сушива
Паралл
культу
указан
чение 4
до 4-7
ния 37°
ле пол
1-3 м.
антиге
давало
больше
инфекц
ленным
50°C ве
Мак
получе
мышях
ровани
При
чальны
Неодно
сушива
инов,
после в
зиологи
с соотв
лях. В
таты бы
9,0; при
тинног
Про
гипериу
показал
шенных
сяцев (с
ром рН
при 4°C
сушива
тым спс
часов я
фекцион
кой сле
РГА, РГ

ини задержки гемагглю-
 ным антигеном как и с
 казывается в 20-50 раз
 ток, содержащих анти-
 эмбриона возможно,
 их сывороток хорниал-
 работки-реакция зьяв-
 ских антигел, титр ко-

ЗАННЫХ И КУЛЬТУРАЛЬНЫХ НЦЕФАЛИТА ДЛЯ И РЕАКЦИИ ИНАЦИИ

а группы КЭ: Софь
 1-21, Хабаровский
 1, Хабаровский 17,
 их линий тканевых
 ки эмбриона челове-
 века), АЧ (аминола

цах. Для заражения
 2. Контролем слу-
 есна 10% мозговая
). Для поддержания
 бычьей или лошади-
 7-9 день после за-
 РГА и РПГА ста-
 екционности прове-
 сения.
 ьных антигенов при-
 лтым способом (в
 м хлористым каль-
 в холодильной ка-
 24°C, 4°C в чашках
 долнительным вы-
 постоянного веса.
 шых на различных
 фекционность. Тит-

ры гемагглютининов были в пределах 1:32 — 1:2048, титры ин-
 фекционности в пределах 10^5 — 10^8 ID_{50} (для мышей). Для вы-
 сушивания антигены разливались в чашки Петри по 20--40 мм.
 Параллельно в таких же объемах высушивались контрольная
 культуральная жидкость. При температуре 37°C высушивание
 указанных объемов культуральных антигенов происходило в те-
 чение 48-72 часов, удлиняясь при 24°C до 72--96 часов и при 4°C
 до 4-7 суток. Остаточная влажность при температуре высушива-
 ния 37°C составляла 3,7%, при 4°C — 7,5% (средние цифры). Пос-
 ле полного высушивания культуральные антигены разводились
 в 3 мл боратного буфера pH 9,0. Таким образом, концентрация
 антигенов возрастала в 10-40 раз по сравнению с исходной, что
 давало повышение титров гемагглютининов в 8-16-32 раза и
 больше при температурах 40°C, 37°C, 24°C, 4°C и инактивацию
 инфекционности (гибель 40-50% мышей, зараженных неразве-
 денным концентрированным антигеном). Концентрация при 45°C—
 50°C вызывала снижение титров гемагглютининов в 8-32 раза.

Максимальные титры гемагглютининов после концентрации
 получены при pH реакции 6,2. 4-5-кратные слепые пассажи на
 мышах не выявили реактивации инфекционных свойств инактиви-
 рованных антигенов.

При разведении концентрированных антигенов до первоначаль-
 ных объемов титры гемагглютининов снижались до исходных.
 Неоднократное (3-4 раза) последовательное разведение и вы-
 сушивание антигенов не вызывало снижения титров гемагглюти-
 ниров. Помимо разведения боратным буфером pH 9,0 антигены
 после высушивания разводились также средой 199 (pH 7,6), фи-
 зиологическим раствором (pH 7,2) и дистиллированной водой
 с соответствующим титрованием в РГА в указанных растворите-
 лях. В опытах со средой 199 и физиологическим раствором резуль-
 таты были аналогичными — полученным с боратным буфером pH
 9,0; при использовании дистиллированной воды титры гемагглю-
 тиниров были в 16-32 раза ниже.

Проверка полученных антигенов в РТГА со специфическими
 гипериммунными сыворотками и с сыворотками реконвалесцентов
 показала их высокую специфическую активность. Хранение высу-
 шенных антигенов в неразведенном состоянии в течение 1-2 ме-
 сяцев (37°C, 24°C) и при разведении их боратно-буферным раство-
 ром pH 9,0 и хранении в течение 6 месяцев (срок наблюдения)
 при 4°C не снижало титры гемагглютининов. Таким образом, вы-
 сушивание культуральных антигенов вирусом группы КЭ откры-
 тым способом при температуре 24°C — 40°C в течение 48 и более
 часов является простым и надежным методом получения неин-
 фекционных концентрированных антигенов, обладающих высо-
 кой специфической активностью и пригодных для использования в
 РГА, РПГА при клещевом энцефалите.

**ВЫДЕЛЕНИЕ НОВЫХ ШТАММОВ РЕОВИРУСОВ
ОТ ДЕТЕЙ С ЗАБОЛЕВАНИЕМ,
ХАРАКТЕРИЗОВАВШИМСЯ РЕСПИРАТОРНЫМ-
КИШЕЧНЫМ СИНДРОМОМ И ПОРАЖЕНИЕМ ПЕЧЕНИ**

*А. Х. УСМАНХОДЖАЕВ, Л. Я. ЗАКСТЕЛЬСКАЯ,
Л. Л. СТРУЦОВСКАЯ, Л. В. ФЕКЛИСОВА*

В литературе имеются весьма ограниченные данные о роли реовирусов в патологии человека. Описаны заболевания детей, протекавшие с респираторным синдромом, а также с появлениями диаррей в виде жирных поносов (Себни, 1959).

В ноябре 1963 года нами была обследована вспышка заболеваний среди детей в возрасте от 3-х до 6-ти лет, в ходе которой заболело 38 детей из 44, находившихся в данном коллективе. Заболевание характеризовалось острым началом, симптомами общего токсикоза (угнетенное состояние, адинамия, повторные рвоты). У всех детей имелись те или иные респираторные синдромы в виде ринита, фарингита, а у 18 детей был отмечен еще и катаральный конъюнктивит. У 26 детей появилась диаррея с жидким, зловонным и обесцвеченным стулом. У 22 из 38 человек отмечалось поражение печени, сопровождавшееся увеличением ее объема, иктеричностью склер, появлением прямой реакции на билирубин. В отличие от болезни Боткина инфекция характеризовалась высокой контагиозностью, коротким инкубационным периодом и непродолжительностью гепатитного синдрома.

Вирусологически и серологически было обследовано 20 человек.

При заражении первично-трипсицинированных почеч эмбриона человека (КТПЭЧ) из проб фекалий были выделены 4 цитопатогенных агента, отличающихся от других кишечных вирусов своеобразным цитопатическим действием.

При размножении в однослойных клеточных культурах КТПЭЧ в почеч обезьян макака резус эти вирусы вызвали расщепление пласта и появление полигональных клеток с гранулированной протоплазмой.

В окрашенных гематоксилином и эозином препаратах в цитоплазме обнаруживались грубые, гомогенные оксифильные включения.

Вирусы не размножались на линиях клеток KB, HeLa и были не патогенны для однодневных мышей сосунков при заражении через рот, в мозг и внутрибрюшинно.

Они агглютинировали эритроциты человека при температуре (4°, 22°, 37°) в высоком титре (1 : 256—1 : 1024), но не агглютинировали эритроциты кур, морских свинок, барана, белых крыс и мышей.

В реакциях торможения гемагглютинации эталонная антисыв-

чоротк
гитра.
У
увелич
чоротк
Кр
юсь, 1
роток
му №
Им
штаму
штам
ные ат
но низ
В
ки со
№ 2—
На
инделе
ют со
зый по

Эт
пор не
были
лемиче
Соч
ностик
мическ
становл
Вир
полости
спинно
ки заб
Пор
риде се
(5 случ
вого не
раза ча
ческих

В РЕОВИРУСОВ НИЕМ, ТИРАТОРНЫМ- ЖЕНИЕМ ПЕЧЕНИ

ЛЬСКАЯ,
ИЦОВА

ые данные о роли
заболевания детей,
также с появлением
(1959)

на вспышка заболе-
ет, в ходе которой
анном коллективе.
алом, симптомами
намия, повторные
спираторные синд-
был отмечен еще и
вилась диарея с
У 22 из 38 человек
еся увеличением
трямой реакции на
фекция характер-
инкубационным пе-
синдрома.

детовано 20 чело-

их почек эмбриона
елены 4 цитопато-
ных вирусов свое-

очных культурах
сы вызывали рас-
еток с транслиро-

репаратах и цито-
сифильные вклю-

KB, HeLa и были
в при заражении

при температуре
но не агглютини-
та, белых крыс

галонная антисы-

воротка к реовирусу типа 2 ингибировала эти вирусы до $1/8$ — $1/16$
титра

У детей, от которых были выделены вирусы, было отмечено
увеличение вирус-нейтрализующих антител в 8 и более раз в сы-
воротке постреконвалесцентного периода.

Кроме того, у больных, от которых выделить вирус не уда-
лось, при серологических исследованиях в 18 из 20 парных сыво-
роток отмечено 4-х и более кратное нарастание антител к штам-
му № 3 — «Кудр».

Иммунная сыворотка морской свинки, полученная против
штамма № 3, содержала гомологичные антигемагглютинины к
штамму № 3 — «Кудр» в высоком титре (1:1024) и гетерологич-
ные антигемагглютинины для трех типов реовирусов в сравнитель-
но низком титре (1:32—1:64).

В реакциях нейтрализации иммунная сыворотка морской свин-
ки содержала вируснейтрализующие антитела только к штамму
№ 2 — «Кудр» в титре 1:30.

На основании полученных данных можно предполагать, что
выделенные вирусы относятся к группе реовирусов и представля-
ют собой или антигенный вариант реовируса 2-го типа, или но-
вый подтип.

ВИРУСОЛОГИЧЕСКАЯ И СЕРОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА НЕРВНЫХ ФОРМ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО ПАРОТИТА

С. А. ЛИХТОРОВИЧ, В. Г. МАКСИМЕЦ
(КИЕВ)

Этиология инфекционных заболеваний нервной системы до сих
пор не представляется достаточно изученной. Наши исследования
были направлены на выяснение этиологической роли вируса эпи-
демического паротита в возникновении этих заболеваний.

Сочетание вирусологических и серологических методов диаг-
ностики позволило установить этиологическую роль вируса эпиде-
мического паротита у 30,3% больных, по сравнению с 10,5%, ус-
тановленными при поступлении больных в стационар.

Вирус эпидемического паротита выделялся из смывов ротовой
полости и из спинномозговой жидкости удавалось чаще и в более поздние сро-
ки заболевания (в единичных случаях), чем из слюны.

Поражения нервной системы при эпидемическом паротите в
виде серьезных менингитов (35 случаев), менингоэнцефалитов
(15 случаев), полирадикулоневрита (1 случай) и невритов лице-
вого нерва (8 случаев) выявлены лабораторными методами в 2,9
раза чаще, чем они были диагностированы на основании клини-
ческих и (или) эпидемиологических данных.

8-1/16
ечено
в сы-
уда-
сыво-
там-
мотив
ны к
огич-
тель-
свин-
тиму
что
вля-
но-
сих
ния
эпи-
наг-
де-
ус-
вой
из
ро-
е в
тов
це-
2,9
ни-
41

ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ СЕРОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ К ИЗУЧЕНИЮ ЭРИТРОЦИТОТРОПИЗМА ВИРУСА ГЕПАТИТА

Д. Х. ФОМИН
(УЖГОРОД)

В связи с трудностью идентификации вирусов, выделяемых от больных инфекционным гепатитом, большой интерес представляет отмеченный впервые в лаборатории А. К. Шубладзе феномен эритроцитотропизма вируса гепатита (А. К. Шубладзе, В. А. Анашев и сотрудники, 1961-1963). О перспективности изучения этого феномена свидетельствуют результаты электронно-микроскопических исследований, проведенных Б. К. Беспрозваным и соавт. (1963), Паслю и соавт. (1962).

Наряду с преимуществами методы оптической и электронной микроскопии имеют и недостатки, в частности, невозможность определить специфичность выделенных материальных частиц. Поэтому нами предпринята попытка применения серологических методов исследования к изучению эритроцитотропизма вируса гепатита в экспериментальных условиях. С этой целью проведено изучение агглютинабельности эритроцитов куриных эмбрионов, инокулированных заразным материалом от больных вирусным гепатитом, с сыворотками больных и реконвалесцентов после болезни Боткина. Выбор куриного эмбриона в качестве экспериментальной модели обусловлен данными литературы и собственными материалами о выделении на куриных эмбрионах вирусов от больных инфекционным гепатитом людей (В. М. Жданов, 1948; Рейд, 1950; А. К. Шубладзе, 1950; Н. И. Ушеренко, 1960; Д. Х. Фомин, 1962 и др.).

Куриные эмбрионы 9-, 12- и 15-дневного возраста заражали на хорион-аллантоисную оболочку сывороткой крови больных инфекционным гепатитом людей (30 проб), обработанной 0,1 раствором ПСИ, или стерильно отмытыми эритроцитами (2 пробы), или нейтрализованным желудочным соком (9 проб), от больных гепатитом людей и лиц «контрольной» группы (20 проб донорской сыворотки). Каждой пробой вирусосодержащего или «контрольного» материала заражали по 3-4 эмбриона, всего использовано 479 эмбрионов. Эритроциты от каждого животного в момент вскрытия эмбриона исследовались в реакции гемагглютинации с многими сыворотками (от 6 до 30), каждая из которых испытана с эритроцитами 6-12 разных эмбрионов. Всего поставлено 2916 реакций гемагглютинации, в которых испытаны эритроциты 224 куриных эмбрионов.

Частота агглютинации эритроцитов незараженных эмбрионов достигала 23,0%, доверительный интервал (д. и.) — 15,—30,0% (Значение д. и. здесь и дальше указаны с вероятностью 95%). Примечателен факт, что эритроциты незараженных куриных эмбрионов агглютинировались почти одинаково часто сыворотками боль-

ных
вор
нит
рол
и 4
пов
ари
дем
же
вор
и 6
вор
ын
нов
вия
де
эл
что
ри
ри
ам
ав
ан
теп
стви
вор
I
онов
2 из
проб
ито
а
риш
саж
Связ
лича
эрит
нени
Г
луд
жите
куля
троц
воро
полу

ЕСКИХ МЕТОДОВ К ИСПЫТАНИЮ ЗА ГЕПАТИТА

сов, выделяемых от
интерес представля-
С. Шубладзе фено-
(А. К. Шубладзе,
эспективности изу-
баты электронно:
Б. К. Беспрозван-

кой и электронной
ги, невозможность
риальных частиц
ния серологическим
эритроцитам вирус
й целью проведени-
иных эмбрионов
ольных вирусных
есцентом после бо-
чество эксперимен-
ны и собственными
онах вирусом от
М. Жданов, 1948;
Хитренко, 1960.

озраста заражала
крови больных ин-
ботанной 0,1 раст-
татами (2 пробы),
проб), от больных
(20 проб донор-
щег или «контр-
на, всего исполь-
живого в момент
амагглютинации с
которых испытана
оставлено 2916
и эритроциты 224

енных эмбрионов
и.) — 15, — 30,0%
остью 95%). При-
куринных эмбрио-
ыворотками боль-

ных эпидемическим гепатитом людей и донорскими сыворотками.

Инокуляция куриных эмбрионов венозной противокоревой сывороткой в наших опытах снижала агглютинабельность эритроцитов этих эмбрионов для сывороток больных гепатитом и «контрольных» сывороток соответственно до 11,4% (д. и. 6,0—18,0%) и 4,7% (д. и. 2,0—11,0%). На этом фоне отмечено значительное повышение агглютинабельности эритроцитов куриных эмбрионов при заражении их вирусосодержащим материалом от больных эпидемическим гепатитом людей. Так, эритроциты эмбрионов, зараженных сывороткой больных гепатитом, агглютинировались сыворотками больных и реконвалесцентов после болезни Боткина в 68% (д. и. 58,0—77,0%), донорскими и противокоревыми сыворотками в 10,7% (д. и. 6,0—15,0%).

С целью изучения природы агента, изменившего в описанных выше опытах агглютинабельность эритроцитов куриных эмбрионов, были проведены дополнительные исследования. Возможность выявления этого агента серологическими методами свидетельствует о том, что ему присущи свойства антигена. Этот антиген не является нормальным компонентом сыворотки крови человека, на что указывают следующие данные:

При инокуляции сыворотками здоровых людей куриных эмбрионов агглютинабельность их эритроцитов, по сравнению с эритроцитами незараженных эмбрионов, не повышалась.

Из числа испытанных сывороток крови больных эпидемическим гепатитом не все при введении куриным эмбрионам вызывали повышение агглютинабельности их эритроцитов. Из 30 исследованных сывороток больных гепатитом только 10 дали положительный результат. Причем активность сыворотки или ее отсутствие проявлялось на всех эмбрионах, инокулированных этой сывороткой, при многократном повторении опытов.

Повышение агглютинабельности эритроцитов куриных эмбрионов вызывали не только сыворотки больных гепатитом, но также 2 из 2 испытанных проб эритроцитов крови и 2 из 9 испытанных проб желудочного содержимого от больных эпидемическим гепатитом людей.

Антиген, повышающий агглютинабельность эритроцитов куриных эмбрионов, способен передаваться в последовательных пассажах (до 8), что наводит на мысль о его вирусной природе. Связь антигена с эритроцитами инокулированных зародышей отличается прочностью, благодаря чему агглютинабельность таких эритроцитов не изменяется при многократном отмывании и хранении в рефрижераторе.

Проведенными исследованиями установлено, что в крови и желудочном соке больных инфекционным гепатитом людей содержится агент, по-видимому, вирусной природы, который при инокуляции его куриным эмбрионом способен фиксироваться на эритроцитах эмбриона и sensibilizировать их к агглютинам сывороток реконвалесцентов после болезни Боткина. На основании полученных экспериментальных данных разработана новая моди-

ми.
сы-
ро-
нт-
%)
ое
ов
ин-
а-
ы-
на
ы-жх
о-
ть
т-
е
а4-
с

н

н

н

н

н

н

н

н

н

н

н

н

н

н

н

н

н

н

н

н

н

н

н

н

фикация реакции гемагглютинации с сенсibilизированным *in vivo* эритроцитами куриных зародышей.

Дальнейшая идентификация агента, сенсibilизирующего *in vivo* эритроциты куриных эмбрионов, изучение интимного механизма взаимодействия его с эритроцитами и выяснение ряда других вытекающих отсюда вопросов является предметом наших дальнейших исследований.

ПРИМЕНЕНИЕ РЕАКЦИИ СВЯЗЫВАНИЯ КОМПЛЕМЕНТА ДЛЯ ОБНАРУЖЕНИЯ АНТИГЕН-ВИРУСА В СМЫВАХ ИЗ НОСОГЛОТКИ ПРИ ЭПИДЕМИЧЕСКОМ ГЕПАТИТЕ

И. К. ГИММЕЛЬФАРБ, Р. М. СЕЛЕЦКАЯ, Т. Е. ОНИЩЕНКО
(ОДЕССА)

Накопленные в настоящее время эпидемиологические и отчасти клинические наблюдения позволяют высказать предположение о возможности капельного механизма передачи инфекции при эпидемическом гепатите.

В качестве антигена для постановки РСК были использованы смывы из носоглотки с предварительной их адсорбцией на пермуте (натрий-алюмо-селикат), в качестве антисыворотки применялась иммунная антигепатитная (кроличья) сыворотка с предварительным ее контролем на отсутствие комплемент — связывающих антител к эталонным штаммам вируса гриппа А и В и аденовируса.

Исследование смывов носоглотки при помощи РСК у больных эпидемическим гепатитом позволило выявить наибольшее количество положительных результатов в первые дни желтушного периода. В дальнейшем количество положительных результатов значительно снижается, достигая минимума (единичные случаи) перед выпиской из стационара. Отсутствует взаимосвязь между положительным результатом исследований и тяжестью течения болезни.

Исследование смывов носоглотки у детей, соприкасавшихся с заболевшими или переболевшими эпидемическим гепатитом в очагах в дошкольных учреждениях показывает почти полное совпадение положительных результатов РСК с выявлением у них клинических признаков безжелтушной формы этого заболевания.

Длительность обнаружения антигена—вируса эпидемического гепатита в смывах из носоглотки при помощи РСК у клинически здоровых детей в очагах этой инфекции в детских дошкольных учреждениях непродолжительна. Обычно при повторных исследованиях через 1—2 недели РСК становится отрицательной.

В отдельных случаях положительная РСК со смывом из носоглотки предшествовала появлению через несколько дней как жел-

тушной
демиче
Да.
о при
ного у

Д
С

Из
доказе
для р
песе о
на по
сенов
прибег
являет
антиге
дежнь
фичес
Ис
ицефа
рмиэ.
туры з
ного к
месенх
го энц
почек
зывают
фибро
получи
Пр
шем, и
значен
шевых
туре п
тинаци
по Каз
то и з
на А п
упомяг
гемагг.
эти св

ированным in vi-
близирующего in
интимного меха-
низме ряда дру-
гих предметов наших

**ЫВАНИЯ
ЖЕНИЯ
ЮСОГЛОТКИ
АТИТЕ**

НИШЕНКО

огические и от-
звать предположе-
ния инфекции при

или использова-
адсорбцией на
исыворотки при
ыворотка с пред-
ент — связываю-
а А и В и адено-

РСК у больных
нболынее коли-
желтушного пе-
ых результатов
иничные случаи)
мосвязь между
кестью течения

оприкасавшихся
им гепатитом г
ркти полное сов-
явлением у них
ого заболевания.

эпидемического
Ж у клинически
их дошкольных
торных исследо-
ательной.

смывом из носо-
о дней как жел-

тушной, так и выраженных признаков безжелтушной формы эпи-
демического гепатита.

Дальнейшее накопление наблюдений позволит решить вопрос
применении этого метода для уточнения и оценки роли капель-
ного механизма передачи при эпидемическом гепатите.

ДИАГНОСТИКУМЫ АРБОРВИРУСОВ ДЛЯ РЕАКЦИИ СВЯЗЫВАНИЯ КОМПЛЕМЕНТА И ТОРМОЖЕНИЯ ГЕМАГГЛЮТИНАЦИИ ИЗ ТКАНЕВЫХ КУЛЬТУР

*С. Я. ГАЙДАМОВИЧ, В. Р. ОБУХОВА, В. А. ВАГЖАНОВА,
Г. Э. МЕЛЬНИКОВА, А. Н. ЛЬВОВА, В. П. УВАРОВ
(МОСКВА)*

Изучение размножения арборвирусов в тканевых культурах
показало, что они могут быть источником получения антигенов
для реакций связывания комплемента и гемагглютинации. Про-
цесс освобождения арборвирусов из клеток происходит непрерывно
по мере созревания вирусов, поэтому для приготовления анти-
гена можно использовать жидкость зараженных культур, не
прибегая к экстракции вируса из клеток. Существенным вопросом
является подбор культур, обеспечивающих высокое накопление
антигенов, питательных сред, не содержащих ингибиторов и на-
дежных методов инактивации инфекционности без потери специ-
фической активности препаратов.

Исследования, проведенные с вирусами клещевого, японского
энцефалитов, западным и венесуэльским американскими энцефа-
ломиялитами лошадей показали, что, в общем, первичные куль-
туры эпителиальных клеток обеспечивают получение более актив-
ного комплементсвязывающего антигена, чем культуры сомидно-
мезенхимного происхождения. Так вирусы клещевого и японско-
го энцефалитов на протяжении десятков пассажей в культурах
фибробластов эмбриона овцы обладают неизменно высокой комплементсва-
ывающей способностью, в то время как на культурах куриных
фибробластов активный комплементсвязывающий антиген можно
получить в первом пассаже.

При получении антигена для гемагглютинации выявлена, в об-
щем, сходная закономерность, однако, в отборе культур имеет
значение не только их происхождение из определенных зароды-
шевых листков, но вид культуры и свойства вируса. Так, в куль-
туре почек эмбриона овцы не обнаружено ингибиторов гемагглю-
тинации вирусов японского и клещевого энцефалитов (группа В
по Казалеу), но они имеются в отношении вирусов венесуэльско-
го и западного американского энцефаломиялитов лошадей (груп-
па А по Казалеу). Наоборот, в культурах куриных фибробластов
упомянутые вирусы из группы В уже во 2—3 пассажах теряют
гемагглютинирующую активность, а вирусы группы А сохраняют
эти свойства на протяжении не менее 10—12 пассажей.

Единым методом получения гемагглютинирующего антигена изучаемых нами вирусов является заражение культур куриных фибробластов взвесью мозга инфицированных мышей. При этом в культуральной жидкости накапливается гемагглютинин в титре 1:128 - 1:1024.

Методы инактивации инфекционных свойств гемагглютинирующего и комплементсвязывающего антигена различны. Бета-пропиолактон, пригодный для получения инактивированного комплементсвязывающего антигена, значительно снижает титр гемагглютинина. Вероятно гемагглютинины разрушаются под действием кислых продуктов гидролиза бета-пропиолактона. Гемагглютинины из культур ткани (в отличие от гемагглютининов из мозга мышей) стабильны при 37°C. Выдерживание при 37°C в течение 10--12 дней позволяет получить неинфекционные антигены для реакции торможения гемагглютинации. Комплементсвязывающий антиген при 37°C быстро разрушается.

Комплементсвязывающие антигены и гемагглютинины могут быть сконцентрированы с помощью фильтрации через покрытую агаром севчу и осаждением сериюхлещим амбулином или методом диализа против насыщенного раствора сахаразы. Последний метод дает нерегулярные результаты при концентрации гемагглютинина, видимо, из-за наличия в сахаразе ингибиторов гемагглютинации. Концентрация производится после инактивации. Сахароза является хорошим стабилизатором антигенов при сушке.

Исследования сывороток реконвалесцентов после клещевого энцефалита, везикулярного энцефаломиелита и везикулярного стоматита в РСК и РТГА с антигенами из тканевых культур показали их высокую специфическую активность.

ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ ТКАНЕВЫХ КУЛЬТУР ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ И ИДЕНТИФИКАЦИИ ВИРУСА КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА И НОВОГО КЕМЕРОВСКОГО ВИРУСА

Л. Г. КАРПОВИЧ, Г. И. СЕРГЕЕВА
(МОСКВА)

Активное размножение вирусов группы клещевого энцефалита (КЭ) во многих видах тканевых культур, сопровождающееся цитопатическим эффектом в ряде из них, открывает возможности для повседневного применения этого метода в диагностических целях.

Широкое использование тканевых культур в условиях экспедиционной работы в очаге клещевого энцефалита в Кемеровской области в 1962 году позволило, помимо значительного количества типичных штаммов вируса КЭ, выделить из клещей *Ixodes persulcatus*, а также из крови и спинно-мозговой жидкости больных несколько штаммов нового, своеобразного вируса, отличающегося от возбудителя КЭ (М. П. Чумаков с сотр. 1962, 1963 гг.)

Зад
слови
их диф
ходов
ние эн
Из
экспер
КЭ в
которо
или не
зараже
установ
чекский
клеток
Осо
его от
зается
рблае
или бл
их ку
или от
апатог
Учи
щих в
свинно
1) 1
жа) 2)
скому
мышей
б) 1
же кул
кратно
2) 1
латог
3) 1
мных
сажа).
Доп
ние во
фиброб
и срани
При
крови 1
ий из
магнн
наибол
под обс
бластов
са по ф

нирующего антигена
вне культур куриных
ых мышей. При этом
гемагглютиниции в титре

войств гемагглютини-
ена различны. Бета-
активированного ком-
э снижает титр гемаг-
ушаются под действи-
иолактона. Гемагглю-
игглютининов из мозга
е при 37°C в течение
онные антигены для
Комплементсвязываю-

магглютиниции могут
ации через покрытую
мошем или методом
розы. Последний ме-
центрации гемагглю-
е ингибиторов гемаг-
сле инактивации. Са-
нтигенов при сушке.
тов после клещевого
ита и везикулярного
гканевых культур по-
ть.

Х КУЛЬТУР ЦИИ ВИРУСА КЕМЕРОВСКОГО

ЕВА

тещевого энцефалита
овожающемся цито-
ает возможности для
агностических целях.
р в условиях экспе-
лита в Кемеровской
чительного количест-
из клещей Ixodes
овой жидкости боль-
го вируса, отличаю-
сотр. 1962, 1963 гг).

Задачей данных исследований являлся подбор оптимальных условий для изоляции вируса КЭ и кемеровского вируса, быстрой их дифференциации и идентификации и апробация выбранных методов при обследовании различных материалов из очага в течение эпидемического сезона.

Из данных, имеющихся в литературе и в проведенных нами экспериментах, было установлено активное размножение вируса КЭ в культурах фибробластов куриного эмбриона, индикацией которого могут служить реакция интерференции с вирусом WEE или некоторыми другими цитопатогенными вирусами, а также заражение мышей культуральной жидкостью. Кроме того, было установлено, что вирус КЭ размножается и вызывает цитопатический эффект в культурах первичных и перевиваемых почечных клеток эмбриона свиньи.

Особенностью кемеровского вируса, легко дифференцирующей его от возбудителя клещевого энцефалита уже при изоляции, является выраженная цитопатогенная активность в культурах фибробластов куриного эмбриона. Четкий цитопатический эффект или бляшки при культивировании по Дульбекко появляются в этих культурах через 48-72 часа после заражения вирусом. Другим отличием кемеровского вируса от возбудителя КЭ является патогенность его для взрослых 7-9 гр. белых мышей.

Учитывая эти особенности вирусов, обследование поступающих в лабораторию материалов (иксодовые клещи, кровь и спинно-мозговая жидкость больных) проводилось:

1) в культурах фибробластов куриного эмбриона (2-3 пассажа) а) с индикацией в них кемеровского вируса по цитопатическому эффекту с последующим заражением новорожденных белых мышей и куриных эмбрионов и

б) с индикацией вируса КЭ по реакции интерференции в этих же культурах со 100 ТПД₅₀ вируса WEE, а также путем однократного заражения белых мышей культуральной жидкостью;

2) в культурах почек эмбриона свиньи (2-3 пассажа) по цитопатогенному действию и

3) в качестве контроля в биологических опытах на 7-9 граммовых белых мышах при внутримозговом их заражении (2-3 пассажа).

Дополнительной задачей наших исследований являлось изучение возможности изоляции кемеровского вируса в культурах фибробластов куриного эмбриона методом бляшек по Дульбекко и сравнение чувствительности этого метода с перечисленными.

При обследовании указанными методами более 100 образцов крови и спинно-мозговой жидкости больных и около 300 суспензий из единичных и объединенных в партии по 10 экземпляров имагинальных стадий иксодовых клещей было установлено, что наиболее чувствительным для выделения вируса КЭ является метод обогащения инфекционного материала в культурах фибробластов куриного эмбриона с последующим обнаружением вируса по феномену интерференции с вирусом WEE или путем одно-

ных
рой
ме-
че-ими
уса
ией
ЕЕ
же
кто
ти-
ыхтей
ав-
иб-
ки
ю-
сяю-
иа-
те-
яхих
о-
ю:
и-м-
с-е-
их
со
и.
эв
н-эв
го
е-
о-
у-
э-
47

кратного заражения белых мышей. Несколько меньший процент изоляций вируса КЭ в культурах почек эмбриона овиньи по прямому цитопатическому действию может быть объяснен возможной вариабельностью цитопатогенной активности различных штаммов. Следует отметить, однако, что количество штаммов вируса КЭ, выделенных по цитопатогенному действию в этих культурах, практически совпадало с количеством штаммов, изолированных в биологических опытах на мышах.

Использование комплекса указанных методов позволило также выделять в эпидсезоны 1962-63 гг. несколько штаммов нового кемеровского вируса.

Наиболее пригодной для изоляции этого вируса следует считать культуру фибробластов куриного эмбриона, регистрация цитопатического эффекта или бляшек в которой сразу позволяет дифференцировать кемеровский вирус от возбудителя КЭ.

Выделение двух штаммов кемеровского вируса в культурах клеток куриных эмбрионов под агаром (по Дюльбекко) дает основание считать этот метод изоляции не менее чувствительным, чем культивация исследуемого материала в этих же культурах в присутствии жидкой питательной среды.

Тканевые культуры были использованы также для идентификации выделенных штаммов, которая проводилась с помощью реакции нейтрализации цитопатогенной, бляшкообразующей и интерферирующей активности вирусом гемологичными иммунными сыворотками.

О ПРИРОДЕ ГЕМАГГЛЮТИНАЦИОННЫХ И ФЕРМЕНТАТИВНЫХ СДВИГОВ ПРИ БОЛЕЗНИ БОТКИНА

Д. Б. ГОЛУБЕВ, М. А. ШЛЯНКЕВИЧ, И. П. ГРОНИН
(ЛЕНИНГРАД)

При эпидемическом гепатите (болезни Боткина) в крови больных возникают многообразные ферментативные сдвиги и появляются гемагглютинины к эритроцитам различных животных (обезьян, баранов, кур). Каждое из указанных явлений в отдельности подробно изучено (А. К. Шубладзе, В. А. Ананьев и др., 1958—1963; М. Д. Алейник и З. Е. Таранюк, 1960; Д. Б. Голубев, 1958—1963; Хойт и Моррисон, 1956—1962; Хавенс, 1958—1960; К. Г. Канетанаки, 1960—1964 и т. д.).

В настоящем сообщении приводятся данные комплексного обследования 700 больных острой формой болезни Боткина с помощью трех ферментных и трех гемагглютинационных проб (определение активности альдолазы, двух трансаминаз, постановка реакции гемагглютинации с эритроцитами обезьян, барана и кур).

Результаты исследования показывают, что в изученных показателях по частоте положительных реакций, а также по степени выраженности каждой реакции в отдельности, в зависимости от

прок
ду:
ные
реак
с на
реак
тами
О
дают
мин
И
ым
явля
магг
раже
недо
логи
слю
ране
Б
ова
они
ными
исхо.
С
ема
ата
руп
ции
сочет
мвол
кина
И
мент
тата
дубе
взаи

Р

П
виру
дала
4—145

ньший процен
винный по при
иснен возмож
изличных шта
таммов виру
в этих куль
гаммов, изоли

ов позволило
лько штаммов

а следует счи
регистрация
разу позволяет
ля КЭ.

в культурах
кко) дает ос
вствительным
се культурах в

для идентифи
помощью ре
зюющей и ин
и иммуными

ИХ И БОТКИНА НИИ

а) в крови
сдвиги и по
ых животных
ний в отдель
Ананьев и др.
Д. Б. Голубев,
с, 1958—1960.

плексного об
Боткина с по
ых проб (оп
з, постановка
барана и кур).
ученных пока
ке по степени
зависимости от

сроков заболевания распадаются на две группы. В первую груп
пу — с наибольшей частотой положительных реакций в началь
ные периоды заболевания попадают ферментативные сдвиги и
реакция гемагглютинации с куриными эритроцитами, во вторую —
с наибольшей выраженностью в поздние периоды заболевания —
реакция гемагглютинации с бараньими и обезьяньими эритроци
тами.

Отмеченные особенности изученных показателей подтверж
даются также у больных в связи со сроками заражения и вирусен
нии (по материалам Кругмана и сотр. 1961—1963 гг.)

Из всех объективных появлений эпидемического гепатита пер
выми — после обнаружения вируса в крови и фекалиях больного
являются ферментативные сдвиги и положительные реакции ге
магглютинации с куриными эритроцитами (31—33 день после за
ражения). Они возникают до первых проявлений функциональной
недостаточности печени (38—39 день после заражения) и морфо
логических изменений печеночной паренхимы (41—40 дни). Гемаг
глютинины к обезьяньим и бараньим эритроцитам возникают не
ранее 60 дня после заражения.

Биохимическое, иммунологическое и иммунохимическое иссле
дование гемагглютининов к куриным эритроцитам показало, что
они не являются ни вирусными гемагглютинидами, ни гетерофиль
ными антителами, а представляют собой белки человеческого про
исхождения, отличные от ранее известных сывороточных факторов.

Одновременное ранее появление ферментативных сдвигов и
гемагглютининов к куриным эритроцитам при болезни Боткина,
а также данные о природе последних, позволяют трактовать эту
группу явлений как реактивные показатели непосредственной реак
ции клеток на вирусное воздействие и делают обоснованным их
сочетанное использование в лабораторной, клинической и эпиде
миологической практике для раннего распознавания болезни Бот
кина.

Изложенный взгляд на природу гемагглютинационных и фер
ментативных сдвигов при болезни Боткина согласуется с резуль
татами экспериментального изучения (М. А. Шлянкевич, Д. Б. Го
лубев, 1963—1964) и позволяет рассматривать их как показатели
взаимодействия вирусов и клеток в организме больного.

РЕЗУЛЬТАТЫ РАБОТ ПО ПОЛУЧЕНИЮ И ИЗУЧЕНИЮ ПРЕПАРАТА ДЛЯ ВНУТРИКОЖНОЙ ПРОБЫ ПРИ ЭПИДЕМИЧЕСКОМ ГЕПАТИТЕ

И. И. КРИВАЯ-УШЕРГЕНКО
(ОДЕССА)

Примененная нами методика заражения куриных эмбрионов
вирусосодержащей кровью больных эпидемическим гепатитом соз
дала условия для осуществления длительных пассажей вируса.

уп-
ль-
и
и
ци-
ж-
се-
ер-
го
ге-
за-
ой
ю-
аг-
не
е-
то
ль-
ю-
юв.
и
ла,
ту
к-
их
е-
т-
р-
ь-
о-
ти

Это позволило получить достаточное количество аллантоисной жидкости зараженных эмбриональных культур для изучения некоторых свойств пассируемого вирусного агента, а также приготовить препарат для постановки внутрикожной пробы при эпидемическом гепатите.

Полученный препарат представляет собою аллантоисную жидкость куриных эмбрионов, зараженных вирусным агентом различных пассажей. Жидкость разведена физиологическим раствором в отношении 1:10 и инактивирована кипячением. Контроль на отсутствие активного агента в препарате производился при помощи заражения куриных эмбрионов.

Всего приготовлено и изучено 14 серий препарата для внутрикожной пробы при эпидемическом гепатите. Не все серии обладали одинаковой активностью.

При внутрикожном введении 0,1 мл препарата больным эпидемическим гепатитом через сутки в месте введения отмечается реакция в виде покраснения, отека и инфильтрата величиной 1 см и более в диаметре.

Экспериментальное изучение свойств приготовленного препарата позволило выяснить его аллергенную природу. Положительная внутрикожная реакция, по-видимому, является показателем аллергической перестройки организма в результате наличия или встречи в прошлом с инфекционным агентом.

Положительная реакция на внутрикожное введение препарата имела место у большинства обследованных больных эпидемическим гепатитом.

Внутрикожная проба была ярче выражена в первые три недели от начала заболевания. Положительная реакция на первой неделе болезни регистрируется у 81% больных эпидемическим гепатитом, на второй неделе у 71% и на третьей — у 65%. В последующие сроки реакция постепенно угасала и больные выписывались при отрицательной реакции. Однако положительная реакция отмечена и у реконвалесцентов. Исследования показали, что лица, которые выписывались с отрицательной кожной пробой, через 2 месяца после выписки положительно реагировали на введение препарата.

Положительная внутрикожная проба получена у лиц, перенесших эпидемический гепатит 5—10 лет назад.

С диагностической целью внутрикожную пробу следует применять, как показали наши наблюдения, в динамике болезни. Повторные отрицательные результаты ставят под сомнение диагноз эпидемического гепатита. Особый интерес представляют отрицательные кожные реакции на введение препарата у больных с новообразованиями печени.

Положительная кожная реакция отмечена у некоторых лиц с заболеваниями печени и желчевыводящих путей, что, возможно, связано с перенесенным эпидемическим гепатитом в прошлом.

Положительная кожная реакция получена и у контактных в очагах эпидемического гепатита при наличии некоторых клиниче-

ски:
ча
нев-
готс
дил
мед
на
ния
Е. I
сти-
фек
ван
лез
и д
rea
ния
эмб
нит
ног
та
ляк
лек
теу

тор
име
нар
(Е.
ся
нос
зна
А.

фа:
энц
фек
ств:

во аллантоисной
для изучения не-
и, а также приго-
пробы при эпи-

лантоисную жид-
им агентом раз-
огическим раство-
чением. Контроль
производился при

арата для внутри-
е все серии обла-

а больным эпиде-
ения отмечается
ытрата величиной

овленного препа-
оду. Положитель-
и показателем
ате наличия или

едение препарата
ных эпидемиче-

первые три неде-
ия на первой не-
идемическим ге-
у 65%. В после-
льные выписыва-
ательная реакция
казали, что лица,
пробой, через 2
али на введение

а у лиц, перенес-

у следует приме-
ке болезни. По-
омнение диагно-
ставляют отрица-
у больных с но-

некоторых лиц с
и, что, возможно,
том в прошлом.
у контактных в
которых клиниче-

ских, лабораторных и эпидемиологических подтверждений встре-
чи с инфекционным агентом.

Проведена проверка препарата в ряде инфекционных и тера-
певтических отделений. Исследования в клинике при помощи при-
готовленного нами препарата для внутрикожной пробы прово-
дили Р. П. Наумова (клиника инфекционных болезней Одесского
мединститута, число обследованных лиц — 900), Н. А. Косарихи-
на (клиника инфекционных болезней Института Усовершенствован-
ия врачей г. Запорожье, число обследованных лиц — 119),
Е. И. Барба (терапевтическая клиника Тернопольского Медин-
ститута, число обследованных лиц — 84), Л. А. Булгаковой (ин-
фекционное отделение Крымского Мединститута, число обследо-
ванных лиц — 52), В. А. Кириленко (клиника инфекционных бо-
лезней Винницкого Мединститута, число обследованных лиц — 100)
и др. Указанные авторы отмечают положительную внутрикожную
реакцию у большинства больных эпидемическим гепатитом.

Получение положительной внутрикожной пробы при примене-
нии аллергена из зараженной аллантоисной жидкости куриных
эмбрионов у больных эпидемическим гепатитом является допол-
нительным подтверждением специфичности выделенного вирус-
ного агента.

Результаты наблюдений по применению полученного препара-
та для внутрикожной пробы при эпидемическом гепатите позво-
ляют сделать вывод о перспективности его использования в комп-
лексе обследования с диагностической целью в клинической и эпи-
демиологической практике.

ВИРУСОЛОГИЧЕСКОЕ ОБСЛЕДОВАНИЕ ДЕТЕЙ, БОЛЬНЫХ ОСТРЫМ ЭНЦЕФАЛОМИЕЛИТОМ

Г. Н. БЫЧКОВА, Т. Н. КРУПИНА, Л. В. САЛТЫКОВА
(МОСКВА)

Острый энцефаломиелит является тяжелым заболеванием, ко-
торое наблюдается как у взрослых, так и у детей. В литературе
имеются различные взгляды на природу этого заболевания. Так,
наряду с изучением иммунологических особенностей организма
(Е. Н. Петте и Бауер, 1959; Д. А. Марков, 1962 и др.), проводят-
ся исследования по выявлению инфекционного фактора. В част-
ности, в возникновении острого энцефаломиелита утверждается
значение вирусной инфекции (М. С. Маргулис, В. Д. Соловьев,
А. К. Шубладзе, 1959).

Однако данные вирусологических изучений при остром энце-
фаломиелите касаются только взрослых людей. У детей, у которых
энцефаломиелит протекает с наиболее выраженной картиной ин-
фекционного процесса, вирусологические обследования по суще-
ству не проводились.

Для изучения этого заболевания у детей, наряду с клинико-

:тре-

ера-
при-
ово-
кого
ихи-
ова-
(19),
дин-
(ин-
едо-
бо-
100)
нуюене-
ных
тол-
рус-гра-
зво-
мп-
пи-ко-
уре
ак,
зма
ят-
ист-
тся
ев,це-
ых
ин-
це-ко-
51

эпидемиологическим) изучением, нами были проведены и вирусологические исследования. Под наблюдением находилось 89 больных острым энцефаломиелитом детей в возрасте от 8 месяцев до 14 лет.

Вирусологические и серологические обследования проводились в динамике. Материалом для выделения вирусов являлись спинномозговая жидкость и кровь больных; в смертельных случаях мозговая ткань.

Засевы производились на различные тканевые культуры, куриные эмбрионы и эти материалы одновременно испытывались на лабораторных животных. Сыворотки крови изучались в реакции нейтрализации в опытах с заражением белых мышей смесью сывороток с различными разведениями вируса.

Обследовано 89 детей в различные периоды заболевания. В остром периоде обследовано 52, в периоде обострения — 23 и в хронической стадии болезни 14 человек.

В итоге этих исследований выделено 2 вируса. Вирус, обозначенный нами как штамм «Тяп», выделен из спинномозговой жидкости и крови ребенка — Т-ной, 7 лет, на 5 день заболевания, клинически диагностированного как первичный миелополиорядикулоневрит. Вирус выделялся как в опытах заражения белых мышей в мозг, так и на куриных эмбрионах и в культуре кожно-мышечной ткани человеческого эмбриона. По антигенным свойствам вирус отнесен к группе вирусов ОЭМч (острый энцефаломиелит человека), выделенных нами ранее от больных острым энцефаломиелитом.

Второй вирус, обозначенный как штамм «Мир», выделен из спинномозговой жидкости ребенка М-на, 1 г. 6 мес., на 16 день от начала заболевания. Клинический диагноз — первичный диссеминированный миелит. В данном случае вирус выделен при внутримозговом заражении белых мышей и идентифицирован как вирус простого герпеса, который по установленной в лаборатории номенклатуре отнесен к первой антигенной группе.

Ввиду того, что большинство обследованных больных были дети, которые поступили в клинику в периоде заболевания, когда возможность выделения вируса была мало вероятной, были обследованы их сыворотки на наличие специфических антител к известным вирусам группы ОЭМч. В этих исследованиях имелось в виду ретроспективно выявить участие данного вируса в процессе возникновения заболевания.

Были обследованы сыворотки крови от 42 больных острым энцефаломиелитом детей, взятой не менее 2 раз в течение болезни. В 2 случаях обнаружены специфические антитела к вирусу группы ОЭМч — штамм «СВ»: у ребенка С-а — 11 лет на 72 день от начала заболевания ($Y K=104,7$), у ребенка А-на, 13 лет, вируснейтрализующие антитела определялись через год после начала заболевания ($Y R=128,9$).

Следует отметить, что положительные серологические находки у детей были обнаружены в отдаленные сроки заболевания.

52

до:
ост
ми
гер
тол
ли:
ни:
пико:
ку:
сер
стиР
СТв Р
ств
вичго
сви
ри
новвоз
дом
196:
зал
из
риа
тери
гичеI
стел
из
теор
прог
С
свой
в 19

оведены и вирусологические исследования 89 больных от 8 месяцев до

вания проводились в являлись спинно-мозговых случаях моз-

е культуры, курицы испытывались на чались в реакции мышей смесью

ды заболевания. остросния — 23 и в

а. Вирус, обозначенно мозговой жидкостью заболевания, клонировали культуры белых мышей ре кожно-мышечным свойствам висцерального энцефалита центральным энцефалитом

р», выделен из мес., на 16 день первичный диссеминация выделен при внутримозговом как вирус в лабораториях

е. Больных были заболевания, когда ятной, были обильных антител к из-за наличия имелось вируса в процес-

больных острым з течение заболевания к вирусу лет на 72 день и-на, 13 лет, в год после на-

гические находки заболевания.

Таким образом, в итоге проведенных вирусологических исследований удалось выделить вирус герпеса от ребенка с диагнозом острый диссеминированный менингит и от ребенка с диагнозом мениоэнцефалит выделен своеобразный вирус, по антигенным свойствам относящийся к группе вирусов ОЭМч. Кроме того, у двух детей четко обнаружены специфические вируснейтрализующие антитела. Таким образом, вирусологические исследования позволяют с достоверностью выделить детей, причиной болезни у которых являлся вирус группы ОЭМч и вирус герпеса.

Полученные данные показывают необходимость применения комплекса методов вирусологического исследования (заражение культур тканей, куриных эмбрионов, лабораторных животных и серологические реакции), что обеспечивает наибольшие возможности обнаружения вируса в остром периоде болезни.

НОВЫЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ОСНОВЫ ВЫЯВЛЕНИЯ СТЕПЕНИ ВИРУЛЕНТНОСТИ ШТАММОВ ВИРУСОВ ГРУППЫ КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА

А. И. ИВАНЕНКО, И. П. ЛАДЫЖЕНСКАЯ, Л. Я. ЯБЛОНОВСКАЯ
(МОСКВА)

Вирусы группы клещевого энцефалита активно размножаются в различных культурах клеток, не вызывая цитопатического действия (Иваненко А. И. и Лутикова — 1956; Засухина и Левкович — 1957; Анджапаридзе О. Г. и Богомолова — 1961, 1962 и др.).

Четко выраженное цитопатическое действие вируса клещевого энцефалита имеет место в культурах клеток почек эмбриона свиньи (Иваненко А. И. с сотрудниками — 1960, 1962; Керриш — 1960; Анджапаридзе О. Г. и Богомолова — 1961; Семенов Б. Ф., Карасева П. С. и др. — 1961, 1963).

Экспериментальные исследования последних лет показали возможность селекции вируса клещевого энцефалита (КЭ) методом «бляшкообразования» (Maуег — 1961; Степанова — 1962; 1963; Логнинова — Парина — 1964 и др.). Эти исследования показали возможность получения генетически чистых линий вируса КЭ из исходных штаммов. Однако, полученные методом «бляшек» варианты штаммов группы вируса КЭ имеют своеобразную характеристику и иногда резко отличаются по основным иммуно-биологическим свойствам от исходного вируса КЭ.

Изыскание новых экспериментальных методов для выявления степени патогенности штаммов группы вирусов КЭ, выделенных из различных источников, является неотложной задачей как в теоретическом, так и в практическом аспекте — для получения и проверки аттенуированных вакцинных штаммов.

С этой целью нами были изучены некоторые биологические свойства Малайского вируса, штамма TP-21, выделенный в 1956 г. G. Smith из клещей — переносчиков *Ix. Granulatus* и ви-

сле-
эзом
этом
нти-
оме
тра-
ова-
лез-

ния
ние
х и
но-

Я
ты

гся
эй-
ко-
).
зо-
на
(е-
те-

ли
о-
2;
а-
Э
а-
к-
о-

ия
IX
в
и

е
й
г-
53

руса двухволнового менингоэнцефалита, штамм «Абсеттаров», выделенный в 1951 г. из крови больного человека.

- Эксперименты были проведены:
- 1. На культурах клеток почек эмбриона свиньи (ПЭС);
- 2. На культурах клеток куриных фибробластов (ФКЭ);
- 3. На чистопородных линиях мышей (БАЛБ) и на обычной «смешанной» линии белых мышей.
- 4. На нейроэктодермальных опухолях ЦНС мышей, полученных Л. Я. Яблоновской.

Проведенные исследования показали, что при пассажах на культуре клеток (ПЭС, ФКЭ) выявляются высоко вирулентные популяции Малайского вируса, что характеризуется проявлением способности культурального варианта вируса вызывать заболевание мышей при внутрибрюшинном заражении и цитопатические изменения в клетках ФКЭ, что несвойственно исходному Малайскому вирусу.

Повышение вирулентных свойств этого вируса подтверждается и в опытах на нейроэктодермальных опухолях ЦНС мышей. Культуральный вариант Малайского вируса вызывает деструктивные изменения в клетках опухолей, тогда как исходный штамм этого вируса не вызывал ни торможения роста опухоли, ни онколитического действия.

В контрольных опытах с оригинальным патогенным штаммом «Абсеттаров» отмечено значительное торможение роста опухоли мозга мышей и резкие дегенеративно-дистрофические изменения опухолевой ткани.

Следовательно, результаты эксперимента позволяют считать, что исходный штамм TP-21 Малайского вируса представляет собой смесь генетически неоднородных популяций; последнее подтверждается селекцией более вирулентных частиц вируса при пассажах на культуре клеток тканей.

Для практических целей, примененные нами методы исследования могут являться основой для разработки теста оценки степени вирулентности штаммов группы КЭ, что имеет особое значение при рекомендации штаммов вируса для изготовления живых вакцин против клещевого энцефалита.

ПРИМЕНЕНИЕ РЕАКЦИИ ПОГАШЕНИЯ ГЕМАГГЛТИНАЦИИ И АЛЛЕРГИИ В ДИАГНОСТИКЕ И ЭПИДЕМОЛОГИИ КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА

С. П. КАРПОВ
(ТОМСК)

В иммунологии клещевого энцефалита наряду с реакциями нейтрализации и связывания комплемента в последнее время широко стала применяться реакция погашения гемагглютинации (РПГА), в разработке методики постановки которой принимал участие ряд исследователей (Дж. Казалс, Л. Броун, Б. Кларк,

М. Т
Е
чие
на в
А
1960
рата
В. Ф
иссл
А. Р
гань
имм
фал
при
С
лич
с др
ного
релл
биол
I
при
до 9
ем д
тема
меся
нока
мич
от н
Е
у бо
лы г
муни
ном
ходи
титр.
М
го кл
резу:
орга
При
стерт
орга
тель
П
слеу
вторс
Бс
не им

мм «Абсеттаров», вы-
та.

звиньи (ПЭС);
астов (ФКЭ);
ЛБ) и на обычной

ИС мышей, получен-

при пассажах на
ысоко вирулентные
изучается проявлением
вызывать заболева-
и и цитопатические
исходному Малай-

уса подтверждается
ях ЦНС мышей.
зывает деструктив-
исходный штамм
опухоли, ни онко-

гоенным штаммом
ние роста опухоли
ические изменения

озволяют считать,
представляет со-
и; последнее под-
и вируса при пас-

методы исследо-
теста оценки сте-
имеет особое зна-
готовления живых

АГГЛТИНАЦИИ ДЕМОЛОГИИ

у с реакциями
еднее время ши-
гемагглютинации
орой принимал
роун, Б. Кларк,

М. Тейлор, А. Сальманен, С. А. Ананян, В. И. Ильенко и др.).

В 1956 году Е. Н. Левкович и Е. С. Сарманова показали нали-
чие при клещевом энцефалите специфической аллегрии и указали
на возможность использования ее для целей диагностики.

А. А. Стеткевич в Томском институте вакцин и сывороток в
1960 году разработал методику изготовления очищенного препа-
рата аллергена из вируса клещевого энцефалита и совместно с
В. Ф. Терентьевым испытал его. Эти две реакции, рядом томских
исследователей (А. А. Селезнева, А. А. Стеткевич, Л. М. Мурина,
А. Р. Явья, В. С. Нестеров) под нашим руководством были испы-
таны в диагностике клещевого энцефалита, определения степени
иммунитета при вакцинации мозговой и тканевой противоэнце-
фалитной вакциной и определения иммунологической структуры
природных очагов клещевого энцефалита.

С целями диагностики РПГА была испытана у больных раз-
личными формами клещевого энцефалита (481), а также больных
с другой этиологией (139) и здоровых лиц (1701). У значитель-
ного количества обследованных людей эта реакция ставилась па-
раллельно с реакцией связывания комплемента (РСК), реакцией
биологической нейтрализации (РБН) и реакцией аллегрии (РА).

По исследованиям, проведенным в разные годы, эта реакция
при клещевом энцефалите дала положительные результаты от 80
до 93,1%. При всех формах клещевого энцефалита, за исключени-
ем двухволнового течения, имеет место быстрое нарастание анти-
гемагглютининов и наличие их на одном уровне в течение 1—2
месяцев. При двухволновом течении болезни имеют место низкие
показатели всех серологических реакций в первую волну и дина-
мичное нарастание их во вторую волну, в течение 1—2 месяцев
от начала второй фазы болезни.

На территории, неблагоприятной по клещевому энцефалиту,
у больных различными лихорадочными заболеваниями РПГА бы-
ли положительной у 44,6%. Как известно, и другие реакции им-
мунитета (РБН, РСК) в этих условиях также дают в значитель-
ном проценте положительные результаты. В связи с этим необ-
ходимо ее ставить с парными сыворотками и только нарастание
титра имеет диагностическое значение.

Метод аллегрической диагностики был испытан у 421 больно-
го клещевым энцефалитом и в 75,6% был получен положительный
результат. Было показано, что при стертой форме аллегризация
организма остается на высоком уровне во все сроки заболевания.
При менингеальной форме она несколько ниже (66%), чем при
стертой. При формах с очаговыми поражениями аллегризация
организма нарастает медленно при невысоком проценте положи-
тельных результатов (32%).

При двухволновом течении нарастает к 4 неделе до 83% с по-
следующим резким снижением до 20% к 6 месяцам от начала
второй фазы заболевания.

Большого диагностического значения повторная постановка РА
не имеет, так как преобладающими формами болезни являются

нали-
изали

ок в
депа-
но с
ских
ина,
спы-
пени
нце-
гуры

раз-
ных
ель-
ла-
цией
РА).
ция
г 80
ени-
нти-
—2
кие
на-
цев

ту,
бы-
им-
ль-
об-
ние

но-
ый
дия
ия.
три
дия
ки-

по-
ла

РА
гся
55

стертая и менингеальная, при которых аллергизация организма наступает быстро и обычно держится на одном уровне во все сроки заболевания. При использовании РА с диагностическими целями необходимо учитывать, что аллергизация организма имеет место и при бытовой иммунизации. Так, у городского населения, мало контактировавшего с природой, она была положительной у 24%, лишь в сельской местности этот процент колеблется от 19,6 до 90,9% в зависимости от эпидемиологической напряженности очага. В связи с этим РА должна применяться вместе с другими диагностическими методами.

Эти две реакции (РПГА и РА), несложные по выполнению должны широко использоваться и для определения специфической перестройки организма в результате вакцинации или бытовой иммунизации.

Имеющиеся материалы по определению специфической перестройки организма в результате иммунизации противэнцефалитной мозговой вакциной показывают, что при исходном фоне у прививающихся (РПГА — 27,6%, РА — 27,2%, РСК — 27,4% РБН — 19,0%) в течение первых трех месяцев после вакцинации в среднем РПГА наблюдалась у 54,5%, РА — 50,6%, РСК — 56%; и РБН — 57,4%. В период времени от 6 до 12 месяцев показатели были соответственно 41,8%, 52,4%, 55,7% и 52,4%. Следует указать, что в зависимости от исходного состояния специфической реактивности организма имеют место колебания всех тестов в сторону уменьшения или увеличения от средних цифр.

Нами накоплен значительный материал и по использованию этих реакций в качестве тестов по определению иммунологической структуры природных очагов. В зависимости от интенсивности циркуляции вируса клещевого энцефалита в очаге РПГА у населения колебалась от 49,3% до 90,3%, а РА от 19,6 до 90,9%. Имеющиеся материалы по сопоставлению заболеваемости клещевым энцефалитом, вирофорности клещей и количеством положительной РПГА у населения и сельскохозяйственных животных показывают наличие корреляции. В эпидемиологически напряженных очагах с большой вирофорностью клещей имеет место около 100% положительная РПГА у скота и в 80% у населения.

Изучение РПГА и РА как диагностических методов и тестов, определяющих специфическую перестройку организма под влиянием вируса клещевого энцефалита, показывает, что они выявляют различные иммунобиологические состояния. Степень и длительность их колеблются в зависимости от ряда причин (свежесть и длительность контакта с инфекцией, состояние реактивности организма и т. д.). В связи с этим совпадение тестов бывает в различном проценте. Так, например, при определении иммунологической структуры очагов имело место совпадение РА и РПГА от 43,7 до 88,8%, а с РСК от 22,2 до 37,0%.

Представленные материалы показывают, что РПГА и РА должны найти соответствующее распространение как в диагностике клещевого энцефалита, так и в эпидемиологии.

И
дова
виру
тка
Ноз
Е
обла
дова
ния
Рен
В ог
шеч
ки и
КЭМ
И
мозг
В
шее:
1.
в бо
жидк
деля.
2.
оказ
тов «
(как
ли ок
раже
3.
тельн
4.
переч
удало
при с
(16 п
ного
5.
фибр
в чаш
ражен
ния и
ния п
Этот с
альны.

РАЗМНОЖЕНИЕ ВИРУСА ЛИМФОЦИТАРНОГО ХОРИОМИНИНГИТА В КУЛЬТУРАХ КЛЕТОК

Н. Ф. МАКСУЛОВА, О. П. ПЕТЕРСОН
(МОСКВА)

Несмотря на широкое применение в вирусологических исследованиях метода тканевых культур работы по культивированию вируса лимфоцитарного хориоменингита в культуре различных тканей единичны (Eagle et al., 1956; Ackermann, 1960; Benson, Hozchin, 1960; Benda R., Cinatl J., 1962).

В настоящей работе предприняты попытки подобрать ткань, обладающую чувствительностью к вирусу ЛХМ, проведены исследования по адаптации вируса к культуре ткани с целью получения цитопатогенного действия. Изучалось также влияние лучей Рентгена на репродукцию вируса ЛХМ в культурах клеток. В опытах использовали первично три сининизированные кожно-мышечные ткани куриного эмбриона, почки эмбриона морской свинки и перевиваемые клеточные штаммы HeLa, KB, Chang, СОЦ, КЭМ, А₁ и мышечные фибробласты «L».

Исходным материалом для заражения служила суспензия мозга мышей, зараженных вирусом ЛХМ, штамм «522».

В результате проведенных исследований установлено следующее:

1. Вирус ЛХМ в большей или меньшей степени размножается в большинстве испытанных культур клеток. Как в культуральной жидкости, так и в самих клетках максимум инфекциозности определяется на 4—8 день после заражения.

2. Наиболее чувствительной к штамму «522» вируса ЛХМ оказалась перевиваемая линия клеток мышечных фибробластов «L». Средние титры инфекциозности вируса в этих клетках (как в культуральной жидкости, так и в самих клетках) достигают около $\log LD_{50} = 5.0$ на 0,03 мл по данным внутримозгового заражения мышей.

3. Под влиянием рентгеновского облучения отмечено незначительное снижение репродукции вируса.

4. В процессе культивирования цитопатогенного действия на перечисленные выше культуры тканей не отмечено. Также не удалось воспроизвести цитопатогенное действие вируса ЛХМ при серийном пассаже в перевиваемой культуре клеток «L» (16 пассажей) и три сининизированной ткани фибробластов куриного эмбриона (12 пассажей).

5. При культивировании вируса ЛХМ на клетках куриных фибробластов и перевиваемой линии фибробластов мышей «L» в чашках Карреля отмечен феномен стимуляции роста клеток зараженной группы, что выражалось в полном отсутствии отслоения и разрушения клеточного слоя до 20—25 дня культивирования при полном отслоении клеток в контроле на 16—18 день. Этот феномен требует дальнейшего изучения с помощью специальных методов.

изация организма
уровне во все хро-
юстическими целя-
организма имеет ме-
дского населения,
ла положительной
эт колеблется от
ской напряженно-
ься вместе с дру-

по выполнению
ения специфиче-
инации или быто-

сифической пере-
ротивоэнцефалит-
дном фоне у при-

РСК — 27,4%
осле вакцинации
6%, РСК — 56%:
есяцев показате-
52,4%. Следует
я специфической
всех тестов в
цифр.

использованию
мунологической
тенсивности цир-
ИГА у населения
9,9%. Имеющие
клещевым энце-
положительной
тных показыва-
ряженных оча-
около 100%
ия.

тодов и тестов,
изма под влия-
что они выяв-
Степень и дли-
ичин (свежесть
активности ор-
бывает в раз-
иммунологи-
РА и РПГА от

ИГА и РА дол-
в диагностике

КУЛЬТИВИРОВАНИЕ ВИРУСА БЕШЕНСТВА В КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУРАХ

Л. П. ГОРШУНОВА, Н. И. КОШЕЛЕВА и Л. К. ЕРЕМЯН
(МОСКВА)

В последние годы в работах Кислинг и Гольдвассер, Каплан и Копровский, Кислинг и Рис и др. показана возможность культивирования фиксированного и уличного бешенства в клеточных культурах. Однако, пока известен лишь ограниченный выбор клеточных культур, оказавшихся чувствительными к фиксированному и уличному вирусу бешенства.

В настоящей работе было проведено изучение чувствительности к вирусам бешенства перевиваемых клеток жожномышечной ткани эмбриона мыши (КЭМ-1), почек эмбриона свиньи (RIS) и первично-трипсицинизированных клеток почек эмбриона крупного рогатого скота (ПТПТ). Указанные клеточные культуры до настоящего времени не использовались для культивирования вирусом бешенства.

Линии клеток КЭМ-1 и RIS, применявшиеся в работе, были адаптированы к размножению в среде 199 с 10% бычьей сывороткой (В. И. Гаврилов с сотрудниками). Клетки ПТПТ культивировали в среде, содержащей 0,5% гидролизат лактальбумина в растворе Хэнкса с 10% бычьей сыворотки и антибиотиками. Клетки засевали из расчета 150 000 клеток в мл для культур КЭМ-1 и 250 000 — для культуры ПТПТ.

Для заражения культур использовался московский штамм фиксированного вируса бешенства и штамм «Ош» уличного вируса бешенства, изученный биологическими, серологическими и морфологическими методами.

Заражение культур производилось надосадочной жидкостью мозговой суспензии в разведении 1:100 и 1:1000. Перед заражением культуральная среда удалялась, зараженные культуры выдерживались 30—40 мин при комнатной температуре, затем добавлялась соответствующая среда с 10% бычьей сывороткой. Зараженные культуры помещались в термостат при 37°.

На культуре КЭМ-1 и RIS фиксированный вирус бешенства прошел 8, а на культуре ПТПТ — 4 последовательных культуральных пассажа. В опытах титрования культуральной жидкости на белых мышах было показано, что во всех культурах в первом пассаже титры вируса не превышали разведения 10^{-2} — 10^{-3} . К третьему культуральному пассажу произошло заметное повышение количественного содержания вируса. Заболевания среди животных наблюдалось при заражении их культуральной жидкостью в разведении 10^{-5} . Наибольшее накопление вируса в культуральной жидкости отмечалось после 6 суток. Отчетливого цитопатического действия ни в одной из культур не выявлено.

К 6—7 культуральным пассажам наблюдалось снижение тит-

иссле-
ванию
ичных
lepson,

ткань,
иссле-
олуче-
лучей
леток.
ю-мы-
свин-
СОЦ,

ензия

едую-

ается
ьной
опре-

ПХМ
блас-
тках
гига-
за-

ачи-

на
не
ПХМ
«L»
ури-

ных
«L»
за-
тое-
ва-
нь-
ци-

ро
зо

са
те.
мь
чу

би
раз
гис
прс

гив
шег
рез
лей
нут

зом
в ус
пол;

го с
раз:
тол;
возд
боле

г
мм
с со
кони
д

хран
150-2
и ре:
от эл
С
миче
испо

НСТВА

ВРЕМЯ

вассер, Каплан
 возможность куль-
 за в клеточных
 ный выбор кле-
 фиксированному

чувствительно-
 ожномышечной
 свиный (RIS) и
 юна крупного
 льтуры до на-
 рования виру-

работе, были
 бычьей сыво-
 ПТПТ культу-
 лактальбумина
 антибиотиками.
 для культур

вский штамм
 уличного виру-
 ескими и мор-

ой жидкостью
 Перед зараже-
 культуры вы-
 уре, затем до-
 лвороткой. За-
 7°.

ус бешенства
 их культураль-
 жидкости на
 в первом пас-
 10^{-3} . К треть-
 товышение ко-
 еди животных
 костью в раз-
 культуральной
 инопатическо-

снижение тит-

ров вируса. Двукратное пассирование вируса через мозг мышей
 восстанавливало титры вируса до исходных.

Вирус уличного бешенства прошел 4 последовательных пас-
 сажа на клетках КЭМ-1 и ПТПТ. Согласно данным предвари-
 гельных опытов титрования культуральной жидкости на белых
 мышях и морфологического изучения указанные культуры также
 чувствительны к вирусу уличного бешенства.

ФОТОДИНАМИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ КРАСИТЕЛЕЙ НА БИОЛОГИЧЕСКИЕ И ИММУНОГЕННЫЕ СВОЙСТВА ФИКСИРОВАННОГО ВИРУСА БЕШЕНСТВА

С. С. МАКСУМОВ
 (МОСКВА)

В исследованиях по разработке высокоиммуногенной антира-
 бической вакцины изучалось также фотодинамическое действие
 различных красителей - метиленовый и толуидиновый синие,
 фио- и трипофлавина на биологические и иммуногенные свойства
 производственного штамма фиксированного вируса бешенства.

Из изученных красителей выраженной фотодинамической ак-
 тивностью по отношению к вакцинальному штамму вируса бе-
 шенства обладали метиленовый и толуидиновый синие. Четкие
 результаты были получены при использовании указанных красите-
 лей в концентрации 1 : 10000, 1 : 50000 и 1 : 100000 при 20- и 30-ми-
 нутном облучении электрическим светом.

Log LD₅₀ фотодинамически обработанного вируса при мозго-
 вом заражении белых мышей был равен 1,5—2,5, в то время как
 в условиях периферического введения животным материал был
 полностью апаатогенным.

В опытах изучения иммуногенных и антигенных свойств сухо-
 го фотодинамического препарата на лабораторных животных при
 различных сроках и режимах хранения лучшие показатели были
 получены с материалом, подвергавшимся фотодинамическому
 воздействию метиленового синего. Препарат изучался в течение
 более 400 дней при хранении при +4°, +18 и +37°C.

На всех сроках исследований отмечалось развитие надежного
 иммунитета у 75,0—100,0% привитых животных. В соответствии
 с состоянием иммунитета в крови животных имелись высокие
 концентрации вируснейтрализующих антител.

Фотодинамическая толуидиновая антирабическая вакцина со-
 храняла выраженную иммуногенную активность, только в течение
 150-дневного хранения. В последующих сроках (300—400 дней)
 и режимах хранения изучаемый препарат предохранял животных
 от экспериментального бешенства лишь в 52,0—69,0% случаев.

Сухая антирабическая вакцина, инактивированная фотодина-
 мическим действием метилинового синего, может быть с успехом
 использована как референс-препарат.

ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ 3-х ШТАММОВ ФИКСИРОВАННОГО ВИРУСА БЕШЕНСТВА (ПАРИЖСКОГО И МОСКОВСКИХ)

Т. А. БОРОДИНА, Л. А. СЕМЕНЮТЕНКО
(МОСКВА)

Производство антирабической вакцины по Ферми основано на использовании штаммов фиксированного вируса бешенства, отвечающих определенным требованиям. Периодический контроль биологических и вакцинных свойств штаммов фиксированного вируса бешенства необходим не только в связи с тем, что эти штаммы могут изменять свои свойства в ходе их использования, но и для отбора штамма, наиболее удовлетворяющего требованиям производства качественного препарата.

Изучению подлежали биологические свойства производственного штамма фиксированного вируса бешенства (пассаж 3249) в сравнении со свойствами других штаммов v. fixe: пассаж 2023 (Парижский) и пассаж 3532 (Московский). Проведенными экспериментальными исследованиями установлено следующее.

Изучаемые штаммы v. fixe не являются инфекционными для кроликов при периферических путях введения. Продолжительность инкубационного периода и длительность заболевания кроликов, зараженных этими штаммами, различна: наиболее продолжительный инкубационный период заболевания был у кроликов, зараженных в мозг v. fixe пассажа 2023, длительность заболевания кроликов, зараженных в мозг v. fixe пассажа 3532, была меньше на 12 часов по сравнению с длительностью заболевания кроликов, зараженных v. fixe пассажей 2023 и 3249.

Фиксированный вирус бешенства пассажа 2023 обладает меньшей вирулентностью при заражении в мозг кроликов по сравнению с вирулентностью штаммов 3249 и 3532.

3. При пассировании штаммов v. fixe на кроликах и определении количества вируса в их мозгу (интрацеребральное заражение мышей) выяснилось, что наибольшее количество вируса накапливается в мозгу кроликов, зараженных производственным штаммом v. fixe (пассаж 3249) и v. fixe пассажа 3532. Титрование вирусосодержащих взвесей мозга кроликов на мышах с использованием периферических путей заражения показало, что имевшая место в начале меньшая периферическая активность Парижского штамма 2023 (в первых 3-х пассажах) исчезает по мере пассирования и к 10-му пассажиру она практически не отличается от периферической активности двух других штаммов фиксированного вируса бешенства.

4. Патоморфологические изменения в мозгу кроликов, зараженных вирусом «фикс» пассажей 2023, 3249, 3532 обычны для изменений, вызванных фиксированным вирусом бешенства и не могут быть использованы для дифференциации штаммов.

5. Результаты опытов перекрестного испытания иммуногенной

актив
Габел
руса
геннь
мам.
И
ского
сравн
мом»
Очев:
рое
ного
испы

К

С
роко
вани:
этом
гесна
и спе
серо:
кого
ских
венн
чувст
вом
успел
проб.
лени:
вите:
ция
изме:
мозг
ем а
поста
дых
ходи:
дающ
брюн
В
ки б:
гамм.

ышей

пас-
вари-
белых
акже

А

ира-
твие
ние,
стваак-
бе-
кие
ите-
ми-зго-
как
былхо-
три
или
му
него
ии
иего-
ие
й)
ях
в.
а-
м

59

Х ШТАММОВ НСТВА Х)

О

ми основано на бешенства, ответный контроль биологического вирусного заболевания, но и для заболеваний произ-

производствен- (пассаж 3249) же : пассаж 2023 еденными экспедирующее.

екционными для Продолжитель- аболевания кро- анболее продол- был у кроликов, ьность заболева- 3532, была мень- олевания кроли-

2023 обладает г кроликов по 32.

ликах и опреде- ральное зараже- тво вируса на- роизводственным 3532. Титрование ышах с исполь- азало, что имев- тивность Париж- чезает по мере ки не отличается мов фиксирован-

кроликов, зара- 3532 обычны для бешенства и не штаммов. ия иммуногенной

активности вакцин из штаммов v. fixe 2023, 3249 и 3532 (по методу Габеля) показали, что вакцины из штаммов фиксированного вируса бешенства пассажей 3249 и 3532 являются высокоиммуногенными как к «гомологичным», так и «гетерологичным» штаммам.

Иммуногенная активность вакцины, приготовленной из Парижского штамма при испытании «гомологичным» штаммом была сравнительно невысока, а при испытании «гетерологичным штаммом» (пассаж 3532) давала индексы резистентности ниже 1.000. Очевидно, что с увеличением числа пассажей произошло некоторое изменение антигенной связи между штаммами фиксированного вируса бешенства. Однако, эти изменения не выявляются при испытании иммуногенности вакцин вирусом уличного бешенства.

К МЕТОДИКЕ СЕРОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ПРИ БЕШЕНСТВЕ

Р. А. КАНТОРОВИЧ и М. Н. ГОРБЕНКО
(МОСКВА)

Серологические методы исследования людей и животных широко используются в диагностике многих нейровирусных заболеваний (вирусные энцефалиты, желтая лихорадка и др.). При этом работами отечественных и зарубежных авторов показана тесная зависимость получаемых результатов от чувствительности и специфичности применяемых методик. В течение последних лет серологические методы нашли свое применение при изучении некоторых проблем бешенства (оценка эффективности антирабических вакцин, диагностика заболеваний собак и сельскохозяйственных животных и т. д.). Однако, при этом используется мало чувствительная методика титрования антител при внутримозговом заражении мышей смесью вирус-сыворотка. Между тем для успешного решения многих диагностических и эпидемиологических проблем необходимо применение методов, обеспечивающих выявление малых концентраций антител. С целью повышения чувствительности применяемого метода нами разработана модификация реакции нейтрализации при бешенстве. Предполагаемое изменение общепринятой методики заключается в замене внутримозгового теста периферическим (внутрибрюшинным) титрованием антирабических антител. При этом обязательным условием постановки опыта является применение новорожденных или молодых (4—5 г) белых мышей. В качестве стандартного вируса необходимо использовать штаммы уличного вируса бешенства, обладающие высокой периферической активностью (титр при внутрибрюшинном заражении — 10^{-3}).

В целях определения чувствительности предлагаемой методики было проведено параллельное исследование антирабического гаммаглобулина при внутримозговом и периферическом титро-

этого
с ви-
дуно-
там-

риж-
была
там-
.000.
кото-
ван-
при
ства.

Я

ши-
юле-
При
зана
ости
лет
не-
иче-
йст-
ало-
зго-
для
ских
яв-
вст-
ика-
мое
три-
ани-
ием
оло-
еоб-
бла-
три-

оди-
кого
тро-
61

вании антител по отношению к 10—100 дозам вируса (титр вируса определялся отдельно для каждого метода исследования). Как показали проведенные опыты, применение внутрибрюшинного метода титрования антител повысило чувствительность серологического исследования в 100 раз, обеспечивая в то же время необходимую специфичность получаемых результатов.

Следующим этапом работы было серологическое обследование экспериментальных животных (кролики, собаки, песцы), зараженных вирусами «дикования» и бешенства. Кровь брали у заболевших животных на высоте заболевания, а у выживших особей — через 1—1,5 месяца после инокуляции вируса. При использовании общепринятой методики антитела не обнаруживались в сыворотках животных, заболевших на 10—12 день после заражения, и были выявлены в низких титрах (0,5—0,2) у выживших животных.

В то же время при использовании модифицированной методики удалось выявить антитела как в I группе (титры 0,5—0,1), так и у выживших животных (титры 1/50—1/125).

Модифицированная методика была использована нами при проведении серозооотических исследований в различных природных очагах рабической инфекции. Исследованию подвергались сыворотки, полученные от животных, подозреваемых в заражении вирусом бешенства. Применение указанного метода обеспечило получение положительных результатов с сыворотками 10% обследованных собак и домашних животных, находившихся в близком контакте с уличным вирусом бешенства.

ИЗУЧЕНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ ШТАММОВ ВИРУСА ГЕРПЕСА, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ БОЛЬНЫХ РЕЦИДИВИРУЮЩИМ ГЕРПЕСОМ

Т. М. МАЕВСКАЯ
(МОСКВА)

За последние годы резко увеличилось количество заболеваний рецидивирующей формой обычного герпеса. Это относится, в первую очередь, к локализации герпетических высыпаний на слизистых глаз и половых органов. Помимо местных проявлений болезни, у большинства отмечаются общие симптомы: субфебрилитет, головные боли, вялость, быстрая утомляемость, потеря работоспособности и пр. Рецидивы герпетических высыпаний бывают очень частые — до 2—3 в месяц. У всех обследованных нами больных был установлен высокий титр специфических нейтрализующих антител в крови (до 1:64), мало изменяющийся как в начале, так и в конце заболевания.

Для лечения этого заболевания используются разнообразные препараты. Однако, в большинстве случаев, они не оказывают

вли
вре
рег

рег
ств
ру
ка
ган

нес
зы.
мо

чес
мо
ше
и I

уд
зы
бо

в
св
в

бо
сп
тк

др
др
мс
то

эр
и
эр
ча

но
и
ны

сти
ни
ря

Пс
тя.
вы
де
ся.

руса (титр вирус-исследования). внутрибрюшинность серо-я в то же время гатов. кое обследование песцы). заражен-брали у заболев-ивших особей --ри использовании ались в сыворот-заражения, и бы-ивших животных. рованной методи-гры 0,5--0,1), так

вана нами при различных при-нию подвергались мых в заражении тогда обеспечило гками 10% обследо-шихся в близком

В ВИРУСА ИНЫХ ОМ

ество заболеваний относится, в пер-ыпаний на слизи-х проявлений бо-гомы: субфебрили-ость, потеря рабо-ысыпаний бывают ваных нами боль-ких нейтрализую-щийся как в нача-

тся разнообразные и не оказывают

влияния на течение герпетической инфекции или дают кратко-временный положительный эффект, не влияя на возникновение рецидивов.

С целью приготовления для предупреждения герпетических рецидивов, нами было предпринято выделение большого количества штаммов вируса герпеса, от больных с тяжелой рецидивирующей формой болезни. В основном это были люди с локализацией высыпаний на слизистых глаз, губ и половых ор-ганах.

Изучение большого количества штаммов вируса герпеса было необходимо для того, чтобы определить, какие из них чаще вызывают заболевания у людей и выявить особенности этих штам-мов.

Материалом для обследования служили содержимое герпети-ческих пузырьков, соскобы из роговицы, кровь и, иногда, спинно-мозговая жидкость. Вирус выделяли при помощи заражения мыш-ей в мозг, куриных эмбрионов на хорионаллантоисную оболочку и разнообразных культур тканей.

Всего было выделено 90 штаммов вируса герпеса. Постоянно удавалось изолировать вирус из содержимого герпетических пу-зырьков, реже из соскобов роговицы и нерегулярно из крови больных. Была установлена неоднородность выделенных штаммов в отношении антигенных, патогенных, иммуногенных и других свойств. По антигенным свойствам все вирусы можно разделить, в основном, на 6 групп. В первую антигенную группу относятся более 60% штаммов. Эта группа вирусов по своим свойствам — способности к цитопатическому действию на клетки культур тканей, чувствительности к воздействию эфира, температуры и другим свойствам, похожа на штаммы вируса, циркулирующие в других городах Советского Союза и за рубежом. Среди штам-мов, отнесенных в другие антигенные группы имеются такие, ко-торые обладают некоторыми особыми свойствами.

Так, ряд штаммов вируса вызывает агглютинацию тусиных эритроцитов, которая одинаково хорошо происходит при 4°C, 20° и 37°C. При этом вирус герпеса очень прочно адсорбируется на эритроцитах и элюировать его не удается в течение 1—2,5 и 24-х часов при 37°C.

Следует отметить, что некоторые штаммы обладают повышенной устойчивостью к воздействию эфира, дезоксихолата натрия и высокой температуры. Были отобраны наиболее распространен-ные у людей штаммы, обладающие высокоиммуногенными свой-ствами, для приготовления экспериментальных яичных формали-зированных вакцин. Эти вакцины проходят сейчас испытание в ряде клиник Москвы и других городов (Ленинград, Астрахань). Получены предварительные результаты вакцинации 40 больных тяжелой формой болезни с различной локализацией герпетических высыпаний, свидетельствующие об эффективном терапевтическом действии вакцины. Срок наблюдения за больными 6—12 ме-сяцев.

ИЗУЧЕНИЕ ВИРУСЕМИИ И ЭРИТРОЦИТОВ В ДИНАМИКЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГЕРПЕТИЧЕСКОЙ ИНФЕКЦИИ

БОЧАРОВ А. Ф., ВАНАГ А. И., ПАВЛОВА Т. В.
(МОСКВА)

Вирусемия возникает при многих вирусных инфекциях и может служить одним из факторов, способствующих или ограничивающих распространение инфекции в организме. V-признак является существенным и общепризнанным в патогенезе вирусных инфекций. Несмотря на это, в настоящее время мало известно о судьбе вирусов, попадающих в кровь. Недостаточное внимание обращается на то, что различные вирусы, такие как болезней Ньюкасла, Ходжкина, гриппа, инфекционной анемии лошадей, кори, полиомиелита, рака молочных желез мышей, холеры, чумы плотоядных, ящура и других циркулируют в крови, адсорбированными на эритроцитах. Этот факт, несомненно, играет определенную роль в патогенезе инфекций. При изучении динамики распределения вируса обычного герпеса в курином эмбрионе, А. К. Шубладзе с сотрудниками (1961) установили, что многие органы и ткани эмбриона содержали вирус. Вирус располагался также в стромах эритроцитов, причем наибольшая частота обнаружения вируса в эритроцитах, соответствовала максимальной инфекционности крови.

Настоящая работа посвящена изучению накопления вируса обычного герпеса в крови (с особым вниманием на способности эритроцитов адсорбировать вирус в процессе вирусемии), в ЦНС и различных органах в динамике экспериментальной герпетической инфекции, а также морфологическому изучению органов, в которых накапливался вирус.

Опыты проводили с двумя штаммами вируса обычного герпеса («Л-2», «К») относящиеся соответственно к I и II антигенным группам. Штамм «Л-2» использовали в виде вирусосодержащей культуральной жидкости фибробластов эмбриона человека, штамм «К» в виде 10% вирусосодержащей суспензии мозга мышей. Подопытными животными служили кролики весом 2300—2800 г и белые мыши — 7—8 г. Кроликам и мышам вирусосодержащий материал вводили в мозг соответственно по 0,25 мл и 0,03 мл, мышам — подкожно по 0,25 мл. У кроликов кровь брали путем пункции сердца, у мышей — после рассечения подключичной артерии и вены в дефибрирующий раствор Альсвера. Из цельной крови, трижды отмытых эритроцитов, 10% суспензии органов зараженных животных готовили 10-кратные разведения и вводили мышам в мозг с целью выделения вируса. Параллельно от тех же животных брали органы для морфологического исследования. У мышей, зараженных в мозг массивной дозой вируса, штаммом «Л-2», титр которого был $10^{7.3}$ ЛД₅₀ мл, вирусемию наблюдали через 5 мин после заражения. В первые 60 мин вирус обнаруживали в крови в титре 10^2 ЛД₅₀ мл. Между 1 и 6 часом после зара-

жен
ние
Зат
час;
дер;
бол
обн
его
в Ц
этого
кого
и к
виру
F
масс
10^{7.3}
5 м
в кр
титр
пада
зара
пери
иму
ными
сом
куба
тую
орга
У
«Л-2:
мию
наиб
дозы
нерег
после
руса
дов б
имуш
(72—
Из
ской
нас п
в сво
мента
вают,
рус вс
При з
ЛД₅₀ л
получе
5—1455

3 В ДИНАМИКЕ И ИНФЕКЦИИ

1 Т. В.

инфекциях и мо-
их или ограничи-
е. V-признак яв-
огенезе вирусных
мало известно о
точное внимание
ак болезней Нью-
оршадей, кори, по-
оры, чумы, плото-
дсорбированными
т определенную
гаммики распреде-
юне, А. К. Шуб-
многие органы и
лагался также в
эта обнаружения
ьной инфекциоз-

опления вируса
на способности
усемии), в ЦНС
ьной герпетиче-
чению органов,

обычного герпеса
II антигенным
ируссодержащей
человека, штамм
га мышей. Под-
00—2800 г и бе-
державший мате-
и 0,03 мл, мы-
али путем пунк-
ичичной артерии
Из цельной кро-
и органов зара-
ия и вводили
аллельно от тех
о исследования.
ируса, штаммом
мию наблюдали
ирус обнаружи-
сом после зара-

жения концентрация вируса в крови постепенно падала и в тече-
ние последующих 6—12 часов вирус обнаруживали нерегулярно.
Затем вновь наблюдали увеличение концентрации вируса к 16
час; и через 24—30 час. после заражения она была высокой и
держалась с некоторым падением до конца клинического периода
болезни (36—42 час). В мозгу, печени, селезенке мышей вирус
обнаруживали в первые 6 час. после заражения. Максимальное
его накопление в органах было к 32—34 час., преимущественно
в ЦНС. При заражении мышей подкожно массивными дозами
этого же вируса (штаммом «Л-2») или в мозг вирусом более низ-
кого титра, $10^{3.3}$ ЛД₅₀ мл наблюдали удлинение инкубационного
и клинического периодов до 8—9 суток, более стертую картину
вирусемии и более медленное накопление вируса в органах.

Результаты исследования крови мышей, зараженных в мозг
массивной дозой вируса герпеса, штаммом «К», титр которого был
 $10^{7.3}$ ЛД₅₀ мл показывают, что вирусемия наблюдалась через
5 мин. после заражения. В первые 60 мин. вирус обнаруживали
в крови в титре 10^2 ЛД₅₀ мл. К 24—48 час. вирус накапливался до
титра $10^{4.3}$ ЛД₅₀ мл. Затем его концентрация в крови постепенно
падала и к концу клинического периода болезни (96 час. после
заражения) вирус обнаруживали нерегулярно. В органах к этому
периоду вирус накапливался в максимальных количествах, пре-
имущественно в ЦНС. При заражении мышей подкожно массив-
ными дозами этого же вируса (штаммом «К») или в мозг виру-
сом более низкого титра $10^{3.3}$ ЛД₅₀ мл наблюдали удлинение ин-
кубационного и клинического периодов до 7—12 суток, более стер-
тую картину вирусемии и более медленное накопление вируса в
органах.

У кроликов, зараженных в мозг вирусом герпеса, штаммом
«Л-2», титр которого был $10^{7.3}$ ЛД₅₀ мл или $10^{3.3}$ ЛД₅₀ мл, вирусе-
мию наблюдали в интервале 24—48 час. после заражения, причем,
наиболее выраженная вирусемия была после введения большей
дозы вируса. В остальные периоды вирус удавалось обнаруживать
нерегулярно и только в цельной крови, чаще путем проведения
последовательных пассажей. При заражении меньшей дозой ви-
руса отмечали удлинение инкубационного и клинического перио-
дов болезни. Максимальное накопление вируса в органах, пре-
имущественно в ЦНС, было к концу клинического периода
(72—96 час. после заражения).

Изучая вирусемиию в динамике экспериментальной герпетиче-
ской инфекции у разных видов животных (штаммы «Л-2», «К»),
нас постоянно интересовал вопрос, находится ли вирус в крови
в свободном состоянии, или он как-то связан с клеточными эле-
ментами крови, в частности с эритроцитами. Результаты показы-
вают, что параллельно обнаружению вируса в цельной крови, ви-
рус всегда обнаруживали в отмытых из этой крови эритроцитах.
При этом, если максимальный титр вируса в крови был $10^{4.3}$
ЛД₅₀ мл, то на долю вируса, адсорбированного на эритроцитах,
полученных из миллилитра той же крови, приходилось $10^{3.3}$

5—1455

65

ЛД₅₀ мл вируса. Полученные данные свидетельствуют о прямой зависимости титров вируса в цельной крови и в отмытых из этой крови эритроцитах.

При морфологическом изучении мозга животных, зараженных вирусом обычного герпеса (штаммы «Л-2», «К»), наблюдали большие очаги кортикального менингита. На основании и в средней зоне головного мозга, сосуды были окружены муфтами, состоящими из лейкоцитов. В элективной зоне часто наблюдали нейронофагию. Ядра некоторых нейронов гипокампа содержали оксифильные массы. В клетках среднего мозга, обладающих наибольшей чувствительностью к вирусу герпеса, с большим постоянством наблюдали оксифильные внутриядерные включения. При исследовании печени обнаружено диффузное поражение печеночной ткани в виде множественных некрозов, захватывающих центральные и средние зоны долек, с кариорексисом и кариолизисом, набуханием и цитолизом печеночных клеток. В просвете синусоидов, в пространствах Диссе и в цитоплазме некоторых погибающих печеночных клеток много сегментоядерных лейкоцитов. В некоторых дольках некроз и некробиоз охватывал до 70% паренхимы. При исследовании селезенки обнаружена пролиферация эндотелия синусоидов. Морфологическое исследование органов подтвердило наличие герпетического энцефалита и гепатита.

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ВИРУСА ОРНИТОЗА И ТРАХОМЫ

Г. К. ЗАИРОВ и О. М. ПОЛОВА
(МОСКВА)

Четкое дифференцирование различных представителей группы хламидоза является вопросом сложным и до настоящего времени достигается только при использовании и сопоставлении результатов целого комплекса исследований. Значительный научный и практический интерес представляет дифференцирование возбудителей столь различных инфекционных заболеваний, как трахома и орнитоз. Возбудитель трахомы вызывает инфекцию эпителиальных клеток конъюнктивы, обнаружение которого в скобе имеет диагностическое значение. Представляло значительный интерес сравнительное изучение морфогенеза включений вируса трахомы и возбудителя орнитоза. Как дифференциальный тест была испытана также реакция нейтрализации вируса в системе вирус-клетка с подсчетом в люминесцентном микроскопе количества включений на 1000 клеток.

В работе изучали тканевой штамм (Бурхан) вируса трахомы и штамм № 15 орнитоза, выделенные в нашей лаборатории. Культивирование проводили на перевиваемой культуре клеток амниона человека, клеток HeLa и на первичной культуре куриных фибробластов. Морфогенез вирусов в клетке изучали в динамике с интервалом в 2 часа от начала адсорбции до 72 часов (и до 144

часе
При
герп
куль
флю
вую
вкли
цени
Т
ний
зия.
увел
форм
луж
рон,
женн
чека.
В
более
отте
дефор
морф
ся ха
трахо
лабор
Еи
при з
пениц
орнит
«дефо
ных те
задер
жизни
няется
Каг
трализ
не был
Уде
получ
ванног
шова,
В н
казана
более с
самост
повки
более д
изучени
трахоме

идетельствуют о прямой
эпидемии и в отмытых из этой

животных, зараженных
(«К»), наблюдали боль-
шинство и в средней
жизни муфтами, состоя-
чаю наблюдали нейро-
гипокампа содержали
возра, обладающих наи-
более частые включения. При
поражение печеночной
клетки центрально-
и кардиолитом, набу-
хание просвета синусов,
некоторых погибающих
лейкоцитов. В неко-
торых до 70% паренхимы.
пролиферация эндоте-
лия органов подтер-
гепатита.

ВИРУС ОРНИТОЗА

ЭВА

представителей груп-
п и до настоящего
времени и сопоставлении
значительный науч-
но дифференцирование
этих заболеваний, как
вызывает инфекцию
жизни которого в со-
ставляло значитель-
ную часть включений ви-
русно дифференциальный
анализ вируса в си-
стемном микроскопе

(ан) вируса трахомы
в лаборатории. Куль-
тура клеток амино-
культуре куриных фиб-
роцитов в динамике с
72 часов (и до 144

часов). Препараты клеток окрашивали акридином оранжевым
При люминесцентной микроскопии препаратов установлен харак-
терный для этих возбудителей цикл развития во всех указанных
культурах клеток. Вирусные включения в начале инфекции имели
флюоресцентную окраску, соответствующую РНК (ярко оранже-
вую или красную), затем желто-зеленую и в конце цикла развития,
включения имели зеленую окраску (сходную с ядерной флюорес-
ценцией) соответствующую ДНК.

На определенной стадии развития цитоплазматических включе-
ний вируса трахомы и орнитоза выявлена их различная морфоло-
гия. Включения, образуемые вирусом трахомы по мере роста и
увеличения принимают «серповидную» или «подковообразную»
форму, как бы окружающую ядро. В отдельных клетках при развитии
двух очагов инфекции включения эти окружают ядро с двух сто-
рон, замыкая его внутри (микрофото). В культуре клеток, зара-
женных штаммом «Бурхан», включения сходны с тельцами Прова-
ка, которые обнаруживаются в конъюнктиве больных трахомой.

В клетках, зараженных вирусом орнитоза, включения имеют
более правильную округлую форму и по мере роста и увеличения
оттесняют ядро клетки к периферии, вызывая его значительную
деформацию (микрофотографии №№ 1—8). Эта своеобразная
морфология включений, установленная в культурах клеток, являет-
ся характерным дифференциальным признаком между вирусом
трахомы и орнитоза, который можно использовать как один из
лабораторных тестов.

Еще более резко выявляются эти морфологические различия
при заражении культуры клеток, предварительно обработанной
пенициллином. В такой культуре клеток, зараженной вирусом
орнитоза, развиваются включения, содержащие крупные (1—2 м)
«деформированные» частицы, а образование зрелых элементар-
ных телец с определенной морфологией и размером (250—300 м)
задерживается на длительное время или не выявляется за время
жизни культуры, хотя «конечный» титр вируса почти не изме-
няется.

Как известно, в серологических опытах в РСК и реакции ней-
трализации вируса четкое дифференцирование этих возбудителей
не было достигнуто.

Удовлетворительные показатели нейтрализации этих вирусов
получены были при использовании вируса трахомы, культивиро-
ванного на куриных фибробластах (И. И. Терских, А. Ю. Бекле-
шова, 1961).

В настоящей работе в культуре клеток амниона человека по-
казана специфическая нейтрализация каждого из возбудителей и
более слабо выраженная групповая реакция, что подтверждает
самостоятельность изучаемых возбудителей. Такой способ поста-
новки реакции нейтрализации вируса иммунной сывороткой, как
более демонстративный и быстрый, может быть использован при
изучении возбудителей группы орнитоза — лимфогрануломы —
трахомы.

5*

67

МЕЖДУШТАММОВЫЕ ВАРИАЦИИ ОНКОГЕННОГО ВАКУОЛИЗИРУЮЩЕГО ВИРУСА SV₄₀(ОВ₄₀)

А. Д. АЛЬШТЕИН, Н. Н. ДОДОНОВА, Н. Н. ВАСИЛЬЕВА
(МОСКВА)

Важным для понимания особенностей вирусного канцерогенеза является изучение корреляции между инфекционными и онкогенными свойствами опухолеродного вируса. Нами проводится исследование биологических свойств штаммов вируса ОВ₄₀ с целью выявления и корреляции различий между ними.

При изучении 9 штаммов вируса ОВ₄₀ в культуре ткани почки зеленой мартышки установлено, что 7 из них образуют бляшки в более ранние сроки, чем два других штамма. При учете результатов на 14 день первые 7 штаммов характеризуются крупными (до 4 мк в диаметре), а 2 других — мелкими (до 1 мк в диаметре) бляшками. Признак является стойким и носит генетический характер.

Шесть изученных штаммов (4 крупнобляшечных и 2 мелкобляшечных) не различались по характеру цитопатического действия (ЦПД) при культивировании в жидкой среде. ЦПД мелкобляшечных штаммов при применении одних и тех же доз проявлялось на 1—2 дня позже, чем для крупнобляшечных. Эти же штаммы не имели антигенных различий в реакции нейтрализации (по методам Макбрайда и Веннера).

Антигенная активность крупнобляшечных штаммов на мелких лабораторных животных (морские свинки, крысы) была несколько выше, чем это же свойство мелкобляшечных штаммов.

Не было различий между штаммами в опытах интерференции между вирусом гриппа и ОВ₄₀ в культуре ткани.

И мелко- и крупнобляшечные штаммы вызывали хроническую инфекцию в первичных тканевых культурах крыс, хомяков, человека с явлениями клеточной трансформации. Крупнобляшечные штаммы были несколько более активными.

Будут представлены данные по сравнению особенностей взаимоотношения с клеткой крупно- и мелкобляшечных штаммов.

НЕКОТОРЫЕ ПРОБЛЕМЫ БИОЦЕНОЛОГИИ ВИРУСОВ В СВЯЗИ С ВОПРОСАМИ ИЗУЧЕНИЯ ИХ ЭТИОЛОГИЧЕСКОГО ЗНАЧЕНИЯ И ДИАГНОСТИКИ

А. Е. ЭССЕЛЬ
(СВЕРДЛОВСК)

Совершенствование методик позволило в течение относительно короткого времени накопить значительный материал о выделении различных энтеровирусов как от больных, так и от практически здоровых людей. В связи с этим вопрос о «нормальной»

вирусос-
ская пр
агентов
В о
вопрос
с орган
ний, а
Воп
мевае
ляясь с
бывающ
ния, до
органи
низме, и
либо, на
мимо ко
мере, со
В эт
ценотиче
Изве
лиомиел
лучены
Коксаки
на себя
вакцины
к увелич
данные п
цевым п
Нер-2, за
В нас
энтерови
мости (с
отношени
что предс
нормы, т.
и при по
состояния
Естест
ретьем об
При т
факторы,
патогенно
Нам п
вий може
бактериям
При эт
жившиеся
ассоциаци
ганизма.

ОГЕННОГОо(ОВ₄₀)

СИЛЬВА

го канцерогенными и онкологическими проводится вирусом ОВ₄₀ с ними.

ре ткани почки азуют бляшки и учете результатов крупными мми в диаметре генетический

х и 2 мелкооческого действия ПД мелкоблядоз проявляются Эти же штаммы аллизации (по

ов на мелких была несколько ммов. интерференции

или хроническых, хомяков, рупнобляшеч

нностей взаимоотношений.

ВИРУСОВ

ИХ

ОСТИКИ

относительный анализ о выделении и от практической нормальной

вирусофлоре человека приобретает интерес и как общепатологическая проблема и с точки зрения оценки возможного значения этих агентов в генезе заболеваний.

В общепатологическом плане, прежде всего, требуют решения вопросы биоценологии вирусов, в частности, их взаимоотношений с организмом человека вне определенных патологических состояний, а также с нормальной микрофлорой человеческого тела.

Вопрос о существовании нормальной вирусофлоры подразумевает необходимость объяснения условий ее существования. Являясь облигатными внутриклеточными паразитами, вирусы, пребывающие в организме человека вне развивающегося заболевания, должны либо не вызывать значительных разрушений клеток организма при своем размножении, либо присутствовать в организме, не размножаясь, как транзитные анабиотирующие агенты, либо, наконец, находить в организме человека иной субстрат (помимо клеток хозяина) для своего размножения или, по крайней мере, сохранения.

В этом отношении может представлять интерес изучение биоценологических взаимоотношений между вирусами и бактериями.

Известны данные о более длительном сохранении вируса полиомиелита в фекалиях. Нашим сотрудником Л. Ф. Киселевой получены данные о более продолжительной выживаемости вируса Коксаки В-3 в присутствии живой кишечной палочки. Обращает на себя внимание то обстоятельство, что адсорбция вируса осповакцины на бактериях (А. Е. Эссель и С. М. Рассудов) приводит к увеличению потребления кислорода последними. Аналогичные данные получены нами совместно с Н. П. Глинских и В. П. Устьянцевым при изучении потребления кислорода культурой ткани Нер-2, зараженной аденовирусом I типа.

В настоящее время проводятся исследования по адсорбции энтеровирусов на различных бактериях, а также по их выживаемости (сохранению) в ассоциациях с бактериями. Наблюдения в отношении энтериальных и аденовирусов свидетельствуют о том, что представители этих двух групп встречаются как в условиях нормы, т. е. при отсутствии видимых признаков заболеваний, так и при порой очень тяжелых (даже смертельных) патологических состояниях.

Естественно возникает вопрос, сформулированный Л. Г. Петерцем об условно патогенной вирусофлоре.

При таком допущении необходимо, прежде всего, выявить факторы, определяющие патогенный эффект, вызываемый условно патогенной вирусофлорой.

Нам представляется, что одним из таких факторов или условий может оказаться ассоциация условно патогенных вирусов с бактериями.

При этом в зависимости от облигатности (эволюционно сложившиеся биоценозы) или случайности вирусно-бактериальных ассоциаций могут зависеть и взаимоотношения вируса и макроорганизма.

че-
ихия
ий
я-у-
в-
е-
з-
к
т-
г-
т-
я

В этом плане проблема почти не разработана (Л. А. Зильбер, В. Д. Тимаков).

Представляется возможным подойти к оценке облигатности или случайности вирусно-бактериальных ассоциаций с позиций следующих тестов: выживаемость вирусов в ассоциациях с теми или иными бактериями, серологическая индикация адсорбции вирусов на бактериях, электронномикроскопическое изучение этого же явления, определение показателей активности дыхания бактерий, адсорбированных вирус.

С диагностической точки зрения представляет интерес выявление каждого из компонентов вирусно-бактериальной ассоциации при патологических состояниях с учетом частоты встречаемости их в определенных ассоциациях и вне их в условиях нормы и патологических состояний.

КЛИНИКА ПАРАГРИППОЗНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Е. С. КЕТИЛАДЗЕ
(МОСКВА)

Выделение новой группы парагриппозных вирусов (1, 2, 3, 4 типы) и установление их связи с острыми заболеваниями дыхательных путей открыли широкие возможности для клинического изучения этих заболеваний.

Проведенные исследования показали, что парагриппозные заболевания составляют 20%—25% всех острых инфекций дыхательных путей детей и взрослых, госпитализированных в клинику Института вирусологии в 1962—1963 гг. Заболевания встречаются в течение всего года, однако число их заметно возрастает в осенне-весенний период.

Лабораторная диагностика парагриппозных заболеваний осуществлялась с помощью быстрого метода флуоресцирующих антител и серологических исследований парных сывороток больных в реакциях задержки гемагглютинации и связывания комплекта (Н. Н. Жилина, Л. Б. Меклер, Л. Я. Закстельская, Л. А. Иванова, Р. С. Дрейзин, И. А. Луцевич). Выделить вирус парагриппа удавалось с большим трудом (Л. Л. Нисевич).

Клиника парагриппозных заболеваний взрослых и детей имеет ряд общих черт: медленное развитие, вялое течение заболевания, характеризующееся отсутствием или слабо выраженными симптомами токсикоза. Высокая лихорадка не свойственна парагриппозной инфекции.

Парагриппозные заболевания во всех случаях сопровождаются поражением респираторного тракта, однако разные его отделы вовлекаются в процесс не в одинаковой степени. Частым симптомом бывает ринит, который не столь резко выражен, как при аденовирусной инфекции. Зев — в отличие от гриппа — гиперемирован умеренно. Наиболее типичным проявлением парагриппозной

же;
ми
эпи,
отн

гана (Л. А. Зильбер,

ценке облигатности
социаций с позиций
ассоциаций с теми
кация адсорбции ви-
ское изучение этого
эсти дыхания бакте-

яет интерес выявле-
иальной ассоциации
оты встречаемости
ловных нормы и па-

ОЛЕВАНИИ

вирусов (1, 2, 3, 4
олеваниями дыха-
для клинического

арагриппозные за-
инфекций дыха-
ванных в клинику
вания встречаются
возрастает в осен-

заболеваний осу-
ресцирующих ан-
вороток больным
вания комплемен-
ская, Л. А. Ива-
вирус парагриппа

ых и детей имеет
ние заболевания,
женными симпто-
нна парагриппоз-

сопровождаются
ные его отделы
Частым симпто-
сен, как при аде-
да — гиперемиро-
парагриппозной

инфекции является ларингит. Различная степень поражения гортани, от слабых, едва заметных симптомов до тяжелых ларинготрахеитов с картиной крупа, характеризует парагриппозное заболевание. При обычном благоприятном течении ларингит проявляется сухим, упорным кашлем, болями в горле, охриплостью голоса. В отличие от гриппа и аденовирусной инфекции при парагриппозном заболевании чаще наблюдается сухой, длительный кашель без клинических признаков бронхита. Появление грубого, лающего кашля, а иногда и одной охриплости голоса, облегчает диагностику парагриппозной инфекции.

Нередко на фоне имеющихся катаральных явлений развивается пневмония, в возникновении которой определенную роль играет вторичная бактериальная флора. Пневмонии часто присоединяются в поздние сроки болезни, однако, даже при поздних пневмониях в клинической картине заболевания симптомы парагриппозной инфекции бывают достаточно ярко выражены. Пневмонии протекают более легко, чем при гриппе и благоприятнее, чем при аденовирусной инфекции. При рентгенографии в одном или обоих легких отмечаются очаги поражения, занимающие часть сегмента или целый сегмент, иногда видны мелкоочаговые тени (С. А. Липкович). Из мокроты больных пневмоний выделялась обычная микрофлора дыхательных путей.

Со стороны периферической крови при парагриппозной инфекции выявлена лейкопения или нормальное число лейкоцитов. В период развития пневмонии наблюдается нарастание числа лейкоцитов, причем цифры лейкоцитоза, тем выше, чем массивнее пневмония.

Анализ клинического течения показал, что парагриппозные заболевания являются своеобразной группой острых инфекций дыхательных путей, которые заметно отличаются от гриппа и аденовирусных заболеваний. При учете характера и особенностей развития симптомов представляется возможным в типичных случаях клинически диагностировать парагриппозные заболевания.

О НЕКОТОРЫХ ОБЩИХ СИМПТОМАХ ПРИ АДЕНОВИРУСНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ И ИНФЕКЦИОННОМ ГЕПАТИТЕ

Р. Я. ХЕРСОНСКАЯ

(КИЕВ)

До сих пор не привлек к себе внимания факт, что между безжелтушными вариантами болезни Боткина и некоторыми формами аденовирусных заболеваний имеется ряд сходных клинико-эпидемиологических признаков. К наиболее важным из них относится гепатолиенальный синдром. Много общего также в ха-

горинго-
эзное
про-
стью
гара-
ный
убо-
лег-

рактуре эпидемического процесса. Общность клинико-эпидемиологических проявлений затрудняет в ряде случаев диагностику этих заболеваний.

Нам пришлось столкнуться с тем, что аденовирусным больным из-за наличия у них гепатитного или гепатолиенального синдрома, ставился диагноз безжелтушной формы инфекционно-гепатита.

В связи с этим со второй половины 1963 года дети, подозрительные на такую форму болезни Боткина, обследовались нами не только на инфекционный гепатит, но и на аденовирусную инфекцию.

Наблюдения и обследования проводились в детских коллективах во время вспышек заболеваний, диагностированных как вспышки инфекционного гепатита.

Всего под наблюдением в детских коллективах находилось 465 детей. Те или иные проявления инфекции обнаруживались у 30—40% детей.

У части заболевших наряду с общими признаками болезни (увеличение печени, селезенки, рвота, боли в животе, потеря аппетита и т. д.) наблюдалась небольшая иктеричность склер и кожи, что явилось поводом для госпитализации и установления диагноза — легкая форма болезни Боткина.

В этих же очагах нами выявлено значительное число детей без признаков желтухи, но с гепатолиенальным или только гепатитным синдромом. Общее состояние детей при этом было мало нарушенным.

У трех больных с гепатолиенальным синдромом и безжелтушным течением болезни вирусологической лабораторией (Н. П. Прокуракова, Г. Ф. Стремецкий) из крови и у тринадцати из фекалий на культурах тканей выделены аденовирусы.

Для дифференциальной диагностики представляет интерес, что в двух наблюдавшихся нами случаях, ничем не связанных с болезнью Боткина, аденовирус из крови был выделен (С. В. Перваченко) и при типичной фарингоконъюнктивальной лихорадке.

Вопросы клинической и дифференциальной диагностики вирусных инфекций с гепатитным или гепатолиенальным синдромом требуют дальнейшего изучения, т. к. может способствовать выяснению природы этих инфекций.

АДЕНОВИРУСНЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ У ДЕТЕЙ РАННЕГО ВОЗРАСТА

Н. Т. КУЧЕРОВА, М. Н. АЛЯБЬЕВА

(КИЕВ)

В настоящей работе приведены результаты обследования на аденовирусы 342 больных детей, поступивших в детское отделение больницы «Медгородок» г. Киева с января месяца 1963 года по

линико-эпидемиологическую диагностику

вирусным патологическим процессом

дети, подозревались нами

эпидемиологическую диагностику

находилось наружилось у

заболеваниями, потеря аппетита и склероз

число детей без гепатита было мало

и безжелтушность (Н. П. Продвигалин)

интересны случаи, связанные с перенесением лихорадки, вирусного синдрома

1 РАННЕГО

следования на отделение 1963 года по

апрель месяц 1964 г. по поводу острых респираторных заболеваний — катара верхних дыхательных путей, фарингита, бронхита, пневмонии. Дети были в возрасте до трех лет. Вирусологическому исследованию подвергались мазки из носа и зева больных детей, а также мазки конъюнктивы глаз. Для выделения вирусов использовались культуры тканей перевивных линий КВ и Нер-2. Всего от 342 больных детей выделено 53 цитопатогенных агента, которые проявлялись на 2—3 пассаже. Выделенные агенты исследованы в РСК с сывороткой белых крыс, гипериммунизированных против аденовирусов. В результате этого отобрано 42 агента, имеющих общий с группой аденовирусов комплементфиксирующий антиген.

Применение реакции нейтрализации с типовыми сыворотками показало, что большая часть вирусов была 3, 1 и 2 типа, реже — 6 и 7 типа. Этиологическая роль выделенных аденовирусов была подтверждена серологическими исследованиями парных сывороток в реакции нейтрализации: обнаружено увеличение вируснейтрализующих антител вторых сывороток к свежесделанным штаммам аденовирусов в 2—4 раза, причем четырехкратное нарастание антител встречалось почти в половине случаев. В своих исследованиях мы не отмечали высокого нарастания титра антител, т. к. взятие второй крови производилось через небольшой промежуток времени (7—14 дней). Основными клиническими формами аденовирусного заболевания явились: фаринго-конъюнктивальная лихорадка (16 детей), острый катар верхних дыхательных путей (23 ребенка), аденовирусная пневмония (14 детей). Начало заболевания было острым, отмечалось повышение температуры до 37,6—38,8°C появлялся сухой кашель, насморк, нарушался сон, исчезал аппетит. Если заболевание протекало по типу фаринго-конъюнктивальной лихорадки, на 2—4 день заболевания возникали явления конъюнктивита-гиперемии и зернистость конъюнктивы, отечность век, инъекция склер, в отдельных случаях кровоизлияния в склеру. Пленки на конъюнктиве мы наблюдали в 6 случаях. Продолжительно отмечалась гиперемия и зернистость слизистой зева, у части детей увеличение и сочность миндалин.

Выделения из носа были обильными, водянистыми, в отдельных случаях — слизисто-гнойнными, плохо поддававшиеся лечению. Со стороны легких у большинства больных выслушивались сухие хрипы, очень стойкие, длительно не исчезающие после нормализации температуры и улучшения общего состояния. У 3-х больных фаринго-конъюнктивальной лихорадкой изменения в легких отсутствовали на протяжении всего заболевания. Из осложнений отмечены — отит (6) и парэнтеральная диспепсия (2).

Клиническая диагностика острого катара верхних дыхательных путей аденовирусной этиологии трудна из-за отсутствия специфических признаков заболевания. Однако предположить аденовирусную этиологию заболевания в таких случаях возможно в динамике наблюдений за больным на основании стойкости катаральных изменений носоглотки и остаточных явлений бронхита в лег-

ких. При легкой форме заболевания отсутствовали характерные признаки, что чрезвычайно затрудняло его диагностику.

Аденовирусной пневмонией болели преимущественно дети в возрасте до года. Почти у всех детей пневмония развивалась вслед за катаром верхних дыхательных путей, примерно на 5—7 день заболевания, характеризовалась обилием физикальных изменений со стороны легких, явлениями интоксикации, изменениями со стороны сердечно-сосудистой системы — приглушенностью сердечных тонов, тахикардией (6), наличием систолического шума (5).

Со стороны нервной системы — резкая вялость, адинамия, временами беспокойство, нарушение сна, судороги (2).

При рентгенологическом исследовании легких при аденовирусной пневмонии установлено: значительное усиление бронхососудистого лимфососудистого рисунков, наличие единичных или множественных очаговых тканей, в тяжелых случаях сливающихся между собой, а также наличие эмфизематозных участков в легких, расширение и тяжесть легочных корней, потеря их структурности.

Пневмония осложнилась отитом у 3-х больных, слипчивым плевритом — у 2-х больных и пиэлитом у 1-го больного, у 4-х детей она приняла хроническое течение.

Следует отметить возникновение диспептических расстройств при всех формах аденовирусного заболевания (12).

Диспепсия, однако, не носила резко выраженного характера, глубокого токсикоза мы не наблюдали. Изменения со стороны желудочно-кишечного тракта возникали в начале заболевания или спустя 7—10 дней, принимая характер парэнтеральной диспепсии.

Один и тот же тип вируса мог вызывать различные формы аденовирусного заболевания.

РЕЗУЛЬТАТЫ КЛИНИКО-ВИРУСОЛОГИЧЕСКОГО ОБСЛЕДОВАНИЯ ДЕТЕЙ С ПРЕДПОЛАГАЕМОЙ ВНУТРИУТРОБНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ

Л. В. ВЛАСОВА, М. А. ОСИНЦЕВА, В. Н. РЕЗНИКОВА
(СВЕРДЛОВСК)

В течение 1962—1963 годов на материале акушерского отделения Свердловского института охраны материнства и младенчества были изучены с применением вирусологических методов исследования 15 случаев внутриутробных заболеваний, в числе которых было 7 пороков развития плода и 8 случаев предполагаемой внутриутробной инфекции.

Исследованию подвергались взятые у новорожденных носоглоточные смывы, пробы фекалий, а в случае смерти — органы умершего ребенка. От матерей отбирались для исследования, помимо проб факелий, кусочки плаценты. Для выделения цитопато-

ген
ко:
вы,
ро:
Ко

чаг
ро:
ка,
Од
тер
ро:
мо:

где
у п
тип
са
дер
без
пат
ган
тери
рони
поги
ЕСИ
инф
поде

Е
олог
В
незе
дыха
сти.
мыми
ны в:
агент.

существовали характерные для этого диагноза.

Преимущественно дети в пневмония развивались попутно, примерно на 5—7 индеем физикальных интоксикации, изменения температуры — приглушенностью систолического шума.

вместо, адинамия, вродороги (2).

легких при аденовирусном усилении бронхосудочие единичных или множественных сливающихся участков в легочной, потеря их струк-

больных, слипчивым 1-го больного, у 4-х де-

ептических расстройств иния (12).

выраженного характера, изменения со стороны желудка заболелания или энтеральной диспепсии. ать различные формы

ЛОГИЧЕСКОГО ПОЛАГАЕМОЙ КЦИЕЙ

Н. РЕЗНИКОВА

е акушерского отделения и младенческих методов исследований, в числе которых случаев предполагае-

новорожденных носочае смерти — органы для исследования, по выделения цитопато-

генных агентов применялись две тканевые культуры: Нер-2 и кожно-мышечная ткань эмбриона человека. Для идентификации выделенных вирусов использовались вируснейтрализующие сыворотки к трем типам полиовируса, вирусам ЕСНО (1—27 типов), Коксаки В (1—6) и А-9.

При клиническом и бактериологическом исследовании в 5 случаях установлена бактериальная инфекция, осложнившая течение родов. Из органов 3 погибших детей, а также из фекалий ребенка, перенесшего сепсис, были выделены вирусы ЕСНО тип 11. Одновременное выделение энтеральных вирусов у ребенка и матери наблюдалось в двух случаях. Выделенные от матерей, новорожденных и из трупного материала энтеральные вирусы, по-видимому, этиологического значения не имели.

В трех случаях предполагаемых внутриутробных заболеваний, где отсутствовали данные о наличии бактериальной инфекции, у погибших детей были выделены вирусы Коксаки В-1 и ЕСНО тип II. В одном случае отмечено одновременное выделение вируса Коксаки В-1 из органов погибшего ребенка (кишечника с содержимым) и из проб фекалий матери, у которой протекавшая без особенностей беременность осложнилась перед родами нефропатией. Во втором случае был выделен вирус ЕСНО тип II из органов погибшего ребенка и из плаценты и околоплодных вод матери, поступившей в клинику с катаральными явлениями со стороны верхних дыхательных путей. В третьем случае из органов погибшего ребенка выделены вирусы Коксаки В-1 (из мозга) и ЕСНО 22 (из печени). Мать за две недели до родов перенесла инфекционный паротит; но вирусологическому обследованию не подвергалась.

В указанных случаях не может быть исключена вирусная этиология предполагаемой внутриутробной инфекции.

В четырех из 7 изучавшихся пороков развития плода, в анамнезе матерей новорожденных отмечен грипп или катар верхних дыхательных путей, перенесенные в первые три месяца беременности. Дети родились с тяжелыми пороками развития, несовместимыми с жизнью. В двух случаях из органов детей были выделены вирусы ЕСНО (тип 7 и 11), однако, у матерей цитопатогенные агенты обнаружены не были.

И
ли
о-
),
У-
те
4-
1.
з-
о-
1-
4,
1,
о
-
я
-
-
-
3
1

1
Гол
См
Сел
Нил
Ер
Бе
Бли
См
Шу
Фа
Гор
Тер
Ше
Же
Ба
Пе
Ко
По
Гор
Бо
Пи
См
Нил
Ря
Ер
Фе
Же
Ше

О Г Л А В Л Е Н И Е

Часть I

Общая вирусология	
Жданов В. М., Азадова Н. Б., Кульберг А. Я., Туровская Т. С. Электронномикроскопическое изучение синтеза вирусных компонентов с помощью антител, маркированных ртутью	3
Стаханова В. М., Жантиева Е. М. К вопросу о полицистронной структуре миксовирусов	4
Букринская А. Г., Гительман А. К., Воркунова Г. К. Образование репрессора синтеза клеточной РНК в клетках, зараженных миксовирусами	5
Жантиева Е. М., Клисенко Г. А., Стаханова В. М. Сравнительное изучение синтеза нуклеинового компонента вирусов истинной и ложной чумы птиц	7
Гительман А. К., Букринская А. Г. Действие актиномицина Д на образование ранних белков вируса классической чумы птиц	8
Петерсон О. П., Березина О. П. О радиочувствительной стадии в развитии некоторых ДНК-содержащих вирусов	10
Лотте В. Д. Изучение процесса размножения парагриппозного вируса Сендай в клетках тканевой культуры почки обезьяны резус с помощью метода ультратонких срезов	11
Ерман Б. А., Эссель А. Е., Броницкая Е. Ю., Шубина С. Б., Мясникова А. Т. Содержание РНК в клетках культуры ткани Нер-2, зараженной вирусом полиомелита, по данным цитофотометрического изучения	13
Абдумаликова З. А., Носик Н. Н. Изучение активности сукциндегидрогеназы в тканевых культурах, инфицированных вирусом кори	14
Владовец В. В., Резина С. Н. Цитохимические изменения в культуре клеток HeLa в различные сроки после заражения аденовирусом 5 типа и при различных концентрациях вируса	15
Бочаров А. Ф., Гофман Ю. П., Павлова Т. В. Изучение накопления вируса обычного герпеса в культуре ткани	16
Иржанов С. Д., Горбунова А. С. Цитоплазматические включения в клеточной культуре при формировании неполного вируса гриппа	18
Бочаров А. Ф., Гофман Ю. П., Березина О. Н. К морфологической характеристике частиц вируса герпеса в суспензии и тонких срезах инфицированных клеток культуры ткани	19
Ванаг К. А. Электронномикроскопическое изучение субклеточных структур при экспериментальном бешенстве	22
Граф И. А., Смирнова Г. А. Морфология и некоторые свойства вирусов гриппа животных	24
Жданов В. М., Ершов Ф. И. Антибиотик актиномицин Д как витальный краситель и флуорохром	25
Носик Н. Н. Изучение роли окислительного фосфорилирования в развитии вирусных инфекций	28
Громашевская Л. Л., Кузьминская Д. А., Миронова Е. М., Аксено-	

	ва Г. В. Некоторые показатели состояния энергетических процессов в тканях при гриппозной инфекции	29
	Голубев Д. Б., Симановская В. К., Зверева Е. П. К механизму ферментативных сдвигов при вирусной репродукции	29
	Смирнова Г. А., Исаченко В. А., Граф И. А. Особенности химического состава вирусов гриппа А ₂	30
	Селиванов Я. М., Меньших Л. К., Тихоненко Т. И. Хроматография вируса гриппа на ионообменниках	31
	Никитин Е. Е., Сюрин В. Н. К вопросу реактивации вируса ящура и роли белковой оболочки в этом процессе	32
	Ершов Ф. И. Применение микрокиносьемки для изучения цитопатологии вирусных инфекций	34
	Березина О. Н., Бочаров А. Ф., Гофман Ю. П. Метка вируса герпеса Р ³² в культуре ткани	37
	Блюмкин В. Н., Гаврилов В. И., Ершов Ф. И., Змиева Р. Г., Квоков И. И., Левина Д. С. Процессы симпластообразования в клеточной линии СА - sv 40-63--1 по данным микрокиносьемки	38
	Смирнов Ю. А., Вукринская А. Г., Киселев Ф. Л., Тихоненко Т. И. Метод чистки и концентрации вируса Сендай	39
	Шубладзе А. К., Баринский И. Ф., Ананьев В. А. Экспериментальные данные по сравнительному изучению вирусов гепатитов человека и животных	41
3	Фадеева Л. Л., Пырикова А. П., Яковлева Л. С. К вопросу ведения все-союзной коллекции вирусов	42
4	Горбунова А. С. Новые критерии для идентификации миксовирусов	46
5	Терских И. И. Репродукция и природа возбудителя орнитоза (хламидоза). Шаткин А. А., Бескина С. Р. Некоторые закономерности репродукции возбудителей трахомы и паратрахомы	47
7	Желтвая В. В. Применение теории Пуассона для изучения образования инфекционных центров при воздействии фагов на бактерии	49
8	Барштейн Ю. С., Смолий Л. С., Зырина А. М. Об изменении миозина А и В в скелетных мышцах сосунков белых мышей, зараженных вирусом Коксаки АЗ	50
10	Петерсон О. П., Козлова И. А., Мельникова Л. А. Механизм действия ингибиторов на синтез осповакцины и клеточный метаболизм	52
11	Косяков П. Н., Ровнова З. И. Включение антигенов хозяина в структуру вирусной частицы	54
13	Посева Т. А., Косяков П. П., Бердинских М. С. Подавление репродукции вируса путем специфического воздействия на клетку	55
14	Гонсовский Ф. К. Изучение структуры гемагглютинирующих антигенов вирусов гриппа типов А и В	56
15	Бочаров Е. Ф. Свойства нуклеиновой кислоты вируса, выделенного от больных ревматизмом	57
16	Пичушков А. В. Количественное изучение репродукции парагриппозных вирусов 1, 2 и 3 типов в тканевых культурах	58
18	Смирнова Г. А., Демидова С. А. Физико-химические свойства вируса кори. Никитин Е. Е., Сюрин В. Н. Влияние «умеренного» нагревания на термостабильность вирусов	59
19	Рязанова Г. Л. Влияние ионов магния на терминативацию миксовирусов	61
22	Ермольева З. В., Фурер Н. М., Немировская Б. М., Торна Л. К., Файнштейн С. Л. Получение и экспериментальное изучение интерферона	63
24	Фелдмане Г. Я., Ложав В. П., Эреле Г. Е. Изучение некоторых способов концентрирования и очистки интерферона	64
25	Жданов В. М., Ермольева З. В., Фадеева Л. Л., Балежина Т. И., Коробельникова Н. И., Стаханова В. М., Жантиева Е. М. К проблеме изучения образования и особенностей действия интерферона	65
28	Шестопалова Н. М., Рейнгольд В. Н., Гавриловская И. Н., Беляева А. П., Чумаков М. П. Размножение вируса омской геморрагической лихорадки в клетках зараженной культуры тканей (электронномикроскопическое исследование)	67
		70
		77

Тихомирова Т. И., Кармышева В. Я., Карпович Л. Г., Сергеева Г. И. Изучение острой инфекции, вызванной вирусом клещевого энцефалита в клетках перевиваемой культуры почек эмбриона свиньи	71
Соколов М. И., Слепушкин А. Н., Обросова-Серова Н. П., Лозинская Т. М. О совместном культивировании инфекционного вируса и РНК-содержащих препаратов	73
Соколов М. И., Слепушкин А. Н., Обросова Серова Н. П., Лозинская Т. М., Подчерняева Р. Я., Давыдова А. А. Вакцинные свойства некоторых штаммов вируса гриппа типа А-2, полученных путем адаптационной изменчивости и гибридизации	74
Червоцкий В. И. Получение и изучение штаммов вируса орнитоза с измененными свойствами	76
Поникленко А. А., Засухина Г. Д., Брагина Т. М. Естественная и индуцированная изменчивость вируса Западного лошадиного энцефаломелита	78
Засухина Г. Д. Изменчивость вирусов группы клещевого энцефалита под влиянием химических мутагенных факторов	79
Соколов М. И., Обросова-Серова Н. П. Мутанты вируса гриппа, полученные под воздействием некоторых химических веществ	80
Вашкова В. В., Стаханова В. М. Хромосомные перестройки клеток культуры ткани человеческих эмбрионов, инфицированной миксовирусом	81
Лозинская Т. М. Изменчивость патогенности и ингибиторорезистентности миксовирусов при пониженных температурах	82
Кравченко А. Т., Альштейн А. Д., Воронин Е. С. Интерференция между вирусами гриппа и саркомы Рауса in vivo	83
Менткевич Л. М. Изучение вирусной интерференции в опытах на животных	84
Жалтвай В. В. Изучение интерференции свободных и индикаторных фагов при реакции нарастания титра фага (РНФ)	85
Липкинд М. А., Закстельская Л. Я. Изучение интерферирующих свойств вируса гриппа А2 по отношению к вирусу Ньюкаслской болезни в культуре ткани фибробластов куриного эмбриона	87
Левкович Е. Н., Шалунова Н. В. Количественные и качественные основы интерференции в группе арбовирусов	88
Соловьев В. Д., Орлова Т. Г. Механизмы естественного противовирусного иммунитета	90
Соловьев В. Д., Гутман Н. Р. Изучение иммунологической толерантности, обусловленной вирусами	92
Жданов В. М., Демидова С. А., Фадеева Л. Л. Изучение в эксперименте иммуногенных свойств инактивированной, концентрированной и адсорбированной на гидроокиси алюминия коревой вакцины	92
Закстельская Л. Я., Яхно М. А., Пичушков А. В. Некоторые подходы к разработке парагриппозных вакцин	94
Максумов С. С. Экспериментальная разработка безаллергенной ультрафиолетовой антирабической вакцины	95
Васенович М. И. Иммунологическая характеристика гаммаглобулинов сыворотки крови человека	97
Краснова В. Г., Яриева И. М., Борисоник Ц. Б., Мороз О. П., Ходос А. Д., Северина Р. А. Изучение длительности сохранения антител к вирусу гриппа в производственных сериях донорской сыворотки и плацентарного гамма-глобулина	98
Красовская И. А. К вопросу об авидитете противогриппозных диагностических сывороток	100
Бажедомова М. А., Кондрашова З. И. Вируснейтрализующее и тормозящее гемагглютинацию действие противокорьевого гемагглобулина на вирус клещевого энцефалита	101
Виноград И. А. Вирусологическая и серологическая характеристика гриппа в западных областях Украины в 1959—1963 гг. и опыт профилактики его донорской противогриппозной сывороткой и гамма-глобулином	102
Ятель Т. П., Лихторович С. А. К вопросу о гетерологичных серологичес-	

ки
ви
Орло
ро
нь
Рома
ни
Леве
ре
Пого,
ли
Закли
кс
эи
Медг
эи
Гори
К
Гайл
тс
Грае
ги
р
Загр
п,
ц
Дан
а
Гайд
д
Пр
Гром
би
Нест
в
Кан
р
Реш
к
Влас
тс
Голу
в
ц
Бел
р
Кри
н
Нест
к
Серс
е
Счас
л
Ритс
р

ргеева Г. И. энцефалита	71	ных реакциях у людей при естественной инфекции некоторыми миксо- вирусами	104
зипская Т. М. НК содер-	73	Орлова Н. Н., Сироткина Т. С., Смеганин М. А., Каминский И. Т. К вопро- су изучения термостабильного гамма-ингибитора в противогриппоз- ных сыворотках	105
Лозинская ейства неко- тем адапта-	74	Романова Л. Н. Значение предварительной сенсибилизации в возникнове- нии поставакцинальных осложнений	107
орнитоза с	76	Левенштам М. А., Ефимов Е. Е., Шройт И. Г. О механизмах естественной резистентности лабораторных животных к вирусу кори и гриппа	108
я и индуци- цефаломое-	78	Погодина В. В. Тканевые ингибиторы вирусов группы клещевого энцефа- лита (КЭ)	109
фалита под	79	Закирова С. Ф. Изучение пресципитногенных свойств культуральной жи- вотности различных тканевых культур, зараженных вирусом клещевого энцефалита	112
та, получен-	80	Медведева Г. И., Белкина Ф. А., Давыдова Л. И. О неспецифических сдви- гах титров антител (по РИГА) при обследовании в очагах клещевого энцефалита	113
леток куль- совирусам.	81	Горшунова Л. П., Серебряков Н. Г., Головкина Э. М., Рыбасова Е. В. К механизмам серопротекции бешенства	114
зистентнос-	82	Гайлонская И. Н., Васильева В. Н. Иммунологические показатели у де- тей, привитых против полиомиелита вакциной - драже	115
ция между	83	Граневская Н. А., Непомнящий Ю. З. Иммунологическая и цитоморфоло- гическая реакция лимфоидных органов на внутривенное введение ви- руса полиомиелита	117
на живот-	84	Загрямова М. С. Разработка методов изготовления диагностических пре- паратов для постановки реакции связывания компонента при лимфо- цитарном хориоменингите	118
торных фа-	85	Данилов А. И., Громыко, А. И., Бычкова Е. Н., Терских И. И. Аэрозоли и аэрозольная вакцинация	119
их свойств болезни в	87	Гайдамака М. Г., Дромашко А. С., Нагоренко Е. И. О возможности соз- дания иммунологической инертности у взрослых животных	121
ые основы	88		
овирусного	90		
лтерантное-	92		
сперименте ой и ад-	92		
подходы к	94		
и ультра-	95		
лобулинов	97		
дос А. Д., к вирусу плацентар-	98		
диагности-	100		
и тормозя- Булина на	101		
ника грип- профиллак- лобулином	102		
рологичес-			
		Прикладная вирусология	
		Громашевский Л. В. Учение о механизме передачи возбудителей заразных болезней в применении к возбудителям вирусной природы	3
		Нестеренко М. К., Селиванов Я. М. Особенности распространения гриппа в СССР (1958-1963 гг.)	5
		Капторович Р. А. Сравнительное изучение природных очагов бешенства в различных ландшафтных зонах СССР	6
		Решетников П. П. Нозогеография инфекционного гепатита (болезнь Бот- кина)	8
		Власова Л. В. Носительство цитопатогенных вирусов среди здоровых де- тей грудного возраста	10
		Голуб Н. Ф. Распространение энтеровирусов на Украине в 1960-1963 гг. в период осуществления массовой противополиомиелитной вакцина- ции ЖВС	11
		Беляев А. Л., Сухова М. Н., Тетеровская Т. О., Стародубская В. А. К вопро- су об эпидемиологии и этиологии конъюнктивитов в Туркмении	12
		Кривая-Ушеренко Н. И., Лычковская Е. В. Вирусологическое обследова- ние рожениц, больных и переболевших эпидемическим гепатитом	14
		Истомина Т. И., Мындру Л. И. Устойчивость вируса собачьего гепатита к воздействию температуры	15
		Серебрякова Е. К. Выживаемость вируса Коксаки В ₂ во внешней среде и его устойчивость к дезсредствам	16
		Счастливый З. И., Ритова В. В. Диагностика респираторных вирусных забо- леваний по серобанку	16
		Ритова В. В., Ершов Ф. И. Комплексный метод диагностики смешанных респираторных вирусных инфекций	17

Галитаров С. С. Выявление критерия авидитета и его значения у штаммов вируса азиатского гриппа для определения их антигенной структуры в РТГА	18
Дромашко А. С., Гайдамака М. Г., Нагоренко Е. Н. О значении парагриппозных вирусов в этиологии острых респираторных заболеваний	20
Яхно М. А. Экспериментальные данные к усовершенствованию метода получения очищенных и концентрированных парагриппозных антигенов	22
Париж Б. М., Бялик Р. Л., Порубель Л. А. Изучение стабильности лиофилизированного вируса гриппа	23
Колчурнина А. А. Изучение биологических свойств некоторых миксовирусов в связи с их вирулентностью	24
Белоцкий С. М., Левенбук И. С., Чигиринский А. Е., Кравченко А. Т. Повышение чувствительности мышей к малым дозам вируса гриппа	25
Краснова В. Г., Сквирская А. А. Изучение микрофлоры в лакунaх миндалин у больных хроническим танзиллитом	26
Суптель Е. А. Выделение вирусов Коксаки из ликвора при нейроинфекционных заболеваниях	28
Дрейзин Р. С., Сухарева М. Е., Чиджавадзе М. И., Костюков М. А., Гаврилов В. И., Воронин Е. С., Златковская Н. М., Липяева, Нисевич Н. И. Диагностика аденовирусных инфекций человека и обезьян в связи с особенностями локализации возбудителя	29
Владовец В. В., Дмитриева Р. А. К изучению стабильности аденовирусов в воздухе	31
Егоров П. А. Получение типоспецифических антигенов из аденовирусов 3-го и 7-го типов	32
Тебенчук Г. М. Гликопротеиды сыворотки крови и С-реактивный белок при острых респираторных заболеваниях у детей раннего возраста	34
Каган Г. Я., Дрейзин Р. С., Прозоровский С. В., Вихневич Е. М. Агент Итона и другие возбудители микоплазмы — инфекции человека	35
Исаченко В. А., Соковых Л. И. К характеристике гриппозного антигена, сенсibiliзирующего эритроциты	36
Соковых Л. И., Исаченко В. А. Условия выявления специфичности реакции пассивной гемагглютинации при гриппе	37
Кокорев В. С. Получение концентрированных и инактивированных тканевых культуральных антигенов вируса клещевого энцефалита для реакции гемагглютинации и реакции торможения гемагглютинации	38
Усаманходжаев А. Х., Закстельская Л. Я., Струцовская А. Л., Феклисова Л. В. Выделение новых штаммов реовирусов от детей с заболеванием, характеризовавшимся респираторным — кишечным синдромом и поражением печени	40
Лихторович С. А., Максимец В. Г. Вирусологическая и серологическая диагностика первичных форм эпидемического паротита	41
Фомин Д. Х. Опыт применения серологических методов исследования к изучению эритроцитотропизма вируса гепатита	42
Гиммельфарб Я. К., Селецкая Р. М., Онищенко Т. Е. Применение реакции связывания комплемента для обнаружения антигена вируса в смывах из носоглотки при эпидемическом гепатите	44
Гайдамович С. Я., Обухова В. Р., Вагжанова В. А., Мельникова Е. Э., Львова А. И., Уваров В. Н. Диагностикумы арборвирусов для реакций связывания комплемента и торможения гемагглютинации из тканевых культур	45
Карпович Л. Г., Сергеева Г. И. Опыт применения тканевых культур для выделения и идентификации вируса клещевого энцефалита и нового кемеровского вируса	46
Голубев Д. Б., Шлянкевич М. А., Гронин И. П. О природе гемагглютинационных и ферментативных сдвигов при болезни Боткина	48
Кривая-Ущеренко Н. И. Результаты работ по получению и изучению препарата для внутрикожной пробы при эпидемическом гепатите	49
Бычкова Е. Н., Крупина Т. Н., Салтыкова Л. В. Вирусологическое обследование детей больных острым энцефаломиелиитом	51

гачения штаммов
пешней структуры 18

пачения паратрип
заболевания
одники метода по
оших антигенов
стабильности ви
21

торых миксовиру
24

ашенко А. Г. Пе
руса гриппа
в тканях минда
26

при репророфк
28

юков М. А., Гай
ва, Нисенко Н. П.
большого диамет
29

сти аденовиру
31

пу аденовиру
32

активных белок
его взаимодей
ана Г. М., Аста
чевская
туберкулезная
34

теци и вирус ре
36

пробавных сапе
фагита и ре
оциации
А. П., Феклис
степ с заболева
ям синдромом и
38

с серологическ
41

педования к виру
42

менение реакции
вируса в смывах
44

увицова Е. Ф.,
руссов д. и реак
швадзе из тка
45

ных культур для
фагита в нового
46

оте гематогон
в крови
о и изучению
са гепатите
огическое обще
51

Иваненко А. П., Дамьженская И. П., Яблоповская Л. Я. Новые экспе-
риментальные основы выявления степени вирулентности штаммов ви-
русов группы клещевого энцефалита 53

Карпов С. П. Применение реакции погашения геммагглютинации и аллер-
гии в диагностике и эпидемиологии клещевого энцефалита 54

Максудова Н. Ф., Петерсон О. П. Размножение вируса лимфоцитарного
хориоменингита в культурах клеток 57

Горпиунова Л. П., Кошелева Н. И., Еремян Л. К. Культивирование ви-
руса бешенства в клеточных культурах 58

Максумов С. С. Фотодинамическое действие красителей на биологические
и иммунологические свойства фиксированного вируса бешенства 59

Бородин Т. А., Семенюченко Л. А. Изучение биологических свойств 3-х
штаммов фиксированного вируса бешенства (Парижского и Москов-
ских) 60

Канторович Р. А., Горбенко М. Н. К методике серологического исследо-
вания при бешенстве 61

Маевская Т. М. Изучение особенностей штаммов вируса герпеса, выде-
ленных от больных реинфицирующим герпесом 62

Бочаров А. Ф., Ванат А. П., Павлова Т. В. Изучение вирусемии и эри-
троцитов в динамике экспериментальной герпетической инфекции 64

Заиров Г. К., Погода О. М. Сравнительное изучение возбудителей груп-
пы хламидоза (вируса орнитоза и трахомы) 66

Амелин А. Д., Долгова И. П., Васильева Н. Н. Междустаммовые
вариации онкогенного аденовирующего вируса SV₄₀ (ОВ₄₀) 68

Эссель А. П. Некоторые проблемы биоценологии вирусов в связи с воп-
росами изучения их этиологического значения и диагностики 68

Кетиладзе Е. С. Клиника паратриппозных заболеваний 70

Херсонская Р. Я. Особенности общих симптомов при аденовирусных за-
болеваниях и инфекционном гепатите 71

Кумерова Н. Т., Алябьева М. Н. Аденовирусные заболевания у детей
раннего возраста 72

Власова Л. В., Осипцева М. А., Решикова В. Н. Результаты клинко-
вирусологического обследования детей с предполагаемой внутри-
утробной инфекцией 74

ОПЕЧАТКИ

		Насчитано	Сколько читаль
Р	Этот	РАСПИРАТОНЫХ	РАСПИРАТОНЫХ
25	5	тонзиллита	тонзиллита
4	1	дыхательных	дыхательных
1	1	касаются	касаются
2	1	дыхательных путем	дыхательных путем
20	Очтан	Березина О. П.	Березина О. П.

Зак. 1455-80

Л-74275. Подп. к печ. 2/IX-64 г. *
 Формат 60x90/16. Печ. л. 5,0. Тираж 800. Заказ 1455. Цена 90 коп.

Типография, ГОСИНТИ, Москва, Б. Полянка, д. 43

END

UNIVERSAL MICROFILMING CORP.

*Property of George W. Cochran
Utah State University, Logan, Utah.*

АКАДЕМИЯ НАУК СССР

АКАДЕМИЯ МЕДИЦИНСКИХ НАУК СССР

ВСЕСОЮЗНАЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННАЯ АКАДЕМИЯ
ИМ. В. И. ЛЕНИНА

**ТЕЗИСЫ ДОКЛАДОВ
О ПРИРОДЕ ВИРУСОВ
К КОНФЕРЕНЦИИ,
ПОСВЯЩЕННОЙ 100-ЛЕТИЮ
СО ДНЯ РОЖДЕНИЯ
Д. И. ИВАНОВСКОГО**

ИЗДАТЕЛЬСТВО «НАУКА»

Москва 1964

АКАДЕМИЯ НАУК СССР
АКАДЕМИЯ МЕДИЦИНСКИХ НАУК СССР
ВСЕСОЮЗНАЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННАЯ АКАДЕМИЯ
ИМ. В. И. ЛЕНИНА

ТЕЗИСЫ ДОКЛАДОВ
О ПРИРОДЕ ВИРУСОВ
К КОНФЕРЕНЦИИ,
ПОСВЯЩЕННОЙ 100-ЛЕТИЮ
СО ДНЯ РОЖДЕНИЯ
Д. И. ИВАНОВСКОГО



ИЗДАТЕЛЬСТВО «НАУКА»

Москва 1964

Д. И. ИВАНОВСКИЙ В КРУГУ СВОИХ СОВРЕМЕННИКОВ

В. Л. Рыжков

(Институт микробиологии АН СССР, Москва)

Для того, чтобы лучше оценить значение открытий Д. И. Ивановского, необходимо вспомнить ту научную обстановку, в которой протекали его первые работы. В 1892 г., когда Ивановский завершил свой знаменитый опыт по фильтрации сока табака, больного мозаичной болезнью, еще очень многие ученые оспаривали вообще существование у растений болезней, вызванных бактериями, и думали, что все болезни растений вызываются только грибами или другими немикробными агентами. Ивановский был первым, кто доказал, что инфекционный агент мозаичной болезни табака не только не обычная бактерия, но и мельче, чем все известные бактерии. Он очень детально изучал мозаичную болезнь табака и одним из первых ученых исследовал анатомически и цитологически поврежденные, вызываемые у растений вирусными болезнями.

Ивановский открыл внутриклеточные включения при мозаичной болезни табака и весьма подробно описал эти пластинки в клетках больного растения, которые теперь нам известны под именем кристаллов Ивановского.

Хотелось бы также обратить внимание на то, что если учение о вирусах со времен Д. И. Ивановского в своей фактической части проделало совершенно беспримерный, ошеломляющий процесс, то в вопросе о природе вирусов или, вернее, об их месте в природе мы, как это ни странно, собственно не сдвинулись с места со времен первых работ Ивановского. Уже в своей диссертации о мозаичной болезни табака Ивановский (1902 г.) обсуждает разные выдвинутые к тому времени гипотезы о природе вируса и полемизирует со сторонниками представлений о том, что вирусы являются ферментоподобными веществами. И мы в настоящее время вынуждены спорить со сторонниками этих взглядов, причем в последнее время некоторые ученые, которые раньше считали вирусы живыми, теперь перешли в лагерь сто-

ронников неживой природы вирусов и даже говорят, что может быть Либих был более прав, чем Пастер, когда между ними шел спор о природе инфекции.

Ивановскому пришлось выступить и против сторонников спонтанного происхождения вирусных инфекций под влиянием каких-то неблагоприятных обстоятельств. Мы вынуждены в настоящее время тратить труд на полемику с представителями этих взглядов, которые все еще имеются в нашей среде. Вопрос о том, почему так не велик прогресс в области понимания нами природы вирусов, конечно, подлежит еще особому обсуждению.

Д. И. Ивановский был выдающимся представителем русской школы физиологии растений, той русской школы, которая всегда изучала проблемы этой науки на очень широкой сравнительно-физиологической базе, охватывая не только высшие растения, но также и низшие растения, микробы. Может быть, не случайно, что именно в нашей стране, хотя и через много лет после первых работ Ивановского, возникла и физиология вирусов. Если мы так мало сейчас говорим о работах Ивановского в области физиологии растений, то только потому, что его замечательное открытие, осуществленное при помощи свечи Шамберлена, затмило все остальное, сделанное им. Есть немало выдающихся умов, которые несмотря на разносторонность своей деятельности стали знамениты каким-либо одним делом. К числу таких умов мы относим и Сервантеса, известного нам бессмертным «Дон Кихотом», тогда как Сервантес написал много и других, вовсе не плохих произведений. К числу таких умов мы смело отнесем и Менделеева, ум которого был крайне широкий и талант которого был в высшей степени многосторонен, однако он сохранился в потомстве как создатель периодической системы элементов. Таков и Д. И. Ивановский. Он вошел в историю науки одним своим делом, которое он сам вовсе не считал самым главным.

По поводу работ Д. И. Ивановского, которыми была основана современная наука о вирусах, можно было бы сказать словами древней книги: «Камень, отвергнутый строителем, ляжет во главу угла».

(и-

В исто
ярким, но
тылетий, 1
да иногда
ного. Но
ным, и е
самим уч
новится
рической

Так с
мозаично
научной
постанов
факта --
мозаичн
единств
других
шее зн
ных ви
почти
пытно
делане,
том из

В т
ма нер
дисцит
инфект
Феном
вируса
хур, д

Од
этнол
а пре
логич
зий. 1
честв
рующ
ннем
К
двин
что
той

ВИРУСЫ, МЕДИЦИНА И БИОЛОГИЯ

В. М. Жданов

(Институт вирусологии им. Д. И. Ивановского АМН СССР, Москва)

В истории науки бывает немало открытий, освещающих путь ярким, но быстро меркнувшим светом. Проходит немного десятилетий, и о них вспоминают лишь в учебниках и монографиях, да иногда еще при памятных датах, связанных с жизнью ученого. Но бывает и так, что открытие проходит почти незамеченным, и его значение вначале не осознается полностью даже самим ученым. Лишь в последующие годы и десятилетия становится ясным значение открытия и дата его становится исторической.

Так случилось с открытием Д. И. Ивановским возбудителя мозаичной болезни табака, которое положило начало новой научной дисциплине — вирусологии. Безупречная методическая постановка опытов привела к установлению фундаментального факта — фильтруемости инфекционного начала, вызывающего мозаичную болезнь табака. Фильтруемость в то время была единственно надежным критерием дифференциации вирусов от других микроорганизмов, и именно этот критерий имел решающее значение для открытия в последующие годы многочисленных вирусов растений, животных и бактерий, а сами вирусы почти полвека назывались фильтрующимися вирусами. Любопытно также, что кристаллизуемость вирусов — тонкое наблюдение, сделанное Д. И. Ивановским мимоходом, стала предметом изучения почти через 40 лет, а понята была еще позже.

В течение примерно полвека вирусология, развиваясь весьма неравномерно, оставалась преимущественно узкоспециальной дисциплиной — учением о возбудителях определенной группы инфекционных болезней, поражающих животных и растения. Феномен бактериофагии изучался отдельно от общего развития вирусологии, а открытие Раусом вируса, вызывающего саркому кур, долго рассматривалось как частный случай.

Однако уже к началу 40-х годов стало ясно, что вирусная этиология саркомы не является частным и редким парадоксом, а представляет собой типичный пример широкого класса патологических процессов, объединяемых общим названием неоплазий. В последующие два десятилетия вирусная теория злокачественных новообразований (включая лейкозы) стала доминирующей, и ныне развитие онкологии неразрывно связано с учением о вирусах.

К этому же времени изучение природы бактериофагов продвинулось настолько, что никто уже не стал сомневаться в том, что вирусы животных, растений и фаги относятся к одной и той же категории биологических сущностей, объединяемых

общим названием вирусов. Бактериофаги, или, как их теперь стали называть, бактериальные вирусы, явились вместе с тем исключительно удобной моделью для изучения генетики. То, чего не удавалось добиться на классической модели дрозофилы, было получено в максимально сжатые сроки при изучении бактериофагов. Таким образом, вирусология второй раз вышла за рамки узкоспециальной дисциплины и стала основой генетики, а затем — молекулярной биологии.

На модели вирусов были разработаны основы молекулярной генетики и расшифровки генетического кода, универсального для всего органического мира. На модели вирусов были установлены генетические механизмы регуляции метаболизма и раскрыты механизмы синтеза белков и нуклеиновых кислот. Наконец, изучение репродукции вирусов серьезно продвинуло вперед изучение молекулярных и надмолекулярных структур клетки, их функций и регуляции клеточного метаболизма.

Таким образом, развитие вирусологии, особенно за последние два десятилетия, поставило ее в центр медико-биологических наук. Современные онкология, генетика, цитология, биофизика и биохимия просто немыслимы без вирусологии, так как новейшие их достижения основаны в значительной степени, а иногда почти целиком на данных, полученных при изучении вирусов.

Но вирусология имеет много своих задач, которые должны быть решены в ближайшие годы. Среди них — проблемы гриппа и других вирусных инфекций дыхательных путей, гепатита, кори и других распространенных вирусных инфекций. Называя эти проблемы, мы имеем в виду решение вопросов этиологии и патогенеза, клиники, диагностики и терапии, эпидемиологии и профилактики. Не так уже много вирусных инфекций, в отношении которых вирусология добилась решения основных задач, как это сделано, например, в отношении оспы, полиомиелита или бешенства. Между тем, здравоохранение ставит перед вирусологами задачу изыскания эффективных средств лечения и профилактики вирусных болезней с целью их полной ликвидации. Можно без преувеличения сказать, что ныне вирусология находится все еще на начальном отрезке предстоящего длинного пути. Концентрация усилий на важнейших проблемах частной вирусологии может значительно укоротить этот путь, как это произошло с полиомиелитом.

Однако нельзя не видеть, что успешное решение проблемы специфической профилактики полиомиелита зависело не только от концентрации усилий вирусологов, но было также обусловлено общим уровнем, достигнутым вирусологией. Вряд ли удалось бы создать эффективную вакцину против полиомиелита, если бы к началу 50-х годов не был разработан метод однослойных культур клеток.

Поэ
гесно
гии —
механи
ствий
тенции
нитет
инфер

вир
ши
оце
ти
се

Д.
ру
эт
тв
гс
с

з

г

1

и, или, как их тепе...
явились вместе с тем
изучения генетики. Та
ой модели дрозофилы,
жки при изучении ба...
второй раз вышла за
ла основой генетики.

основы молекулярной
кода, универсальног...
и вирусов были уста...
и метаболизма и рас...
иновых кислот. Нако...
о продвинуло вперед
структур клетки, на...
ма.

особенно за последние
едико-биологических
цитология, биофизи...
сологии, так как но...
ительной степени, а
нных при изучении

и, которые должны
— проблемы гриппа
утей, гепатита, кори...
жий. Называя эти
в этиологии и пато...
идемиологии и про...
екций, в отношении
новых задач, как
диомиелита или бе...
ят перед вирусоло...
ств лечения и про...
олной ликвидации.
вирусология нахо...
стоящего длинного
проблемах частной
этот путь, как это

решение проблемы
зависело не только
ю также обуслов...
ией. Вряд ли уда...
лив полиомиелита,
и метод однослой-

Поэтому успехи в решении проблемы частной вирусологии тесно связаны с развитием исследований по общей вирусологии — изучением физики и химии вирусов, их структуры и механизмов репродукции, генетики, а также различных воздействий вирусов на клетки и организмы хозяев (инфекция, латенция, неопластическая трансформация), патогенеза и иммунитета, и, наконец, разработкой основ химиотерапии вирусных инфекций.

О РАЗВИТИИ ФИТОПАТОЛОГИЧЕСКОЙ ВИРУСОЛОГИИ В СССР

К. С. Сухов

(Институт генетики АН СССР, Москва)

Работы Д. И. Ивановского, положившие начало учению о вирусах, содержат некоторые важные заключения, ускользнувшие от внимания исследователей. Так, например, осталось недооцененными и забытым решение вопроса о развитии эпифитотий классического вируса табачной мозаики, намеченное в диссертации Д. И. Ивановского.

Разработка этого вопроса позволяет глубже оценить выводы Д. И. Ивановского об экзогенной природе вирусов. Изучение вирусных болезней растений в СССР, как правило, исходит из этой предпосылки, подтверждая на многих примерах ее плодотворность. В экспериментальных работах советских вирусологов, изучающих фитопатогенные вирусы, могут быть отмечены следующие направления и результаты:

1. Установление покоящегося, анабиотического состояния зрелых вирусных частиц или вирионов.
2. Выяснение связей вирусов с некоторыми клеточными органоидами.
3. Изучение физиологических условий репродукции вирусов в растительных тканях.
4. Изучение вирусных внутриклеточных включений.
5. Установление некоторых закономерностей изменчивости вирусов.
6. Выяснение условий развития вирусных эпифитотий и, в частности, взаимоотношений вирусов с насекомыми-переносчиками.

Ряд работ посвящен практическим задачам борьбы с вирусными болезнями сельскохозяйственных растений.

и
о-
н
й-
а-
у-
ях

МЕСТО ВИРУСОВ В ПРИРОДЕ

«НЕИНФЕКЦИОННЫЕ» ВИРУСЫ

Л. А. Зальбер

(Институт эпидемиологии и микробиологии им Н. Ф. Гамалеи,
Москва)

о
ув-
не-
то-
ис-

ды
ви-
из
до-
ло-
ны

ния

ор-

сов

ости

и, в
счи-

рус-

1. Открытие Д. И. Ивановским вируса табачной мозаики не могло быть понято и должным образом оценено ни автором, ни современниками при существовавшем тогда уровне биологической и медицинской науки. Еще и сейчас приходится нередко встречаться с явной недооценкой значения изучения вирусов для развития современной биологии и медицины.

2. В течение длительного времени вирусы характеризовались как инфекционные агенты субмикроскопической величины, способные размножаться только внутриклеточно. В характеристику вирусов входило также положение о том, что они подобно бактериям являются движущей силой всего инфекционного процесса от его начала до прекращения, что они образуют антитела, в инфицированном животном организме и что они являются относительно термолабильными.

3. В настоящее время известны вирусы, которые неспособны образовывать антитела в инфицированном ими организме (рак молочных желез мышей, вирус болезни скрэпи овец, липовирусы), вирусы, которые переносят кипячение (вирус скрэпи) и, наконец, вирусы, которые только начинают патологический процесс, не принимая участие в его дальнейшем развитии.

4. К последней группе вирусов относятся все вирусы, вызывающие неопластические заболевания. Для содержащих ДНК опухолевых вирусов можно считать доказанным, что механизм их действия на клетку заключается в основном в интеграции их нуклеиновой кислоты с геномом клетки, благодаря чему в клетке возникают наследственные изменения, выводящие клетку из соподчинения системам, регулирующим клеточный рост. Вирус не принимает участия в ускоренном размножении уже трансформированных клеток даже в том случае, если он обнаруживается в опухоли.

ПРИРОДЕ

ВИРУСЫ

им. Н. Ф. Гамалеи.

а табачной мозаики не
оценено ни автором, ни
гда уровне биологиче-
ас приходится нередко
ния изучения вирусов
дицины.

сы характеризовались
ческой величины, спо-
чно. В характеристику
что они подобно бак-
инфекционного процес-
и образуют антитела,
и что они являются

которые неспособны
ими организме (рак
рэпи овец, липовиру-
е (вирус скрэпи) и,
ают патологический
ишем развитии.
ся все вирусы, вызы-
е содержащих ДНК
нным, что механизм
овном в интеграции
е, благодаря чему в
е, выводящие клетку
клеточный рост. Ви-
множений уже тран-
если он обнаружи-

5. Этот процесс по своему механизму принципиально отличен от патологического процесса, вызываемого бактериями и инфекционными вирусами не только тем, что он идет на молекулярном генетическом уровне, но и тем, что при нем не происходит гибели клеток, что имеет место при обычном инфекционном процессе.

6. Вирусы, вызывающие опухолевые заболевания, которые по своему патогенезу не могут быть отнесены к инфекционным, распространяются в природе подобно другим инфекционным агентам, и особенности их распространения не имеют принципиального характера.

7. В последние годы описаны вирусы, изменяющие ферментативный баланс организма. Механизм их действия не изучен, но нет оснований думать, что он тождественен с механизмом действия инфекционных вирусов.

8. Наличие вирусов, не образующих антитела, позволяет предположить существование совершенно неизвестных нам механизмов защиты от подобных вирусных инфекций.

9. Вирусы воздействуют на клетки с помощью нуклеиновых кислот, которые во многих случаях, безусловно, выделены в чистом виде, способны вызывать тот же патологический процесс, который вызывается вирусом, из которого они выделены. Однако точки приложения действия нуклеиновых кислот в клетке весьма различны при инфекционном и неопластическом действии вирусов.

10. Широкое развертывание изучения вирусов совершенно необходимо для прогрессов биологической и медицинской науки в нашей стране и явится лучшим памятником первооткрывателю вирусов Д. И. Ивановскому.

РАЗМЫШЛЕНИЯ О ПРОИСХОЖДЕНИИ И ПРИРОДЕ ВИРУСОВ НА ОСНОВАНИИ ТЕХ ИЗ НИХ, КОТОРЫЕ РАЗМНОЖАЮТСЯ В НАСЕКОМЫХ И РАСТЕНИЯХ

Л. М. Блэк

(Университет. Отделение ботаники. Урбана.
Иллинойс)

В 1935 г. Грин выдвинул гипотезу о происхождении вирусов путем регрессивной эволюции паразитических организмов, приводящей к повышению зависимости паразита от физиологических процессов хозяина. Это в свою очередь связано с потерей паразитом ряда функций и утратой им морфологических

Отли-
и ин-
олеку-
оисхо-
онном

торие
онным,
онным
инци-

рмен-
зучей,
измом

оляет
м ме-

и ки-
истом
кото-
днако
есьма
и зи-

ценно
науки
ителю

ЭВ

С

усов
при-
гиче-
ерей
ских

9

признаков, обеспечивающих механизм жизненных процессов. Грин выдвинул свою гипотезу до того, как вирус был выделен или обнаружен в электронном микроскопе, а также значительно раньше того, как стало известно, что нуклеиновая кислота и белок являются существенными компонентами в формировании вирусных частиц. В то время наше смутное понятие о вирусах как физических единицах сводилось к представлению о них как об отдельных частицах. Наше представление о субмикроскопических клеточных органеллах не могло быть более точным и о большинстве из них мы ничего не знали. На меня произвело впечатление воображение Грина, его провицательность, с которой он представил также полное описание возможной картины происхождения и эволюции вирусов. Нет сомнения, что вирусология -- одна из тех биологических дисциплин, которая начала чрезвычайно быстро развиваться с 1935 г. Однако тщательное знакомство со статьей Грина приводит к выводу, что его гипотеза и сейчас должна привлечь наше серьезное внимание.

За последнее время была выдвинута концепция о том, что вирусы могли произойти из организма хозяина или из организмов, связанных с хозяином. Вирусы, содержащие ДНК, могли произойти от ядерных компонентов, содержащие РНК -- из цитоплазматических элементов. Однако теперь стало известно о наличии компонентов РНК в ядре, а недавние сведения о содержании ДНК в цитоплазматических структурах предостерегают нас от чрезмерной уверенности в нашей клеточной географии в этом аспекте. Эксперименты по трансформации и трансдукции показали, что нормальную ДНК можно удалить из клетки и перенести в другую клетку, где она будет функционировать. Было также показано, что невирусная РНК из одной клетки может функционировать с компонентами другой, не связанной с нею клетки. Эти открытия создают основу, которой не было в 1935 г., для рассматривания происхождения вирусов из органелл клетки.

Несомненно, что все эти соображения, применимые в гипотезе о происхождении вирусов из органелл хозяина, применимы с таким же успехом к гипотезе регрессивной эволюции вирусов из паразитов через их органеллы.

При размышлениях и исследованиях, вопроса о происхождении жизни возникали гипотезы о том, что доклеточные формы самовоспроизводящих биологических единиц могли быть вирусоподобными. Несмотря на то, что до сих пор нам не удалось найти какой-либо вирус, способный к саморепродукции вне клетки или убедительно продемонстрировать репродукцию известных вирусов вне клетки, эти идеи не лишены основания. Однако для этого необходимо, чтобы такие гипотетические вирусоподобные единицы обладали способностью к размножению, не свойственной современным вирусам, или чтобы древние естест-

10

енных процессов. вирус был выделен также значительно новая кислота и в формировании о вирусах влению о них как субмикроскопическое более точным и з меня произвело ельность, с которой картины ения, что вирусом которая начала нако тщательное ду, что его гипотезу.

пция о том, что или из организмов ДНК, могли щие РНК — из стало известно е сведения о со-предостерегают ой географии в и трансдукции ть из клетки и функционировать. дной клетки мо-торой не было вирусом из орга-

енимые в гипотезе, применимы люции вирусов

о происхождении точные формы ли быть вирусам не удалось кции вне клеткуцию известования. Однако вирусомножению, не ревные естест-

венные среды обитания в большей мере способствовали размножению гипотетических вирусоподобных единиц, чем любые из сред, созданных современной наукой. Если вирусоподобные единицы существовали в период доклеточной эволюции, они могли явиться источником для происхождения современных вирусов без эволюции через клеточные состояния. Об этой возможности упоминает Грин.

Когда Грин выдвинул свою гипотезу, вирусы были известны лишь как неопределенные субмикроскопические частицы. Это было одновременно и преимуществом и недостатком.

В настоящее время нам известны существенные детали в структуре вирусов. При этом установлены близкое структурное сходство для вирусов различного происхождения и резкие отличия в структуре для родственных вирусов.

Нам известны также подробности об ультраструктуре клеточных компонентов, позволяющие понять, что они существенно отличаются от вирусов и что эволюция от таких клеточных компонентов к вирусу, вследствие различных особенностей структуры, затруднительна. Все это не могло быть учтено ранее. Однако нам удастся видеть проблески, гармонирующие с гипотезой Грина и показывающие, как вирус может в действительности быть связан с некоторыми клеточными органеллами в процессе своей репродукции.

Указание о размножении некоторых «растительных» вирусов в их переносчиках дало основание считать, что первоначальное разделение вирусов на вирусы растений, животных и бактерий не соответствует действительности. Позднее был предложен другой возможный путь эволюции этих вирусов, размножающихся в насекомых и растениях. Совсем недавно было установлено, что вирус животных ReO и вирус раковых опухолей клевера, размножающийся в растении и насекомом, являются икосаэдрами с 92 капсомерами, двухспиральной РНК молекулярным весом $1,5 \times 10^7$ и отношением *ау/ац*, равным 1,6. Серологическое доказательство родства этих вирусов сомнительно.

Однако это означает, что члены группы очень сходных вирусов размножаются в одном или нескольких отделенных друг от друга хозяевах — млекопитающих, насекомых и растениях.

Решить вопрос о монофилитическом или полифилитическом происхождении этой группы пока трудно, но все же можно себе представить. Вероятно, в ближайшем будущем возникнет также загадка для вирусов желтой карликовости картофеля, и бронзовости томатов. Их, по-видимому, придется отнести в две другие группы, сходные с упомянутой выше в том, что в каждую из них войдут вирусы, способные размножаться в одном или нескольких хозяевах: млекопитающих, насекомых и растениях.

Гипотеза Грина явилась умозрительным распространением на доклеточный мир принципов, основанных на наблюдениях

мно-
ие из
еди-
югли
усоб
юсти

стны
Это

ли в
рное
е от-

кле-
енно
ком-
рук-
анее.
типо-
гель-
про-

иру-
аль-
бак-
дло-
мно-
уста-
олег
ются
еку
еро-
тно.
иру-
г от

ском
себе
икже
нзо-
угие
о из
не-

нием
ниях

41

за одноклеточными и многоклеточными паразитическими орга-
низмами. Среди самих вирусов в настоящее время имеются не-
которые подтверждения того же принципа. Размеры и сложность
структуры вирусов раневых опухолей клевера и карликовости
риса, которые, как известно, размножаются в растениях и на-
секомых, с одной стороны, и малые размеры и простота строения
вируса спутника -- некроза табака, с другой стороны, представ-
ляют собой противоположные крайности по размерам, слож-
ности и корреляции функций в соответствии с гипотезой Грина.
Представляет интерес как с этой точки зрения можно рас-
сматривать вирусы окучивания листьев картофеля и желтой
карликовости ячменя.

О СИМБИОЗЕ НА МОЛЕКУЛЯРНОМ УРОВНЕ

В. Л. Рыжков

(Институт микробиологии АН СССР, Москва)

В конце XIX в., когда стали известны животные с загадоч-
ными зелеными, содержащими хлорофилл, тельцами в клетках,
возник вопрос о том, что собой представляют эти тельца. Неко-
торые считали их органоидами, однако потом оказалось, что
речь идет о симбиотических водорослях. Так возникла проблема
внутриклеточного симбиоза, которая много лет интенсивно раз-
рабатывалась. Многие ученые настолько увлеклись проблемой
внутриклеточного симбиоза, что выступили с представлением
о том, что может быть сама клетка возникла путем симбиоза
разного рода организмов. Мы могли бы назвать среди сторон-
ников теории симбиогенеза выдающихся русских ботаников --
Фаминцына, Козопольянского и других. Следует, впрочем, ска-
зать, что развитие науки показало несостоятельность теории
симбиогенеза и монументальные классические работы Бухнера
подробно осветили широкое распространение и огромное биоло-
гическое значение внутриклеточного симбиоза. Теперь, когда
нам стали известны вирусы, мы вновь стоим перед проблемой
внутриклеточного симбиоза, но на этот раз уже в самой труд-
ной его форме -- на молекулярном уровне.

Напомним, что фактор Каппа у парамеции первоначально
был принят за органоиды, свойственные цитоплазме, а затем
оказался риккетсиями, отдельными организмами. Бактериофаги
в латентном состоянии пребывают в клетках бактерий в форме,
лежащей по размерам в области крупных молекул. Не может

12

тическими орга-
зма имеются не-
еры и сложность
и карликовости
растениях и на-
остота строения
роны, представ-
измерам, слож-
ипотезой Грина.
ия можно рас-
деля и желтой

быть никакого сомнения в том, что эти фаги экзогенны, так как они в известных случаях могут дозревать и выходить из клетки бактерии, заражая другую бактерию, в которой первоначально такого фага не было.

Мы знаем также, что не только свойства животных и высших растений часто зависят от симбиотических грибков и бактерий, но и свойства бактерий могут зависеть от обитающих в этих бактериях на молекулярном уровне фагов. Общеизвестным примером является палочка дифтерии, которая образует токсин только в том случае, если в ней латентно обитают некоторые фаги. Таким образом, симбиоз на молекулярном уровне способен индуцировать разные признаки.

Нами была выдвинута гипотеза, что некоторые явления у бактерий (так называемый половой процесс, трансформация и трансдукция) связаны с симбиотическими организмами, подобными фагу, обитающему в бактерии. С этой точки зрения при рекомбинациях у бактерии происходят рекомбинации не между геномами бактерий, а между геномами симбиотических фагов. Этот парадоксальный взгляд кажется столь парадоксальным только потому, что он непривычен. Наша гипотеза имеет не большие трудности, чем распространенное представление о половом процессе между бактериями. Как известно, так называемый половой процесс между бактериями, в сущности мало похож на половой процесс. Во всех случаях бактерия-донор передает только ограниченное количество признаков реципиенту, причем разные штаммы бактерий передают разное количество этих признаков. Половой процесс у бактерий связывают с наличием особых эписом, носящих фактор фертильности (F+).

Однако фактор F+ вовсе не похож на обычный фактор, детерминирующий пол. Достаточно сказать, что F+ инфекционен и что от него можно извлечь бактерию акридиновыми препаратами и различными другими веществами.

Я с большим вниманием следил за накоплением в мировой литературе новых материалов по интересующему нас вопросу. Мне хотелось знать, будут ли они говорить в пользу выдвинутой мною гипотезы или против нее. Мне кажется, что в настоящее время большинство материалов скорее подтверждает мою гипотезу, чем ее опровергает. Кроме F+, в последнее время узнали много других эписом. Так, мы знаем эписомы, сообщающие бактерии устойчивость сразу к четырем антибиотикам, эписомы колицогенности и т. д. Все эти эписомы в той или другой мере имеют сходную природу с фактором F+, так как большая часть их может переходить из одной бактерии в другую и все эписомы могут между собой интерферировать так, как между собой интерферируют разные фаги.

Таким образом, весьма вероятно, что эписомы являются только симбиотическими организмами, сообщающими бактериям

НЕ

не с загадоч-
ти в клетках,
ельца. Неко-
азалось, что
ла проблема
енсивно раз-
ь проблемой
дствлением
ем симбиоза
еди сторон-
ботаников ---
прочем, ска-
ость теории
ты Бухнера
иное биоло-
терь, когда
проблемой
амой труд-

воначально
е, а затем
стериофаги
й в форме,
Не может

к как
летки
ельно

сших
ерий,
этих
при-
ксин
орые
посо-

ия у
ня и
доб-
при
жду
агов.
ным
г не
по-
вае-
по-
тере-
енту,
ство
тали-

, де-
онен
ара-

овой
осу.
ину-
стоя-
мою
уз-
щие
омы
мере
асгь
омы
ин-

отся
ерич

13

те или другие свойства. Как все это соотносится с конъюгацией бактерии, которая возникает при наличии определенных эпизодов в одной из клеток бактерии,— мы в настоящее время не знаем.

Хотелось бы обратить внимание на то, что нет непроходимой пропасти между половым процессом и паразитизмом. Давно известно, что у некоторых муконовых грибов паразитизм тесно связан с половой поляризацией. Грибок-паразит обитает только на мицелии особи противоположного пола.

Некоторую аналогию в последнее время нашли во взаимоотношениях фага и бактерии. Как известно, некоторые фаги поражают только бактерии, имеющие «мужской пол», т. е. эпизомы F+. Надо думать, что вирусы возникли от микробов в результате приспособления микробов к паразитизму и не исключено, что каким-то промежуточным звеном здесь был половой процесс.

Как-то мною было высказано предположение, что вирусы произошли от бактериофага. Это предположение в последние годы скорее получило некоторое подтверждение, чем было окончательно опровергнуто. Оказалось, что фаги являются наиболее разнообразными по форме представителями мира вирусов. Некоторые фаги имеют вироспоры — самые сложные из всех других известных нам в живой природе спор, другие фаги нитевидные, по своей форме крайне напоминающие широко распространенные, особенно среди патогенных для растений формы вирусов. Оказалось, что, если в других группах вирусов вироспоры имеют или ДНК или РНК, то в группе фагов встречаются как формы с ДНК, так и формы с РНК. Наличие между сходными вирусами, содержащих ДНК, так тех, которые содержат РНК, известно еще только среди вирусов, вызывающих заболевания насекомых. Возможно, что вирусы и возникли в клетках насекомых и что предками вирусов следует считать симбиотических микробов, которые, как известно, в таком большом количестве обитают не только в полостях тел у насекомых, но также и в многочисленных специальных органах — так называемых симбиорганов.

Мы очень далеко ушли в этом докладе в область умозрений; они довольно бесплодны, если не открывают никаких путей для опытной проверки. И если я позволил себе говорить на столь умозрительные темы, то только потому, что я думаю, что в наших руках есть возможность опытной проверки выдвигаемых здесь гипотез. Мир внутриклеточных симбиотических микробов, обитающих у членистоногих, огромен и изучен почти исключительно морфологически. Здесь осталось еще преодолеть некоторые трудности, так как, подобно вирусам, симбиотические микробы в теле насекомых обычно не поддаются культивированию на искусственных питательных средах. Однако развитие техники

с конъюгацией
деленных эпи-
шее время не

ет непреходи-
итизмом. Дав-
в паразитизм
разит обитает

ти во взаимо-
орые фаги по-
», т. е. эпизо-
микробов в ре-
и не исклю-
был половой

что вирусы
в последние
м было окон-
ются наибо-
ира вирусов.
ные из всех
гие фаги ни-
широко рас-
стений фор-
пах вирусов
фагов встре-
личие между
горые содер-
зызывающих
возникли в
ует считать
таком боль-
насекомых,
— так назы-

умозрений;
х путей для
ь на столь-
о, что в на-
ывдвигаемых
с микробов,
и исключи-
еть некото-
ческие мик-
вированию
гие техники

культуры тканей, очевидно, поможет нам преодолеть здесь труд-ности.

Изучение физиологии микробов, обитающих внутри клетки высших организмов и, особенно, членистоногих, изучение взаимоотношений этих микробов с фагами и другими вирусами — вот, как нам кажется, главный путь к выяснению происхождения вирусов.

Нельзя также не обратить внимание на то, что палеонтология до настоящего времени не использована в исследовании вирусов. Вероятно, в янтаре удастся найти личинки насекомых, в которых можно будет обнаружить полиэдры вирусного происхождения или какие-либо убедительные следы этих полиэдров.

Возможно, что разработка методов электронной микроскопии ископаемых остатков позволит с полной достоверностью обнаружить в ископаемом состоянии хотя бы такие вироспоры, как вироспоры группы возбудителей оспы, которые относительно крупны и весьма характерны.

Таким образом, не следует рассматривать проблему происхождения вирусов и проблему симбиоза на молекулярном уровне как недоступную экспериментальному исследованию. Надо думать, что и в этих вопросах изучение вирусов науке удастся, и в короткий срок будут достигнуты такие же большие успехи, какие были достигнуты за последнее время в области изучения морфологии и физиологии вирусов.

ВИРУСЫ ДВУХ ХОЗЯЕВ — РАСТЕНИЯ И ЧЛЕНИСТОНОГИХ И ИХ ОТНОШЕНИЕ К УЧЕНИЮ О ПРОИСХОЖДЕНИИ ВИРУСОВ

К. Маражорш}}

(Бойс Томпсон Институт, Нью-Йорк)

Открытия в вирусологии начались с классических опытов Ивановского, приведших к пониманию вирусных болезней и борьбе с ними. Сегодня учение о вирусах далеко продвинулось вперед и помогает нам познать природу самой жизни. Известно, что нет вирусов, содержащих ДНК и РНК, поэтому любые микроорганизмы не могут быть включены в эту группу.

Так как отношение вируса карликовости риса и некоторых других к животному-хозяину более сбалансировано, чем к растению-хозяину, и так как отношение вирус — насекомое более специфично и ограничено, чем широкий круг растений-хозяев, следует полагать, что отношения между этими вирусами и

уд-
тки
ан-
де-
сло-
нии
ых,
про-
ед-
ко-
бью-
ры,
ль-
ро-
том
ию.
уке
ше
сти

животным-хозяином имеет более долгую эволюцию, чем их ассоциацию с растением.

Теперь ясно, что никадки являются не только переносчиком и промежуточным хозяином патогенных вирусов растений, но могут быть и важным резервуаром вирусов для распространения их в новых районах. Другим аспектом в эволюции вирусов, поражающих никадки, является постепенная потеря средства с их животным-хозяином, если это вирус культивируется длительное время в растениях путем прививок.

Был открыт новый характер отношений между вирусом и хозяином (Марамореш, 1958) - свойство вирусов изменять особенность питания насекомого. Репродукция вирусов в растении и в насекомом, как это выяснено на ультратонких срезах, происходит одинаково. Весьма сходны в формы скопления вирусных масс-включения вируса карликовости риса и раковых опухолей внутри клеток растения и никадки. Развитие техники культуры ткани насекомых, пораженных вирусом раковых опухолей, позволяет иметь весьма удобную систему для изучения начальных этапов образования опухолей.

Когда будет выяснена детально структура вирусов это может привести к синтезу репродуцирующих вирусов. Будет ли это создание жизни? Автор считает это возможным. Если вирусы суть простейшие формы жизни, синтетическое создание этих простых форм представляется возможным. Если, с другой стороны, они являются конечным продуктом длительного процесса деградации, что делает их зависящими от обмена веществ хозяина, синтетическое образование этой исключительной формы паразитизма в пробирке химическим путем неправдоподобно. Вирусологи отвечают на классические проблемы, волнующие биологов, и выдвигают новые проблемы.

НЕКОТОРЫЕ МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЕ ВОПРОСЫ ТРАКТОВКИ ПРИРОДЫ ВИРУСОВ

Х. Ж. Жуматов

(Институт микробиологии и вирусологии АН КазССР, Алма-Ата)

1. За последние годы у нас в стране и за рубежом проводятся разносторонние исследования вирусов, которые в основном касаются их морфологических, биохимических, биофизических свойств в системе клеток хозяина и вне этой среды. При этом получены основополагающие данные о живой и, од-

тов
и
ось
хст-
ые
ых
ас-
лее
ев,
и
15

ию, чем их ас-

лько переносчи-
вирусов расте-
ов для распро-
м в эволюции
исная потеря
рус культиви-
ививок.

ду вирусом и
изменять осо-
ов в растении
срезах, про-
лений вирус-
раковых опу-
тие техники
заковых опу-
для изучения

сов это мо-
в. Будет ли
м. Если ви-
е создание
сли, с дру-
длительного
обмена ве-
ключитель-
ем неправ-
проблемы,

ГОВКИ

ом прово-
в основ-
биофизи-
й среды.
ой и, од-

современно, не живой природе вирусов. Взаимобусловленный переход между указанными состояниями вируса впервые ставится достоянием экспериментального анализа, что, безусловно, революционизирует наши традиционные представления о устоянности жизни.

2. Однако в формировании взгляда того или иного ученого на природу вирусов все еще сильно сказывается характер объекта и методы исследования, что нетрудно видеть на примере изучения стдельных сторон проявления активности вирусов в бактериальных, растительных и животных клетках. Громадное расстояние, которое отделяет эти три класса живых существ в плане их эволюционного развития, специфическим образом отразилось на природе вирусов, а именно: бактериальные вирусы безвредны для растений, растительные вирусы не поражают организма высших животных и наоборот. Явление это, на фоне многообразия приспособительных реакций всех живых систем, оказывается характерным только для вирусов. Отмеченные закономерности, как нам кажется, облегчают рассмотрение вопроса о необычайной специализации паразитизма на уровне вирусов. Именно на жизнедеятельности вирусов выукло наложило свою печать единство структуры и функции живого.

3. Изучение электронно-микроскопической анатомии, по крайней мере бактериальных вирусов и некоторых вирусов человека (например гриппа), не оставляет сомнения в исключительной целесообразности их структуры, обеспечивающей прикрепление вирусных частиц на поверхности клеток, а затем проникновение в них с последующим выходом уже размноженного вируса. При этом характер реакции со стороны клеток может меняться в зависимости от условий эксперимента.

4. Чрезвычайно сходные внутриклеточные включения в организме человека и животных встречаются при вирусных болезнях и в ряде случаев отравлений солями тяжелых металлов, ядами бактериального, растительного или химического происхождения, а также у нормальных организмов при некоторых изменениях обмена веществ. Вопрос об идентификации подобных включений может быть решен только на основании обнаружения в них вирусного белка (антигена) с помощью антител, конъюгированных флюорохромом (прямые и непрямые методы Куиса). Поэтому для полноты анализа любые внутриклеточные включения, подозреваемые как вирусные или сравниваемые с ними, должны исследоваться иммунологическими методами, которые обнаруживают следы белка там, где никакая химическая реакция не в состоянии открыть его.

5. Со времени классических исследований Чаргаффа, Уотсона и Крика, расшифровавших структурные особенности дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) и рибонуклеиновой кислоты (РНК), накопились некоторые данные о строении вирусов

й
1-
3-
00
1-
ев
3г
3

животных и человека. У 25 видов вирусов получен препарат РНК, и все авторы согласны в том, что инфекционность свойственна только вирусной РНК. Поэтому она, как биологический феномен, привлекает наибольшее внимание исследователей. В качестве генетического материала, полученного в почти химически чистом виде, вирусные РНК являются уникальными для рассмотрения формообразовательных процессов на молекулярном и субмолекулярном уровне.

6. В природных условиях РНК не может осуществлять указанную функцию вне целостного вируса, в этом смысле РНК рассматривается как одна из структурных единиц вируса. Правильно некоторые авторы, которые говорят, что открытие инфекционности химически чистого препарата РНК не имеет никакого эпидемиологического значения. Но этим и другим соображениям мы выступаем против фетишизации РНК и ДНК вирусов; оба эти компонента — мертвые, поскольку в чистом виде они в природе не существуют и не могут существовать. Разговоры о возможности осуществления интеграции жизненных функций химически чистыми полимерами (тип РНК) без участия белка лишены всякого основания. Однако следует признать, что обнаружение способности РНК кодировать, при благоприятных условиях эксперимента, синтез вирусного белка в восприимчивой клетке является крупным достижением молекулярной биологии. Все добытые этой наукой факты не противоречат, на наш взгляд, представлениям о живой природе вирусов.

Положения автора иллюстрируются флуоресцентно-микроскопическими препаратами, иллюстрирующими динамику накопления вирусного белка в легких мышей, зараженных интраназально растворами РНК гриппозных вирусов А, А₂ и динамику иммунологических реакций.

О САПРОФИТНЫХ (СВОБОДНО ЖИВУЩИХ) ВИРУСАХ

А. Е. Проценко

(Институт микробиологии АН СССР, Москва)

Общепризнанным является положение, что жизнь на земле возникла вначале в форме неклеточных организмов. Уже в процессе эволюции образовались одноклеточные, и далее — многоклеточные организмы.

В настоящее время существует все многообразие форм филогенетического развития жизни — от простейших одноклеточ-

лучен препара-
рекцияность
как биоло-
гические исследо-
вания в
данным процес-

двлять ука-
мысле РНК
вируса. Пра-
не инфекци-
е никакого
соедине-
и ДНК ви-
вестом виде
ать. Разго-
жизненных
) без уча-
дуст при-
, при бла-
о белка в
м молеку-
противо-
ироде ви-

но-микро-
мику на-
ях нитра-
и дини-

x

а земле
Уже в
талее —

орм фи-
клеточ-

ных до очень сложных цветковых растений и млекопитающих животных, существуют параллельно с ними и неклеточные организмы — вирусы — облигатные паразиты.

Нет оснований отрицать существования в настоящее время неклеточных организмов, родственных вирусам, но обитающих вне живого организма, у которых в прошлом был один, общий с вирусами предок. Эту ветвь неклеточных организмов, близких к вирусам и использующих для своего существования мертвые органические соединения, называют сапрофитными вирусами.

То, что такие, свободно живущие или сапрофитные вирусы еще не обнаружены, не означает, что они не существуют. В свое время и бактерии не были известны, однако они существовали. Так же и паразитные вирусы существовали, хотя науке до 1892 г. они и не были известны.

Местом обитания сапрофитных вирусов должен быть или на дне различных водоемов и почва, содержащая разлагающиеся органические соединения. Условия в илах водоемов и в почвах во все геологические периоды, после зарождения жизни и до настоящего времени, были достаточно благоприятными для существования различных микроорганизмов, в том числе и сапрофитных вирусов.

Предполагая, что вирусы паразитные и вирусы сапрофитные родственны между собой, можно думать, что и те и другие имеют вироспоры сходной формы.

Исходя из этих предположений, мы исследовали в электронном микроскопе воду из смешанной культуры водорослей, а также ил из нескольких водоемов.

Для исследования ил взмучивали в дистиллированной воде или в воде того водоема, из которого он взят. После отстаивания или центрифугирования при 5000 оборотов в течение 10 мин. каплю воды наносили на сетку с пленкой — объектодержатель.

При просмотре в электронном микроскопе приготовленных таким образом препаратов были обнаружены частицы разнообразной формы. Встречались нити, бесспорно являющиеся жгутиками или обломками их различных видов бактерий. Они достаточно хорошо распознаваемы, так как электронные микрофотографии бактерий и их жгутиков опубликованы в многочисленных статьях.

В относительно небольшом числе случаев встречались формы, описанные Никитиным и Стефановым (1963). Они не имеют сходства с формами вироспор известных вирусов.

На одной из микрофотографий представлены однообразные по длине и толщине палочковидные частицы (1350×50 мкм). Как видно на фотографии, их никак нельзя считать обломками жгутиков. На другой микрофотографии имеется частица,

ающих
ые ор-
время
ающих
общий
, близ-
ования
тими

вирусы
твуют.
еуще-
а, хотя

ил на
щися
в поч-
изни и
ли для
и са-

рофит-
другие

ктрон-
лей, а

ї воде
таива-
ечение
ьекто-

енных
знооб-
і жгу-
и до-
икро-
ного-

фор-
име-

азные
ммк).
ками
стица,

19

напоминающая вироспору бактериофага, но с более крупной головкой и длинным «хвостом», составленным из членков в виде нитки бус. На последующих микрофотографиях изображены палочковидные и нитевидные частицы толщиной в 20—25 ммк и длиной от 300—500 до 700 и более ммк. Кроме нитевидных частиц, встречаются и сферические различных размеров — от 20—25 до 100 и 150 ммк.

О природе наблюдаемых частиц можно предполагать, что это или вирусы, поражающие водоросли и водные растения, или вироспоры сапрофитных вирусов.

Первое предположение менее вероятно. Частиц с водной взвесью ила почвы очень много. Исходя из этого, можно было бы предполагать, что большинство водорослей поражено вирусами. Альгологи давно и довольно тщательно изучают водоросли самых различных водоемов, но каких-либо аномалий в развитии их, которые можно было бы считать вирусными заболеваниями, не наблюдали. То же можно сказать и в отношении водных растений.

Второе предположение более вероятно, так как в илах и почве достаточно большое количество и самых разнообразных органических соединений, которые могут быть использованы сапрофитными вирусами.

Задачей дальнейших исследований является подтвердить экспериментальными работами принадлежность наблюдаемых в электронном микроскопе частиц сапрофитным вирусам.

РОЛЬ УСЛОВИЙ ЖИЗНИ РАСТЕНИЙ В ЭВОЛЮЦИИ ФИТОПАТОГЕННЫХ ВИРУСОВ

Ю. И. Власов

(Всесоюзный институт защиты растений, Ленинград)

На эволюцию фитопатогенных вирусов оказывает влияние, в частности: а) перенесение культурных растений в новые географические районы, в результате чего происходит приспособление вирусов, циркулирующих в природных очагах инфекции, к новым хозяевам; б) прямое воздействие внешних условий на изменение взаимоотношений между вирусом и пораженным растением; в) изменение условий агротехники, которое может изменять пути распространения фитопатогенных вирусов.

1. Теория акад. Е. Н. Павловского о природной очаговости трансмиссивных болезней имеет широкое биологическое значение, и ее принципиальные положения применимы и к вирус-

более крупной
членников в ви-
их изображены
в 20-25 мм
те невидных
размеров — от

полагать, что
ые растения,

ни с водной
можно было
ражено виру-
ают водорос-
малый в раз-
ными заболе-
в отношении

ак в илах и
знообразных
использованы

подтвердить
аблюдаемых
вирусам.

в

ет влияние,
новые гео-
приспособ-
инфекции,
условий на
эраженным
рое может
усов.
очаговости
кое значе-
к вирус-

ным болезням растений. Возможные пути эволюции вирусов, связанных с природными очагами, рассмотрим на примере изученной нами желтухи бобов (*Vicia faba* L.). На эту болезнь было обращено внимание в результате продвижения бобов в новые районы, где ранее эта культура не выращивалась. Как оказалось, в этих районах существовали природные очаги вируса. Устойчивая циркуляция вируса в природе осуществляется следующим образом: многолетние сорняки (*Cirsium arvense* L. и др.) — тли (*Aphis fabae* Scop.) — многолетние сорняки. Таким образом, биология вируса желтухи бобов фактически не связана с наличием или отсутствием культуры бобов. При выращивании бобов в зоне природных очагов инфекции происходит переход вируса с помощью тли на эту культуру. Подобных примеров перехода вирусов из природных очагов инфекции на новые, контактирующие с этими очагами, виды культурных растений, можно привести немало. Таково происхождение многих, так называемых «новых» вирусных болезней культурных растений. В дальнейшем, в случае создания условий для длительной адаптации вирусов к этим вновь приобретенным хозяевам, может, очевидно, произойти в процессе эволюции заметное изменение свойств вирусов по сравнению с исходными природноочаговыми формами.

Интересно отметить, что сорняки-носители вируса желтухи бобов обычно не имели сколько-нибудь заметных внешних симптомов болезни. Такое латентное носительство инфекции в сорняках, очевидно, выработалось в результате длительного эволюционного процесса, направленного на поддержание устойчивой циркуляции вируса в данном природном очаге (понятно, что при очень сильном поражении сорняков и невозможности в связи с этим их перезимовки вирус не мог бы устойчиво сохраняться в природе). В то же время при переходе инфекции на бобы вирус вызывает чрезвычайно резкие симптомы болезни (скручивание и измельчение листьев, хлоротичность верхушки и др.).

2. Процессы изменения взаимоотношений растений и вирусов тесно связаны с условиями внешней среды. Так, устойчивость томатов к стрикку (возбудитель — ВТМ) повышается при оптимальных световых и температурных условиях выращивания томатов (Власов, 1955). В Ташкентской области аспирантом ВИЗР А. Ю. Абдукаримовой показано, что в открытом грунте разные типы стрика томатов развиваются на луго-болотных почвах, и проявление болезни практически не наблюдается на сероземах (однако в последнем случае вирусы-возбудители стрика часто отсутствуют в растениях в скрытом виде). На основе этих и подобных примеров нетрудно представить, что, благодаря разнообразию условий произрастания растений, в процессе эволюции формировались и совершенствовались

сов,
изу-
знь
в в
как
ви-
тия
: L.
ким
иза-
ти:
ди
ри-
но-
ных
по-
ных
ли-
яе-
тет-
ри

ухи
них
и в
ого
ус-
по-
ж-
чи-
лек-
бо-
ер-

ру-
чи-
три
ва-
ан-
гом
ют-
тся
ели
На
ито,
, в
ись

21

путем отбора наиболее целесообразные взаимоотношения между вирусами и растениями-хозяевами. Поскольку для растений чрезвычайно сложно выработать полную защиту от заражения вирусами, эволюция шла в сторону развития и закрепления латентного вирусоносительства, когда инфекция в определенных условиях становится практически безвредной для растений. Массовые случаи латентного носительства инфекции наблюдаются и при вирусных болезнях насекомых (С. М. Гершензон). Закрепленное эволюцией явление латентного носительства или слабого развития внешних симптомов болезни особенно часто наблюдается в природных очагах инфекции, менее резко выражено и подвергается колебаниям в зависимости от условий при сравнительно недавнем переходе вирусов на новые растения-хозяева.

3. Изменение условий культуры растений заметно влияет на пути распространения вирусов. Такие «контактные» вирусы как ВТМ, X- и S-вирусы картофеля заражают растения в основном при процессах ухода за ними (например, при пасынковании, тематом, обработке почвы и т. д.). Очевидно, прежние естественные пути распространения для некоторых штаммов этих вирусов в значительной мере утеряны. В то же время предварительное сообщение о наличии X- и S-вирусов картофеля на ряде видов сорняков в Белоруссии (Амбросов, 1963), в принципе подтвержденное (в условиях Средней Азии) лабораторией вирусологии ВИЗР, свидетельствует, что многие штаммы так называемых контактных вирусов и сейчас еще имеют естественные пути распространения в природе, которые, вероятно, связаны с насекомыми-переносчиками. Таким образом, в ближайшее время, очевидно, представится возможность наглядно продемонстрировать разные ступени эволюции путей распространения так называемых контактных вирусов.

Ряд фактов, в том числе приведенные здесь, показывают, что взаимоотношения вирусов с растениями несут на себе «отпечаток» длительной эволюции. На их формирование существенное влияние оказывали изменяющиеся условия жизни растений. С эволюционной точки зрения вполне объяснимо возникновение и широкое распространение латентного вирусоносительства, недостаточный учет которого, по-видимому, является одной из методических ошибок сторонников гипотезы спонтанного (эндогенного) происхождения вирусов.

С позиций учения о природной очаговости инфекций понятие возникновения так называемых новых вирусных болезней культурных растений.

СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К КЛАССИФИКАЦИИ ВИРУСОВ

С. Я. Гайдамович, В. М. Жданов

(Институт вирусологии им. Д. И. Ивановского АМН СССР,
Москва)

1. С момента открытия Д. И. Ивановским вирусов прошло более 70 лет. За это время от частных вопросов патологии паука о вирусах поднялась до уровня изучения общих закономерностей. Огромный фактический материал, который накопился за это время, создал фундамент для обобщений. На уровне современных знаний вновь встает вопрос о месте вирусов в природе их возможной эволюции и систематике.

2. В СССР одной из первых была работа Ш. Д. Мошковского, в которой предлагалась классификация цитотропных агентов, охватывшая сравнительно темного вирусов. В 1950 г. свои схемы классификации предложили В. М. Жданов и Р. С. Коренблит и, одновременно, В. Л. Рыжков. В. М. Жданов значительно дополнил и расширил свою классификацию новыми, в том числе и мало изученными вирусами, в «Определителе вирусов животных».

3. На V Международном конгрессе микробиологов в Рио де Жанейро опорными для классификации было выдвинуто восемь критериев: 1) морфология и способ репродукции; 2) химический состав и физические свойства; 3) иммунологические свойства; 4) чувствительность к физическим и химическим агентам; 5) естественный путь передачи; 6) тропизм к хозяину, ткани, клетке; 7) паталогия (включая формирование включений); 8) симптоматология.

Перечисленные критерии не являются равноценными: наряду с такими, которые характеризуют основные биологические свойства вирусов (пп. 1, 2, 4), в большинстве они являются шаткими и носят временный характер.

4. Данные о морфологии, химическом составе и размножении вирусов характеризуют их как особую категорию среди других представителей живой природы.

5. По строению вирусной частицы (тип симметрии, количество капсомеров, наличие внешних оболочек) и химическому составу (тип нуклеиновой кислоты, наличие или отсутствие липидов и, отчасти, соотношение оснований нуклеиновых кислот) возможно более или менее определенно выделить несколько родственных групп вирусов, причем некоторые из них объединяют вирусы животных и вирусы растений, вирусы животных и фаги.

6. Потребность рациональной классификации вирусов ощущается в практической работе. В связи с тем, что количество известных науке вирусов все возрастает, необходимо располагать

отношения между
жу для растений
ту от заражения
закрепления да-
в определенных
для растений.
наблюда-
М. Гершензон).
особенности или
особенно часто
резко выра-
от условий при-
овые растения-

етно влияет на
е» вирусы как
на в основном
пасивации
прежние есте-
штаммов этих
время предва-
картофеля на
1963), в прин-
ла) лаборато-
югие штаммы
е имеют есте-
ые, вероятно,
разом, в бли-
ость наглядно
уей распро-

показывают,
на себе «от-
вание суще-
овия жизни
яснимо воз-
то вирусоло-
ому, являет-
ютезы спон-

кций понят-
их болезней

четкими и доступными тестами определения кардинальных признаков. Такими являются метод подавителей репродукции вирусов и избирательное действие некоторых солей красок для определения типа нуклеиновой кислоты, чувствительность к эфиру и дезоксирибозе, как суждение о наличии липидов. В установлении более мелких подразделений немаловажное значение имеет термоустойчивость при 56°С и стабильность в зоне рН 3,0. Решающую роль играют антигенные связи, для выявления которых разработаны усовершенствованные тонкие модификации серологических реакций.

1
-
-
э
з
-
х
и
в
-
е
-
е
-
у
э
-
я
-
и
-
е
-
ю
е
с-
ь-
ь-
т-
-
у-
з-
ть
23

МЕХАНИЗМ РЕПРОДУКЦИИ ВИРУСОВ

О МЕХАНИЗМАХ РЕПРОДУКЦИИ ВИРУСОВ ЖИВОТНЫХ

В. М. Жданов

(Институт вирусологии им. Д. В. Пассераева АМН СССР,
Москва)

После того как к концу 50-х годов были получены фундаментальные данные о механизме репродукции бактериальных вирусов (фагов), изучение механизмов репродукции вирусов, поражающих человека и животных, стало развиваться широким фронтом и быстрыми темпами. Обобщение их является далеко не легкой задачей, так как новые факты, относящиеся не только к деталям, но и к существу проблемы, появляются в виде публикаций почти ежемесячно.

Вирусы животных более разнообразны по своей структуре, нежели фаги, на которых проводились упоминавшиеся исследования. Среди них имеются и ДНК- и РНК-содержащие вирусы, причем обе нуклеиновые кислоты могут быть как односторонними (вирусы полиомы, полиомиелита), так и двухсторонними (вирус оспы, вирус Сендай). Имеются вирусы с кубическим и винтовым типами укладки капсомеров, без внешних оболочек и с оболочками (соответственно энтеровирусы, вирусы герпеса, гриппа). Несмотря на такое разнообразие структуры вирусов животных, имеются некоторые общие закономерности их развития в клетках, и это прежде всего относится к основным фазам и основным механизмам репродукции вирусов.

По-видимому, общим для всех вирусов, поражающих животных, является наличие следующих основных фаз взаимодействия вируса с клеткой:

1. Проникновение вируса в клетку и депротенинизация его нуклеиновой кислоты.
2. Перестройка вирусом метаболизма клетки и синтез специфических ферментов, необходимых для репродукции вируса.
3. Синтез нуклеиновых и белковых компонентов вируса.
4. Формирование зрелых вирионов и выход их из клетки.

Это подразделение цикла репродукции вируса на отдельные фазы может вызвать возражения, так как в одной и той же фазе фактически объединены разные события. Так, проникновение вируса в клетку и депротенизация его нуклеиновой кислоты являются, в сущности, разными, самостоятельными фазами взаимодействия вируса с клеткой, а первая из них в свою очередь может быть подразделена на фазу прикрепления вируса к клетке и фазу проникновения его в клетку. Эти две или три группы событий мы объединили в одну фазу лишь потому, что они происходят одновременно и взаимосвязаны между собой. Эти же соображения относятся и ко всем другим этапам, также приведенным в укрупненном плане.

Механизм проникновения вируса в клетку, который еще недавно вызвал споры между сторонниками гипотез виролексиса и дезинтеграции, в настоящее время изучен довольно детально, и в результате упомянутые альтернативные гипотезы оказались взаимодополняющими. На модели разных вирусов (миксовирусы, вирус герпеса, итеровирусы и др.) было показано, что адсорбция (прикрепление) происходит либо на микопоротенновых, либо на липопротеиновых рецепторах. Основным механизмом проникновения вируса в клетку является инвазия. Вместе с тем сразу же после адсорбции вируса на поверхности клетки начинается дезинтеграция вирусной частицы, которая продолжается и большей частью завершается в вакуоли, образовавшейся в процессе виролексиса. По-видимому, литические энзимы интеллазмы, и прежде всего клеточной стенки, являются ответственными за этот процесс, хотя в некоторых случаях необходима индукция специальных «раздваивающих» энзимов, как это имеет место при деградации нуклеокапсида вируса оспы. Конечным результатом этой фазы является освобождение вирусной нуклеиновой кислоты от белковых оболочек, без чего невозможна репродукция вируса в клетке.

Репродукции вируса предшествует перестройка вирусом клеточного метаболизма и синтез специфических энзимов, необходимых для образования составных частей вируса. Эта фаза нередко обозначается как экликс, так как в это время не удается обнаружить вирус обычными методами (определение инфекциозных титров, антигенов и др.).

Можно было бы следующим образом определить взаимодействие вируса с клеткой после того, как нуклеиновая кислота лишена белковых покровов: с этого момента вирус и клетка представляют как бы единый организм, программа работы которого задается вирусным геномом и исполняется клеткой, геном которой выключен полностью или частично. Именно с этого момента до начала формирования вирионов вирус является чувствительным к жестким электромагнитным излучениям (квантам высокой энергии).

да-
ных
гов,
ро-
да-
не
я в

не-
ова-
сы,
вы-
ымн
ким
обо-
усы
кту-
эно-
гно-
ции

жи-
тей-

его
спе-

уса на отдельные
одной и той же
Так, проникно-
его нуклеиновой
мост-ягельными
первая из них в
у-прикреплена
клетку. Эти две
фазу лишь по-
тосвязаны меж-
сем другим фа-

который еще
гипотез виро-
учен довольно
ивные гипотезы
азных вирусом
азных вирусом
сы и др.) бы-
неходит либо
рецепторах.
летку являет-
рбции вируса
вирусной ча-
авершается в
По-видимо-
го клеточной
хотя в неко-
х «разделяю-
и нуклеокап-
изы является
мтковых обо-
клетке.

ка вирусом
зимов, необ-
з. Эта фаза
смя не уда-
тельство ин-

взаимодей-
ая кислота
с и клетка
работы ко-
леткой, ге-
нно с это-
с является
злучениям

На примере РНК-содержащих вирусов можно видеть, что включение клеточного генома осуществляется с помощью белков (пептидов) типа протаминов или гистонов, синтез которых индуцируется вирусом в раннем эclipse. Эти репрессоры, с одной стороны, прекращают синтез клеточной иРНК, с другой стороны, препятствуют репликации клеточной ДНК. Их резуль- тативное действие сходно с действием актиномицина Д, хотя механизмы их различны (соответственно укутывание и ин- теркаляция). На модели энтеровирусов также показано, что приостановка синтеза белков клетки осуществляется также с помощью белка, разрушающего агрегаты иРНК и рибосом (лизосомы). Репликация вирусной РНК независима от клеточ- ных механизмов и осуществляется с помощью вновь синтезиро- ванной РНК-РНК полимеразы.

У ДНК-содержащих вирусов в этой стадии происходит пе- рераспределение ДНК-ДНК полимеразы между цитоплазмой и ядром (аденовирусы) или синтез собственной ДНК-ДНК по- лимеразы и других энзимов, обеспечивающих синтез вирусной ДНК -- тимидин -- киназы, тимидилат -- киназы (вирусы герпе- та, оспы). Механизмы подавления деятельности генома клетки мало изучены, к тому же это подавление может быть непол- ным или даже отсутствовать.

Синтез вирусных нуклеиновых кислот и белков у вирусов обычно разобщен территориально и во времени (дизъюнктив- ный способ размножения) нуклеиновые кислоты, независимо от их характера, могут синтезироваться в ядрышках (вирус Сен- тай), в ядре (вирусы гриппа, герпеса, аденовирусы), в цито- плазме (вирусы оспы, энтеровирусы). Вирусные белки также могут синтезироваться в разных частях клетки, либо однове- менно с нуклеиновыми компонентами, либо отдельно от них интервалами времени.

Формирование нуклеокапсидов (или вирионов, состоящих из нуклеокапсидов) можно объяснить явлениями полимеризации, наступающими по достижении белками критической concentra- ции. Видно, поэтому данный процесс воспроизводится на бес- клеточных структурах.

Для формирования внешних оболочек нужны интактные клетки с действующими системами монтажа надмолекулярных структур и внутриклеточного транспорта. При этом формиро- вание внешних оболочек может быть связано с ядерными (гер- пес) или клеточными (грипп) стенками.

Цитопатическое действие вирусов можно понять, с одной стороны, как нарушение гомеостаза клетки, с другой -- как результат включения некоторых клеточных разрушающих ме- ханизмов (лизосомы).

СИНТЕЗ ВИРУСА МОЗАИКИ ТАБАКА В БЕСКЛЕТОЧНОЙ СРЕДЕ

Г. Кохран

Университет, Отделение ботаники и фитопатологии,
Логан Юта, США

S S H A

За последние три года исследованиями, проведенными при лабораторной вирусологии Университета штата Юта, были получены данные, свидетельствующие о возможности формирования новых молекул инфекционной РНК-вируса табачной мозаики путем объединения химически простых составляющих единиц (рибонуклеозид-5'-трифосфатов) в бесклеточной системе, выделенной из клеток зараженного ВТМ табака. За первые 30 мин. инкубации наблюдалось 3 — 4-кратное увеличение инфекционности. Данные, свидетельствующие об утилизации введенных в систему компонентов при синтезе вирусной РНК, были получены в экспериментах с меченым С¹⁴-углеродом, а также в экспериментах с применением 5-фторурацила вместо урацила. В последнем случае удается получить высокоинфекционную РНК, которая, однако, отличается от нормальной РНК ВТМ по физическим свойствам. Эта вновь синтезированная вирусная РНК была отделена от нормальной вирусной РНК ультрацентрифугированием в градиенте плотности. Эта РНК была, кроме того, более чувствительна к инактивации УФ-светом, чем нормальная РНК ВТМ.

Дальнейшими исследованиями было установлено, что новая вирусная РНК может быть синтезирована с использованием инфицированных ядер или инфицированных хлоропластов. Разрушение ядер или хлоропластов ультразвуком приводит к увеличению синтеза. По-видимому, в этих экспериментах некоторая форма вирусной РНК выполняла роль матрицы, которая копировалась в бесклеточной системе.

Далее была изучена возможность использования хлоропластов и ядер, выделенных из здоровых растений. Было установлено, что нормальные хлоропласты и ядра начинают синтезировать вирусную РНК при добавлении небольших количеств хлоропластов, выделенных из клеток больных растений. При этом наблюдается очень значительное увеличение инфекционности (в 1000 раз и более) вирусной РНК за три часа инкубации. Аналогичный эффект наблюдался при введении в бесклеточную систему инфекционной вирусной РНК вместо «зараженных» хлоропластов. Эти эксперименты свидетельствуют о том, что нормальные хлоропласты растений (фасоль или табак) могут синтезировать новую вирусную РНК после введения «заправки», а также позволяет предположить, что нормальные хлоропласты могут синтезировать и новый посторонний белок.

поск
мера
виру
счит
код
ный
ная
ния
вид

поп
на
не,
он
бел
чв:
рус
ста
жу
жс
то
Р
на
ж
со
де
р

ш
ф
ш
ш

п
П
м
«
в
т
р
ч
т
с

д
с
р

поскольку известно, что специфический фермент — ВТМ-РНК-полимераза должен быть синтезирован для последующей репликации вирусной РНК. Вирусная РНК несет генетический код, который считывается рибосомами хлоропластов. В соответствии с этим кодом образуется чужеродная полимеразы. Вновь синтезированный фермент в дальнейшем взаимодействует с матрицей (вирусная РНК) для образования новых копий посредством связывания в надлежащей последовательности друг с другом 5'-нуклеотид-трифосфатов.

Далее можно предположить, что, поскольку нормальные хлоропласты и ядра могут синтезировать один посторонний белок на основе информации, содержащейся в вирусной РНК-матрице, то при считывании следующей части кода вирусной РНК они, возможно, способны создавать и второй тип чуждого им белка. Этот второй тип белка, одевающий нуклеиновую кислоту, является «защитным» белком вирусной частицы. В зрелой вирусной частице цепь нуклеиновой кислоты свернута наподобие спиральной пружины и закрыта внешним защитным слоем, состоящим из 2200 субъединиц вирусного белка. Мы заключили так же, что нормальные системы с участием ядер и хлоропластов способны синтезировать оба типа чуждых им белков и вирусную РНК и что РНК сможет ассоциировать с белковыми субъединицами с образованием вирусных частиц, при увеличении продолжительности реакций в бесклеточной системе. Очевидным способом продления синтетических реакций является непрерывное добавление новых дополнительных количеств нормальных хлоропластов к синтезирующей системе.

С целью проверки этой гипотезы были выполнены дальнейшие эксперименты и установлено, что нормальные хлоропласты способны продуцировать новые высокоинфекционные вирусные частицы (палочковидные нуклеопротеиды) в присутствии вирусной РНК.

Новые полностью меченые частицы вируса были получены при добавлении радиоактивных нуклеотидов или аминокислот. По степени включения радиоактивных «строительных блоков» можно заключить, что хлоропласты доставляют более, чем 99% «строительного» материала, используемого при формировании вируса. Было обнаружено, что при инкубации хлоропластов в темноте образуется значительно меньшее количество нового вируса, чем при инкубации на свету. Это свидетельствует о том, что фотосинтетические процессы могут доставлять аминокислоты и нуклеотиды более и менее непосредственно для реакций, связанных с синтезом вируса.

Синтез вируса в бесклеточной системе ингибировался при добавлении пенициллина, стрептомицина и микостатина. В настоящее время неясно, в какой форме находится активная вирусная РНК-матрица, но можно предположить, что это новая,

зелеными при
та, были полу
формирования
и молекулы пу
их единиц (ри
тимо, выделяе
рива (3) мин
те инфекцион
и введенных в
или полученные
ке в экспери
ла. В послед
РНК, кото
А в фотосин
и РНК обла
грифугирова
того, более
альная РНК

и, что новая
льзованием
частей. Раз
водит к уве
х некоторой
торая копи

хлоропласт
установле
синтезиро
количество
еций. При
инфекцион
са инкуба
в бесклет
«заражен
ют о том,
абак) мо
ения «за
ные хло
й белок.

до сих пор неизвестная форма, которая устойчива к рибонуклеазе. Необычайно плотные, ровные нелепковидные формы удавалось наблюдать при изучении синтезирующихся препаратов в электронном микроскопе, причем инфекционность вируса оказалась связанной с этими формами.

Результаты наших экспериментов свидетельствуют о возможности синтеза вирусных частиц в бесклеточной системе. Этими исследованиями впервые продемонстрирована возможность получения целых вирусных частиц вне живой клетки и показано, таким образом, что процесс формирования вируса не является виталистической тайной, а может быть описан биохимически на основе известных представлений о биосинтезе белков и нуклеиновых кислот.

НЕКОТОРЫЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ РЕПРОДУКЦИИ РНК-МИКСОВИРУСОВ

А. Г. Букринская, Н. Б. Азидова, А. К. Гительман, Г. К. Воркунова

Институт вирусологии им. Д. Н. Ивановского АМН СССР, Москва

Интенсивное изучение механизма репродукции вирусных нуклеиновых кислот в последние годы позволило прийти к заключению о том, что синтез их протекает независимо от синтеза РНК-клетки и не требует участия ДНК. Молекула вирусной РНК является полицистронной и содержит информацию не только для синтеза вирусных антигенов, но и для синтеза репрессоров белковой природы, подавляющих образование клеточных белков и РНК, и фермента, осуществляющего репликацию вирусной РНК. Этот фермент, в отличие от РНК-полимеразы, строится не на матрице ДНК, а на матрице РНК, и был назван РНК-репликазой. Образование РНК-репликазы и обусловлена возможность репродукции РНК-содержащих вирусов в присутствии актиномицина D, вступающего в стабильную связь с ДНК и подавляющего синтез РНК-полимеразы.

Среди миксовирусов были описаны нечувствительные и чувствительные к актиномицину вирусы. Так, вирус Сендай размножался в клетках культуры ткани в присутствии тех концентраций актиномицина (0,05 - 0,5 μM), которые подавляли синтез клеточной РНК; более того, актиномицин вызывал сокращение латентного периода размножения этого вируса на 2 часа. Методом автордиографии с использованием H^3 -уридина

бы
то
па
ще
по
1

ри
по
зу
со

де
ис
на
об
сл
по
ру

ру
ис
S
де
ли
С
д
во

по
че
в
се
п

р
ц
р
ко
ц
ы
р
л
с
н
ч

ва к рибонукле-
иде формы удава-
я препаратов в
ть вируса ока-

бствуют о воз-
можной системе.
ована возмож-
ной клетки и
ния вируса не
ь описан био-
о биосинтезе

ции

льман.

ср.

ирусных ну-
ли к заклю-
от синтеза
а вирусной
ию не толь-
е за репрес-
клеточных
икацию ви-
олимеразы.
был назван
бусловлена
в присут-
язь с ДНК

ные и чув-
ндай раз-
тех кон-
подавляли
ывал со-
руса на
³-уридина

было установлено, что вирус вызывает подавление синтеза клеточной РНК через 2 часа после заражения, а через 3 часа начинается интенсивный синтез вирусной РНК в ядрышках, прекращающийся к 5 часам. В культурах, обработанных актиномицином, синтез РНК вируса в ядрышках наблюдался уже через 1 час после заражения.

Одно из возможных объяснений сокращения латентного периода при действии актиномицина заключается в предварительном подавлении актиномицином клеточной информации, в результате чего рибосомы раньше начинают функционировать в соответствии с генетической программой вируса.

В отличие от вирусов Селдан и Ноу, актиномицин оказывал действие на размножение вирусов гриппа. В присутствии актиномицина не формировались гемагглютинины вируса гриппа, на основании чего Барри и другие пришли к заключению об участии в репродукции вируса гриппа клеточной ДНК и, следовательно, ином механизме синтеза РНК этих вирусов по сравнению с нечувствительными к актиномицину вирусами.

При использовании очищенных S- и V-антисывороток к вирусу гриппа типа А PR8 в клетках культуры ткани, обработанной актиномицином, было обнаружено подавление образования S-антигена в ядре и V-антигена в цитоплазме; эти данные совпадали с данными вирусологического титрования. Однако инфекционные титры вируса при этом были снижены незначительно. С помощью метода автордиографии с использованием ³H-уридина было показано, что в присутствии актиномицина происходит синтез РНК вируса PR8, локализующийся в межядрышковой области ядра.

В культурах, не обработанных актиномицином, через 2 часа после заражения вирусом PR8 наблюдалось подавление включения ³H-уридина в ядро и особенно значительно — в ядрышки; в связи с этим общее количество радиоактивных зерен в период синтеза вирусной РНК уменьшалось, и имело место их перераспределение в ядерных структурах.

Не было выявлено четкое увеличение радиоактивности в период синтеза РНК вируса PR8 и в кислотонерастворимой фракции переживающих хориоаллантоисных оболочек куриных эмбрионов при использовании ¹⁴C-уридина. Однако в том случае, когда репродукция клеточной РНК была подавлена актиномицином в концентрации 2,5—10 μ /мл, обнаруживалось повышение включения ¹⁴C-цитидина в кислотонерастворимую фракцию зараженных мембран, достигающее 200% радиоактивности контроля. Пик синтеза вирусной РНК обнаруживался через 1 час после заражения, в то время как изменения радиоактивности в не обработанных актиномицином мембранах наблюдались лишь через 2 1/2 часа после заражения и позже.

еза кле-
са начи-
прекра-
помиди-
ке через

ного пе-
аритель-
в, в ре-
ровать в

казывает
ни акти-
гриппа,
пучению
ДНК и,
вирусов
шу ви-

ж к ви-
заботан-
изования
е совпа-
инфек-
ительно.
НЗ-ури-
пронско-
трышко-

з 2 часа
е вклю-
дрышки:
з период
перерас-

ти в пе-
ой фрак-
ых эмб-
случае,
стиноми-
вышение
цию за-
контро-
час по-
ности в
ись лишь

31

Таким образом, синтез РНК вируса PR8 не только не был подавлен актиномицином, но, как и у вируса Сендай, наступал в более ранние сроки. Аналогичные результаты были получены на модели вируса классической чумы птиц.

На основании изложенных данных можно заключить, что репликация РНК вирусов гриппа не требует участия клеточной ДНК, и, по-видимому, обусловлена тем же ферментом (РНК-репликазой), что и у вирусов, устойчивых к действию актиномицина.

Подавление формирования вирусных антигенов наблюдалось при добавлении актиномицина не позже чем через 1 час после заражения; это дает основание предполагать, что нарушения синтеза вирусного белка обусловлены нарушениями во вновь синтезированной молекуле вирусной РНК. По-видимому, актиномицин вызывает какие-либо изменения в структуре РНК, определяющем синтез вирусных антигенов.

ОБ ОДНОМ ТИПЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ВИРУСОВ В КЛЕТКЕ

В. И. Агол, Г. А. Ширман

(Институт полиомелита и вирусных энцефалитов АМН СССР)
и кафедре вирусологии МГУ, Москва)

В настоящей работе исследовалась возможность репликации РНК одного вируса за счет РНК-полимеразы, индуцированной другим вирусом. Мы основывались на том, что гуанидин предотвращает образование РНК-полимеразы у гуанидин-чувствительных вариантов вируса полиомелита и, наоборот, необходимым для образования этого фермента у гуанидин-зависимых вариантов, поэтому если клетку заразить одновременно обоими вариантами в присутствии гуанидина, то индуцировать образование РНК-полимеразы сможет только зависимый вариант. Образование в этом случае вирусных частиц, относящихся к чувствительному типу, может говорить о том, что РНК-полимераза, индуцированная зависимым вариантом, может использоваться в качестве матрицы РНК чувствительного вируса. С другой стороны, если смешанная инфекция происходит в отсутствие гуанидина, то репродукция зависимого варианта свидетельствует о том, что он образовался при участии РНК-полимеразы, индуцированной чувствительным вирусом.

Были поставлены опыты с двумя вариантами, принадлежащими к первому иммунологическому типу вируса полиомелита.

32

не только не был
Сендай, наступал
ы были получены

включить, что ре-
астия клеточной
ерментом (РНК-
ейственно актино-

тов наблюдалось
рез 1 час после
что нарушения
тиями во вновь
видному, акти-
оне РНК, опре-

Образование бляшек одним вариантом (гуанидин-чувствительным) резко тормозилось в присутствии гуанидина, тогда как репродукция второго варианта (гуанидин-зависимого) происходила только в присутствии гуанидина.

Оказалось, что при смешанной инфекции клеток в присутствии гуанидина происходит образование заметных количеств гуанидин-чувствительного вируса, хотя при аналогичных условиях, но в отсутствие гуанидин-зависимого вируса, чувствительный вариант практически не образуется. В опытах, поставленных в отсутствие гуанидина, было отмечено еще большее стимулирующее действие чувствительного варианта на репродукцию зависимого вируса.

Полученные данные интерпретируются как указание на отсутствие абсолютной специфичности индуцированной вирусом РНК-полимеразы в клетке. В докладе будут проанализированы и другие возможные объяснения полученных результатов.

По предварительным данным, в отсутствие гуанидина получена репродукция зависимого варианта I типа полиовируса при одновременной инфекции гуанидин-чувствительным вирусом II типа. Прогнозируется иммунологическое влечение вирусных частиц, образующихся в результате смешанной инфекции.

УСОВ

СССР)

ть репликации
дуцированной
анидин пред-
идин- чувстви-
орот, необхо-
ависимых ва-
енно обоими
авать образо-
вариант. Об-
ихся к чувст-
-полимераза,
пользовать в
другой сто-
ствие гуани-
гельствует о
зы, индуци-

принадлежа-
лиомиелита.

СИНТЕЗ РНК ВИРУСА ТАБАЧНОЙ МОЗАИКИ IN VITRO

И. Г. Баландин, Э. Б. Хорошуткина, В. С. Тонгур

(Лаборатория биохимии нуклеиновых кислот
Института биологической и медицинской химии АМН СССР, Москва)

В настоящем сообщении приводятся данные, полученные при изучении синтеза вирусной инфекционной РНК в бесклеточных гомогенатах очагов поражения листьев *Nicotiana glutinosa*, предварительно зараженных вирусом табачной мозаики.

Найдены условия, обеспечивающие максимальную продуктивность этого процесса. Установлено, что синтез инфекционной РНК в гомогенатах стимулируется введением в инкубационную среду всех четырех рибонуклеозид-5'-трифосфатов и ионов магния. Синтез вирусной РНК в условиях опытов не зависел от ДНК, так как не подавлялся ДНК-азой или актиномицином D, но в значительной степени угнетался РНК-азой.

Сделан вывод о том, что матрицей для синтеза РНК ВТМ в процессе репродукции in vitro служит вирусная РНК и этот синтез, независимый от ДНК клетки хозяина, осуществляется

ль-
как
хо-

гет-
ств
до-
ль-
пен-
му-
ию

от-
сом
ши

лу-
при
II
ни,

при
ных
са,

дук-
ной
ую
таг-
от
Д.

ТМ
тот
тся

при помощи отличного от РНК-полимеразы, фермента, а именно — РНК-синтетазой.

Изучение динамики синтеза вирусной РНК *in vitro* позволило установить, что максимальный прирост РНК («суммарной»), определяемый спектрофотометрически, наступал в пределах 40-минутной инкубации, тогда как прирост инфекционного материала и включение меченых предшественников (C^{14} -УТФ) продолжался. Это обстоятельство указывает, по-видимому, на то, что синтез вирусной РНК идет наряду с распадом в гомогенате «суммарной» РНК, в основном ее неинфекционной части.

Некоторое увеличение кислотонерастворимого материала при введении в систему рибонуклеозид-5'-дифосфатов, по-видимому, объясняется активностью полинуклеотидфосфорилазы, о чем свидетельствует образование полиадениловой и полиуридиловой кислот.

Приводятся данные, полученные при изучении влияния на синтез РНК ВТМ *in vitro* путем введения в инкубационную среду РНК из различных источников.

Обсуждается также возможный механизм синтеза вирусной РНК.

**БИОСИНТЕЗ БЕЛКА И НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ
В НЕФРАКЦИОНИРОВАННЫХ ГОМОГЕНАТАХ РАЗРУШЕННЫХ
КЛЕТОК, ИНКУБИРУЕМЫХ С НУКЛЕИНОВЫМИ КОМПОНЕНТАМИ
ВИРУСОВ ПОЛИОМИЕЛИТА И АДЕНОВИРУСА**

Б. С. Дискина, А. В. Михеева, А. А. Кияшко, О. Н. Агеева

(Московский научно-исследовательский институт
вирусных препаратов)

Исследование молекулярного механизма процессов биосинтеза вирусов в клетке требует разработки более простых моделей, разрешающих изучать отдельные стадии этого процесса в открытых системах.

Попытки изучения путей биосинтеза компонентов вирусов в бесклеточных системах встречают значительные трудности в связи с ограниченностью синтезирующей активности таких систем, позволяющей изучать синтез белка только высокочувствительным методом включения радиоактивной метки, и кратковременностью их функциональной активности по сравнению с длительностью процесса генерации вирусов.

В проведенных исследованиях разработан метод, позволяющий изучать процессы индуцируемого вирусной РНК синтеза

мента, а имен-

in vitro позволи
(суммарной),
в пределах 40-
опного матери-
-УТФ) продол-
му, на то, что
в гомогенате
й части.

го материала
атов, но в ин-
сфериллазы, с
и полиуриди-

и влияния на
ционную сре-

теза вирусной

ЮТ
УШЕННЫХ
ЮНЕНТАМИ
СА

Н. Агеева

сов биосин-
остых моде-
процесса в

в вирусом в
трудности в
I таких сис-
окочувстви-
, и кратко-
равнению с

позволяю-
ИК синтеза

белка и нуклеиновых кислот в разрушенных клетках в течение периода одного цикла генерации вирусов. При использовании данного метода и показано, что инкубирование нефракционированных гомогенатов разрушенных клеток с выделенной из вируса полиомиелизита РНК в среде, содержащей необходимые субстраты синтеза и источники энергии, приводит к резкому повышению биосинтеза белка и нуклеиновых кислот в системе.

Показано, что индупируемые полиовирусной РНК синтетические процессы в разрушенных клетках характеризуются определенной последовательностью реакций - синтезом молекул информационных РНК, обладающих различными свойствами на раннем и позднем этапах инфекции. Найдено, что определенный этап инфекции характеризуется накоплением в микросомальной фракции гомогената белка, специфически реагирующего с антителами противоположной сыворотки; количество этого белка составляло ничтожную величину в сравнении со всей массой синтезируемого в системе белка.

Найдено также, что выделенная из аденовируса ДНК тоже стимулирует синтез белка и нуклеиновых кислот в разрушенных клетках и что процесс этот сопровождается синтезом молекул информационных РНК, осуществляющих передачу информации от ДНК к белку.

В исследовании показано, что не все стадии вирусной инфекции протекают в разрушенных клетках. Не обеспечиваются в этих системах процессы депротенизации вирусных структур и, по-видимому, также образования специфической конфигурации долимерного вирусного белка и сборки целого вируса.

Дальнейшее исследование стимулируемых вирусными нуклеиновыми кислотами процессов биосинтеза белков и нуклеиновых кислот, изучение свойств информационных РНК на разных этапах инфекции и природы кодируемого ими синтеза белка может способствовать выяснению молекулярного механизма процессов биосинтеза вирусов в клетке.

ИНТЕРФЕРЕНЦИЯ МЕЖДУ ВИРУСАМИ ГРИППА И САРКОМЫ РАУСА IN VIVO

А. Т. Кравченко, А. Д. Альштейн, Е. С. Воронин

(Государственный контрольный институт
им. Л. А. Тарасевича, Москва)

Имеются литературные данные о подавлении активности вируса саркомы Рауса (ВСР) вирусами лейкозов кур в культуре ткани (Рубин и сотрудники), а также об интерференции:

между инфекционными вирусами и ВСР в куриных эмбрионах (Окер-Бром и сотрудники).

Нами получены данные об интерференции между вирусом гриппа и ВСР в организме цыплят.

В работе использовали ВСР, штамм Карр, в виде 30% суспензии опухоли цыпленка. Суспензию сохраняли при -50°C . Титр ВСР составлял 10^6 ОД₅₀/мл. Штамм вируса А PR-8 использовали в виде аллантоисной жидкости с титром 10^7 - 10^8 ЕД₅₀/мл.

Опыт интерференции между вирусом гриппа и ВСР ставили на 7-11-дневных цыплятах породы белый леггорн. Вирусы вводили в перепонку крыла в объеме 0,2 мл. Контролем служили перепонки и крыльев, в которые вводили физиологический раствор; в части опытов вирусом гриппа инокулировали одну перепонку, а физиологическим раствором другую (в большинстве опытов контроль ставили на цыплятах, не получавших вируса гриппа).

Срок наблюдения за цыплятами составлял 21-28 дней, оценку результатов проводили по трем критериям:

- 1) количество крыльев с развившимися опухолями;
- 2) срок появления опухоли (средний латентный период);
- 3) размер среднего поперечника опухоли на тот или иной день.

Нами была изучена возможность подавляющего влияния вируса гриппа на развитие опухолей в перепонке крыла цыпленка, зараженного ВСР через 48 час. после введения вируса гриппа. Результаты многократно проведенных опытов свидетельствуют о том, что подавление выражалось в удлинении латентного периода появления опухоли, в полной задержке их развития у части цыплят, а также в меньшем размере опухолей в перепонках, инокулированных вирусом гриппа.

Описанный феномен имеет местный характер, так как подавляющее действие вируса гриппа на развитие опухолей можно было видеть при постановке опыта и контроля на одном и том же цыпленке.

Однако при внутримышечном введении высокой дозы вируса гриппа (10^6 ЕД₅₀) отмечено статистически достоверное торможение развития опухолей при последующем введении ВСР в перепонку крыла.

Установлено, что ингибирующая активность вируса гриппа снимается иммунной сывороткой против него и интенсивным прогреванием (120 мин. при 60°). Однако вирус гриппа, полностью или частично инактивированный при 56° , сохраняет способность тормозить образование опухолей у цыплят.

Результаты опытов показывают, что подавляющее действие вируса находится в прямой зависимости от дозы ВСР: при дозе 10^4 ОД₅₀ это действие практически не проявляется; при меньших

дозах
холи,
ное г
Би
грипп
введе
рующ
актив
введе
ВСР
может
грипп
В
скоп
медл
Г
ранн
за с
сом
исхо
прог

куриных эмбрионах
на между вирусом
и, в виде 30% суспензии при -50°C. Вирус А PR-8 копти с титром

на и ВСП ставили горн. Вирусы вводятся с помощью распылителя в одну перепонку (в большинстве случаев вирус

в 21-28 дней, им: ухотями, ритивы период: на тот или иной

его влияния вируса гриппа, свидетельствуют латентного периода развития улей в перепон-

так как подавление опухолей можно в одном и том

и дозы вируса, значное торможение ВСП в пере-

вируса гриппа интенсивным гриппа, пол-храяет спо-

т. щее действие ВСП: при дозе при меньших

в них наблюдается отчетливое торможение формирования опухоли, при небольших дозах (менее 100 ОД₅₀) отмечается полное подавление образования опухолей у части мышей.

Было изучено влияние интервала между введением вируса гриппа и ВСП на развитие опухолей у мышей. Вирус гриппа, введенный за 10 дней до заражения ВСП, не проявлял ингибирующей активности. Начиная с 6-дневного интервала, такая активность выявилась, причем максимум ее наблюдался при введении вируса гриппа за один день до ВСП, одновременно с ВСП, а также через один-два дня после ВСП. Отчетливое торможение образования опухолей отмечено при введении вируса гриппа до 6 дней после ВСП.

В то же время введение вируса гриппа после первых макроскопических признаков появления опухоли не приводило к замедлению ее роста.

По-видимому, полученные данные свидетельствуют, что на ранних этапах развития прогрессирующей саркомы Рауса происходит за счет размножения вируса (этот процесс блокируется вирусом гриппа); на более поздних этапах увеличение опухоли происходит преимущественно за счет размножения клеток (на этот процесс вирус гриппа не влиял).

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ВИРУСОВ С КЛЕТКОЙ

ФИЗИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ ВИРУСОВ

М. И. Гольдин

(Институт микробиологии АН СССР, Москва)

1. Бернет, Эндрус и другие, рассматривая вирус как организм, изучают его с биологических позиций

За последние годы распространился подход к вирусам на более низком уровне — на молекулярном.

Мы полагаем, что в ряде отношений следует учитывать физическое действие вирусов, рассматривая его как патологический фактор.

2. Милличем и Гольдиным было показано, что вирусные включения представляющие собою остроконечные агрегаты вирусных частиц, разрастаясь, могут вызвать разрыв клеточных оболочек. Следует также учитывать образование кристаллических включений при вирусных заболеваниях человека и животных.

3. Питевидные, веретенovidные и другого типа сильно вытянутые вирусные включения (кристаллические, паракристаллические) затрудняют нормальное течение деления клеток.

4. При различных вирусных заболеваниях растений значительные повреждения и изменения претерпевает ядерный аппарат (окольцевание, ядро — спирт, резкое увеличение объема ядра и ядрышка, выпячивание оболочки ядра, уродства и разрыв ядрышка, лизис ядра и др.).

5. По данным Херольда и Вейбеля, просвет плазмодесмы оказывается достаточным для прохождения частицы ВМТ из одной клетки в другую. Следует учитывать резко выраженную тенденцию вирусных частиц к агрегации как *in vitro* так и *in vivo*, вследствие чего плазмодесмы могут оказаться практически непроходимыми для вируса мозаики табака и других вирусов.

6. Агрегация вирусных частиц ВМТ в сосудах ксилемы может затруднить нормальную деятельность этих сосудов; закупорка сосудов гумми и другого рода слизистыми образованиями

ЕТКОЙ

ями, приводящая к увяданию растения, описана при пайросовой болезни и др.

7. В инфекционном процессе следует учитывать «емкость клетки». В каждой данной клетке (эпидермис, волоски и др.) процесс репродукции вирусных частиц ограничен объемом «рабочего места», возможностями их эвакуации, распада или отложения в виде включений.

8. За последние годы наши знания обогатились сведениями о сложном строении клетки. Мы имеем в виду наличие микроканалов, по которым осуществляется обмен веществ между внутриклеточными компонентами. В связи с указанным обстоятельством нельзя не считаться с явлением закупорки этих жизненноважных коммуникаций скоплениями вирусных частиц, которые репродуцируются в цитоплазме или в ядре.

9. Что касается общей цитологии, то наши наблюдения и опыты по действию ультразвука на вирусные включения в растительной клетке и другие данные, дают основание утверждать, что положение о сплошной испещренности клетки микроканалами преувеличено.

**БЛАСТИЦИДИН S — ЭФФЕКТИВНЫЙ АНТИБИОТИК
ПРОТИВ РЕПРОДУКЦИИ ВИРУСОВ РАСТЕНИЯ**

Т. Хираи, Т. Тимокура

Лаборатория фитопатологии сельскохозяйственного факультета Университета Нагоя (Ансье)

Бластицидин S (BcS) — антибиотик, полученный в Японии. Он применяется в настоящее время главным образом для борьбы с болезнью риса (бласт). Установлено, что он имеет высокое ингибирующее действие против вируса мозаики табака (ВТМ) в низкой концентрации. Диски листьев табака, инокулированные ВТМ, помещались на поверхность растворов разной концентрации BcS на пять дней и затем количество вируса, образовавшегося в дисках листа, определяли путем измерения оптической плотности фракции РНК ВТМ в длине волны 260 мк. BcS подавляет накопление ВТМ в дисках листа табака примерно на 50% и в концентрации 0,5 ppm не вызывает химического повреждения листьев. Листья *Nicotiana glutinosa* или фасоли сорта Pinto были инокулированы ВТМ и через час половинки листьев помещали на растворы разной концентрации BcS, или натирали BcS и затем инкубировали на влажной фильтровальной бумаге. Другие половинки листьев служили

айросо-
емкость
и др)
ом кра-
или от-
лениями
микро-
между
ым об-
ки эти
их час
е.
ления и
ения в
утверж-
микро-

а Нагоя

Японии.
тя борь-
высокое
(ВТМ)
ирован-
той кон-
уса, об-
мерения
волны
га таба-
вызывает
lutinosa
ерез час
нтрации
влажной
служили

контролем. Напитанно 0,5 ppm или пребывание на 0,1 ppm рас-
творе BeS не вызвало химических повреждений листьев и
увало почти 100% подавление некрозов.

Затем было исследован механизм подавления вируса. Коли-
чество нуклеиновой кислоты в незараженных дисках листьев
табака снижалось в течение инкубации на воде, но через 4 дня
диски листьев обработанные 0,05 ppm раствором BeS имели
более высокое содержание нуклеиновой кислоты, чем диски,
инкубированные на воде. Такая же концентрация BeS умень-
шила в дисках количество щелочно-растворимого и щелочно-
нерастворимого протенина. Содержание фосфолипидов остава-
лось при обработке не измененным.

BeS увеличивал также степень включения C^{14} -урацила в
нуклеиновые кислоты в дисках листьев, не зараженных ВТМ.
Хотя количество РНК ВТМ было понижено примерно на 50%.
Включение C^{14} -глицина или C^{14} -лейцина в протенины не зара-
женных и зараженных ВТМ дисков листьев не была снижена,
но скорее увеличена при той же концентрации BeS. количе-
ство нормального и ВТМ протенина было всегда ниже при об-
работке. Таким образом было доказано, что BeS подавляет
синтез протенина в незараженных дисках листьев табака при
концентрациях, подавляющих накопление ВТМ. В результате
содержание нуклеиновой кислоты в обработанных BeS дис-
ках листьев было увеличено, хотя природа увеличения РНК
осталась невыясненной.

Так как образование РНК ВТМ подавлялось BeS, веро-
ятно, BeS действует в зараженных дисках листьев на систему,
синтезирующую РНК ВТМ, возможно, на синтез эзимати-
ческого протенина, подобного полимеразе РНК.

Исследования в этом направлении в настоящее время раз-
виваются.

ИЗМЕНЕНИЯ В СТРУКТУРЕ КЛЕТОЧНОГО ЯДРА
ГУСЕНИЦ STILPNOTIA SALICIS L.
БОЛЬНЫХ ПОЛИЕДРОЗОМ¹

И. Стеопое, А. Сэвулеску, П. Плойе
(Институт биологии Бухарест)

Rumania

¹ Ко времени подписания «Тезисов докладов» в печать доклад не был
получен.

ЦИТОХИМИЧЕСКОЕ И АВТОРАДИОГРАФИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ИНФИЦИРОВАННОЙ ВИРУСАМИ КЛЕТКИ

С. Я. Залкинд, И. А. Поберий, Н. В. Борисоглебская,
Л. П. Изакова, Т. И. Тихомирова, Н. Н. Богомолова

(Московский научно-исследовательский институт
вирусных препаратов)

1. Сравнительное цитологическое изучение культивируемых вне организма клеток показало, что при заражении их вирусами наблюдается ряд характерных изменений морфологии клеток, позволяющих говорить о специфичности цитопатического эффекта (ЦПЭ).

2. Задачей дальнейших исследований, проведенных с использованием некоторых новых методов экспериментальной цитологии, являлось изучение сдвигов обмена веществ и физиологического состояния инфицированных клеток.

3. Применение гистохимических реакций показало, что уже на первых этапах после заражения имеет место изменение нуклеопротеидного, белкового, углеводного, жирового обмена и активности некоторых ферментов инфицированной клетки. Эти первоначальные изменения, очевидно, нужно рассматривать как проявление стимуляции ряда звеньев обмена веществ, вызванной внедрением вируса. На более поздних этапах после заражения наблюдаются гистохимические изменения, которые нужно связать с извращением обмена веществ в пораженной вирусом и специфически дегенерирующей клетке.

4. Значительные изменения обнаружены также при хронической инфекции вирусом клещевого энцефалита некоторых перевиваемых линий, не сопровождающейся видимым ЦПЭ. Применение люминесцентной микроскопии, с использованием флуорохрома акридинового оранжевого, а также электронно-микроскопический анализ позволили обнаружить в хронически инфицированных клетках нуклеопротеид, имеющий, очевидно, вирусную природу.

5. Окраска метиленовым синим на нуклеопротеиды в различных зонах рН, по Шабдашу, показала, что в инфицированных клетках наблюдаются значительные изменения морфологии и физиологии таких важных органоидов, как митохондрии.

6. С помощью метода автордиографии изучена динамика включения в клетки первичных культур метионина, меченного по сере и в клетки перевиваемых линий — тимидина, меченного по тритию. Проведение этих исследований дало представление о синтезе белков и предшественников ДНК на разных этапах развития нормальной культуры.

ИИ:

усых
лирес
и кле
тско го

е ис
альной
и фи

го уже
не ну
лена в
клетки
матри
еществ
этапах
енения
деств в
зующей

хрони
оторых
ЦПЭ
званием
тронно
нически
евидно.

в раз
фициро
морфо
интохон

намнка
ченно го
мечен
редстав
разных

41

7. Применение тех же методов к инфицированным клеткам дает возможность обнаружить закономерные сдвиги изучаемых звеньев обмена веществ, позволяющие составить представление о характере и динамике глубоких изменений, испытываемых инфицированной вирусом клеткой.

8. Полученные данные могут представить интерес не только для вирусной, но и для общей цитопатологии.

ПАТОЛОГИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ ВИРУСОВ ГРУППЫ ЖЕЛТУХ НА РАСТЕНИЕ И НАСЕКОМОЕ-ПЕРЕНОСЧИКА

Г. М. Развязкина, Н. Д. Шаскольская, Г. П. Благодателева

В последние годы рядом исследований установлено вредное действие фитопатогенных вирусов группы желтух на организм цикадок-переносчиков.

В аналогичных работах авторов также удалось показать патологическое действие вирусов этой группы на цикадок-переносчиков. Объектами исследований были выбраны два вируса, размножающиеся в переносчике, — вирус мозаики озимой пшеницы, передаваемый цикадкой *Psaminotettix striatus* Fall, и вирус позеленения цветков клевера, переносчиком которого является цикадка *Aphgodes bicinctus* Shrank.

Вирус мозаики озимой пшеницы передается в высоком проценте трансвариально потомству цикадок-переносчиков. При этом у них отмечается более растянутый постэмбриональный период, чем у нимф, не допускаящихся к источнику инфекции. Особенно отстают в развитии нимфы III—IV возрастов. Установлены также резкие, четко выраженные деформации в строении тела у таких цикадок — искривление брюшка, недоразвитие надкрыльев и крыльев.

Цитологическими и гистохимическими исследованиями выявлены значительные изменения в структуре и форме ядер жирного тела у инфицированных вирусом мозаики озимой пшеницы цикадок (звездчатые ядра и размытые границы клеток). Показано резкое снижение в содержании РНК в цитоплазме и ядрышках.

Наиболее резкие гистохимические изменения обнаружены у нимф, отрожденных инфицированными цикадками.

В цитоплазме клеток жирового тела инфицированных цикадок выявлены своеобразные включения, в которых не удалось показать наличие нуклеиновых кислот, но обнаружена аминокислота гистидин.

42

Для вируса позеленения цветков клевера показать транс-
вариальную передачу заразного начала потомству инфициро-
ванных насекомых не удалось. Цитологическими и гистохими-
ческими исследованиями здоровых и инфицированных вирусом
цикадок установлены четкие патологические изменения в клет-
ках жирового тела последних, аналогичные тем, которые вы-
явлены нами для предыдущего вируса (звездчатая форма ядер
и размытость клеточных границ).

Патологическое действие вирусов группы желтух на орга-
низм растения и организм переносчика, их размножение в
столь различных средах обитания, какими являются растение
и насекомое, свидетельствует об их автономности и позволяет
рассматривать возбудителей этой группы как организмы.

**МЕХАНИЗМ САМОИНГИБИРОВАНИЯ НОВОГО РОДА
ВИРУСОВ**

3 P15

К. Слис

(Институт вирусологии, Берлин)

VIRUSOLOGIN

Berlin

Новый род вирусов изолировался, часто из крови челове-
ка в случаях заражения гепатитом. В тканевой культуре они
проявляют заметную автоинтерференцию. Внешний вид этих
вирусов изучается *in vitro* с целью выяснения механизма са-
моингибирования и выявления факторов, вызывающих блоки-
рование вирусов, а также подходящих средств для преодоле-
ния интерференции. Будет обсуждена возможная роль и дру-
гих веществ.

**ЦИТОФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ РНК
В КЛЕТКАХ НЕР-2**

ЗАРАЖЕННЫХ РНК-СОДЕРЖАЩИМ ВИРУСОМ

Б. А. Ерман, А. Е. Эссель, Е. Ю. Броницкая,
С. Б. Шубина, А. Т. Мясникова

(Институт вирусных инфекций, Свердловск)

Противоречивость имеющихся разрозненных сообщений
(Маасаб, Аккерман, 1959; Леви, 1961; Зальцман и соавторы
1959; Голланд, 1963 и др.) по вопросу о содержании РНК в

важным; клет-
е сдвиги изу-
ставить пред-
енений, испы-
ресе не только

ЖЕЛТУХ

одателева

влено вред-
ух на орга-

ь показать
цикадок-не-
ты два ви-
занки озп-
их striatus,
ном кото-

соком про-
нков. При
иональный
инфекции
тов. Уста-
ни в строе-
ислоразви-

ниями вы-
рме ядер
т. озимой
ицы кле-
в. цито-
ужены у

ых цика-
удалось
а амно-

рансо-
нциро-
хими-
ирусом
в клет-
ке вы-
я ядер

орга-
ние в
стене
воляет

телове-
ре они
т этих
ма са-
блоки-
юделе-
н дру-

РНК

бщени
авторы
РНК в

клетках, зараженных вирусом полиомелита, побудила нас предпринять настоящее исследование, применив для определения количества РНК в клетках метод фотографической цитофотометрии. В литературе мы не встретили данных о применении метода цитофотометрии для изучения содержания РНК в клетках культур тканей, зараженных вирусами.

Клетки Пер-2 заражали вирусом полиомелита 1-го типа (штамм Брунден). Контролем служила незараженная ткань. Реплики для исследования брали через 2, 4, 6, 10 и 24 часа после заражения. Материал фиксировали в 10%-ном спирте формалине. РНК выявляли по методу Эйнардта. При фотографировании использовали комбинацию светофильтров (СЭС-7 и ЖС-17) с максимумом пропускания 490-650 мμ в видимой части спектра. Фотометрия осуществлялась при помощи микрофотометров МФ-2 и МФ-4 по точкам и с последующей цитофотометрией. Оба варианта метода давали сопоставимые результаты.

Исследования показали, что содержание РНК значительно колеблется в зараженной ткани по сравнению с контролем. Так, через 1 час после заражения имеет место существенное и достоверное снижение, а через 6 час. увеличение содержания РНК в цитоплазме клеток зараженной культуры. К 10 час. содержание РНК в цитоплазме инфицированных клеток снова падает. В ядрышках клеток зараженной культуры количество РНК статистически достоверно снижается через 6 час. после заражения.

В другой серии опытов было установлено, что показатели содержания РНК в цитоплазме сморщенных регенерирующих клеток через 24 часа после заражения не превышают таковых для клеток контроля.

Колебания содержания РНК в цитоплазме и ядрышках клеток в первые сутки после заражения находят свое объяснение в свете современных представлений (В. М. Жданов, 1963) о способности РНК-содержащих вирусов вызывать остановку синтеза клеточной информационной РНК в инфицированных клетках в самые ранние сроки после заражения. Можно предполагать, что это обстоятельство объясняет снижение содержания РНК в цитоплазме клеток через 2-4 часа после заражения. Повышение содержания РНК в цитоплазме клеток через 6 час. после заражения зависит, очевидно, от появления в этом сроку в цитоплазме клеток вновь сформированного вируса, а также выходом РНК из ядер клеток в цитоплазму. Последним может быть объяснено снижение содержания РНК в ядрышках. Снижение количества РНК в цитоплазме клеток через 10 час. после заражения, возможно, связано с началом выхода вновь сформировавшегося вируса из клетки.

а, побудила как
для опреде-
графической пи-
и данных о при-
ния содержания
вирусами.

мита 1-го типа
аженная ткань.
6, 10 и 24 часа
10-ном спирте
она. При фото-
светофильтров
490-650 мμ в
выявлялась при по-
тм и в последо-
да давали сов-

НК значительно
с контролем
существенное и
содержание
ры. К 10 час.
х клеток снова
ры количество
з 6 час, после-

то показате-
генерирующих
шают таковых

и ядрышках
а свое объяс-
М. Жданов.
зывать оста-
в инфициро-
жении. Мож-
лег снижени-
4 часа после
лазме клеток
от появления
мированного
цитоплазму.
жания РНК
лазме клеток
о с началом
и.

Представляет интерес исследовать при помощи метода ди-
фотометрии колебания содержания РНК в клетках при за-
ражении их РНК- и ДНК-содержащими вирусами.

НЕКОТОРЫЕ ФЕРМЕНТАТИВНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО БИОСИНТЕЗА ВИРУСОВ

Д. Б. Голубев

(Институт вирусологии им. С. П. Павлова, Ленинградский университет, Ленинград, ЦИО АН УССР, Киев и Свердловск)

Одним из важнейших направлений в изучении природы ви-
русов является исследование ферментативных механизмов их
внутриклеточного биосинтеза. По современным представлени-
ям, вирусная частица из-за богатства своим набором фермен-
тов, способным осуществить синтез нуклеиновых кислот, бел-
ков и других структурных компонентов вируса, а также энер-
гетически обеспечить этот синтез. В связи с этим все указан-
ные функции выполняют ферменты клетки-хозяина, а вирусная
нуклеиновая кислота активирует синтез клеточных ферментов
или даже вызывает синтез новых, не присущих данной клет-
ке энзимных систем, поскольку это необходимо для вирусной
репродукции (Жданов, 1963, 1964). Однако конкретные фер-
ментативные механизмы биосинтеза вирусов изучены недоста-
точно. В частности, совершенно не учитывается ферментатив-
ный профиль и особенности обмена веществ ткани, в которой
происходит вирусная репродукция.

В работах Смиса и Куна (1950-1954), Матцельда и др.
(1958), Анавикьяна и Барсяна (1959), Куна и др. (1960), Кел-
ли и Грифа (1961), Геваудана (1960, 1961), Джилберта и др.
(1961-63 гг.), Голубева (1963), Голубева и др. (1964) фермен-
тативные сдвиги при вирусной инфекции изучали путем не-
посредственного определения ферментативной (альдолазной,
фосфогексоизомеразной, лактатдегидрогеназной, трансами-
лазной и т. д.) активностей в куриных эмбрионах и тканевых
культурах, инфицированных различными вирусами. Нами ус-
тановлено, что при репродукции РНК-содержащих вирусов па-
ротита и полиомелита в культуре фибробластов куриного и
человеческого эмбрионов соответственно активность альдолазы
в культуральной жидкости не повышалась, хотя оба вируса
вызывали цитопатогенные изменения и активность фосфогек-
соизомеразы в обоих случаях была повышенной. С другой
стороны, при репродукции указанных вирусов на эпителиальных

клетках (почки морской свинки или человеческого эмбриона) в культуральной жидкости повышалась активность обоих ферментов, так же как и при репродукции ДНК-содержащих аденовирусов 3-, 4- и 7-го типов в ткани фибробластов куриного эмбриона (последний факт выяснен в совместной работе с А. А. Селивановым. ИЭМ АМН СССР).

Причины различий активности отдельных ферментов при репродукции вирусов в конкретных экспериментальных условиях подлежат специальному изучению, но несомненно, что они обусловлены особенностями взаимоотношений вирусов и клеток в процессе развития вирусной инфекции, приводящей к синтезу данной клеткой вирусных частиц в соответствии с заданной генетической информацией. Последнее положение было проиллюстрировано данными специальной работы (Голубев, Поляк, Жилова, 1963), в которой обнаружено, что ферментативные сдвиги имеют место в нечувствительных к вирусу, тканевых культурах, инокулированных вирусными РНК.

Эти сдвиги причинно связаны с синтезом вирусных частиц и соответствуют ферментативному профилю данной ткани.

Результаты изучения ферментативных сдвигов при вирусной репродукции раскрывают особенности диалектического взаимодействия компонентов системы вирус-клетка при вирусной инфекции и противоречат мнениям о наличии у вирусов самостоятельного обмена веществ.

ИЗУЧЕНИЕ МИОТРОПНОСТИ ВИРУСОВ КОКСАКИ МЕТОДОМ ЛЮМИНЕСЦИРУЮЩИХ АНТИТЕЛ

Ю. А. Барштейн

(Киевский научно-исследовательский институт эпидемиологии
и микробиологии)

Одной из биологических особенностей вируса является его способность повреждать те или иные ткани, что входит в понятие тканевого тропизма. Морфологический анализ таких поражений представляет интерес не только с точки зрения их особенностей и ответной реакции ткани, органа, организма на повреждение, вызванное вирусом, но и с точки зрения биологических особенностей самого вируса.

Несмотря на то, что за последнее время в нашей и зарубежной литературе появляются сообщения о поражениях все большего числа органов и тканей, в которых обнаруживаются морфологические изменения, вызванные вирусами Коксаки и

СП
ЖС
ТИЖС
МЕ
ПС
ИРКЛ
ЛС
И
КА
М
ЖР
В
Л
ИЛ
Х
П
П
ГИ
Е
ГГ
Г
ГМ
ГМ
СГ
ГГ
Ги-
а-и-
н-
н-
л-
р-
н-
ая
ов
ет-
ой
р-
га-
ив-
ойдр.
л-
др.
ен-
не-
ой,
ин-
ых
ус-
та-
н
изы
уса
ек-
гой
ых

эмбриона)
обоих фер-
ащих аде-
и куриного
работе с

ентов при
ых усло-
о, что они
и клеток
к синте-
заданной
шло про-
бев. По-
ментатив-
зу ткане-

х частиц
ани.
и вирус
ического
и вирус-
вирусов.

ся его
в по-
таких
ция их
ма на
ологи-

зару-
ях все
аются
аки и

спектр тропности этих вирусов все более расширяется, поражения скелетных мышц все же остаются ведущим и наиболее типичным признаком данной инфекции.

Объем (диффузность или очаговость) и топография поражений, а не характер и степень дистрофических изменений в мышечном волокне служат критерием для определения групповой принадлежности вируса Коксаки, вызвавшего те или иные поражения.

Миотропность вирусов Коксаки лежит в основе комплекса клинических проявлений, особенностей патогенеза и морфологического субстрата инфекции. Например, в основе диспноэ и рано развивающегося цианоза кожных покровов у сосунков, как нам кажется, лежат дистрофические изменения и гибель мышечных волокон диафрагмы и межреберных мышц, а также нередкие поражения миокарда.

Многочисленными исследованиями было показано, что вирус Коксаки А, попадая в организм экспериментального животного, вызывает повреждение и гибель мышечного волокна с последующим реактивным воспалением со стороны интерстиция.

Морфологические особенности повреждений мышечного волокна, изучавшиеся нами гистологически, гистохимически, биохимически (содержание миозина А и В) и иммунологически при помощи люминисцирующих антител могут способствовать пониманию некоторых сторон биологических особенностей вирусов Коксаки.

В процессе перерождения мышечного волокна в нем происходят изменения биохимического порядка вообще и изменение основных структурных белков мышечной ткани (миозин А и В), в частности.

Обнаружение антигена при помощи антитела, к которому присоединен флуоресцирующий краситель Кунса (Coops A. H., 1955) был впервые применен в 1956 году Финком, Хольцером и Маршаллом (Finck H., Holtzer H., Marshall J., 1956) для изучения сократительных белков в изолированных миофибриллах. Выработанные антитела на мышечные белки, используемые в качестве антигенов после обработки ими мышечных фибрилл, обнаруживаются по флуоресценции.

Из скелетных мышц белых мышей нами были выделены миозин А и миозин В по несколько измененной методике Сцент-Диордьи (Szent-Juorgui). Антигенами, приготовленными из скелетной мышцы, миозина А и миозина В, иммунизировали кроликов по схеме, предложенной В. И. Иоффе. Полученные антимышечные и антимиозиновые сыворотки изучались серологически как с гомологичным, так и с гетерологичным антигенами (печень, почка, селезенка) в реакции связывания комплекта.

а-
се
а-
в
п-
ли
са
ю-
ю-
ю-
юв,
ль
кв-
ин-
ин-
зо-
ны
зо-
ю-
кп
ть
ин-
ю-
е-
А
му
Н.,
ом
ля
л-
уе-
ю-
ны
нт-
из
ли-
ые
ро-
ге-
эм-

Сочетание полученных глобулиновых фракций сывороток с изотиоцианатом флуоресцена производится Н. П. Манько по видоизмененной методике Маршалла (Marshall J. H.).

Экспериментальная Коксаки инфекция воспроизводится на сосунках белых мышей в возрасте до 24 час., годкожным заражением их в дозе 0,03 мл прототипным штаммом вируса Коксаки А8, который в разведении 10^7 вызывал типичные параличи у сосунков на 3-й день после заражения с летальным исходом. В опытах использовано 200 сосунков, половина из которых была заражена вирусом, а 100 других служили в качестве контроля.

Для гистологического исследования в динамике сосунки забирались на 1-е, 2-е и 3-и сутки после заражения, тушки целиком фиксировались в 10% растворе нейтрального формалина на холоду. После парафиновой проводки нарезали срезы толщиной в 5-6 мк. Срезы депарафинировали, обрабатывали соответствующими флуоресцирующими сыворотками и проматривали в микроскопе МЛ-1 с соответствующими светофильтрами.

Мышечные волокна незараженных сосунков светятся слабо, и неоднородно. При сохранении поперечной исчерченности свечение обнаруживается в виде светящихся полос, чередующихся с темными полосами, однако на всем протяжении волокна дающих равномерное свечение.

Мышечные волокна зараженных сосунков светятся более интенсивно, но неравномерно. Через сутки после заражения, с потерей поперечной исчерченности, что хорошо видно на препаратах, окрашенных гематоксилин-эозином, теряется описанная у незараженных животных сегчатость с чередованием светящихся и несветящихся полос.

На 2-е-3-и сутки после заражения саркоплазма разбухших, с неровными контурами и выпячиваниями, мышечных волокон светится интенсивно, неравномерно в виде отдельных зерен, глыбок, комков, фрагментов разрушенного мышечного волокна, с большими провалами без свечения.

Очевидно, в мышечном волокне зараженного животного, подвергнутом дегенерации, в саркоплазме происходит разрыв белковых комплексов и их разрушение с высвобождением миезина, который легче соединяется со своим антителом, вследствие чего происходит более грубое, яркое, неравномерное свечение.

Депарафинированные срезы тех же сосунков были обработаны антирабическим и противостолбнячным антитоксическим лошадиным глобулинами, мечеными изотиоцианатом флуоресцеина с целью подтверждения специфичности свечения. Подобного описанному, названные люминесцирующие глобулины в мышечных волокнах свечения не давали.

НО.
МИ
НЕ
СТО

К

О
С
Б
Е

Е

(

В

М

(

М

Р

Г

М

Г

Г

Г

Г

Г

С

С

Г

Г

Г

Г

Г

Г

Г

Г

Г

Г

Г

Г

Г

Г

Г

Г

Г

Г

ний сывороток с
И. И. Манько по
J. II).
воспроизводилась
чаще подкожным
штаммом вируса
ал типичные па-
ния с летальным
эв, половина из
служили в ка-

нике сосунки за-
ення. Тушки це-
льного формалин-
нарезали срезы
обрабатывали
этками и про-
мни светофилт-

светятся слабо,
ерченности све-
с. чередующих-
жении волокна

светятся более
сле заражения,
шо видно на
теряется они-
с чередованнем

глазма разбух-
мышечных во-
отдельных зе-
го мышечного

го животного,
сходит разрыв
льсвобождением
им антителом,
е, неравномер-

были обрабо-
титоксическим
пататом флуо-
свечения. По-
те глобулины в

Гистологическое, гистохимическое, биохимическое и имму-
нологическое изучение при помощи люминесцирующих антител
миотропизма вирусов Коксаки (изменения в мышечном волок-
не) может дать ценные сведения для понимания некоторых
сторон биологических свойств этих вирусов.

НЕКОТОРЫЕ ОБЩИЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ ПОТРЕБЛЕНИЯ КИСЛОРОДА ДЛЯ ВИРУСНО-БАКТЕРИАЛЬНЫХ АДСОРБЦИОННЫХ КОМПЛЕКСОВ, СИСТЕМ ФАГ-БАКТЕРИЙ И ВИРУС-КЛЕТКА

А. Е. Эссель

(Свердловский институт вирусных инфекций)

Вопрос о взаимоотношениях вирусов и бактерий как
определенной биоценотической системы до сих пор не получил
скольких-нибудь удовлетворительных решений. Несмотря на
большое общеприкладное значение этой проблемы и интерес
ее для исследования проблем инфекционной патологии.

Работы Л. А. Зильбера и Е. И. Воструховой (1933),
В. Д. Тимакова (1936), Л. Г. Фалькович и Н. Ф. Янушевич
(1936) показали, что вирус осповакцины можно культивиро-
вать на дрожжах и стафилококке, что в симбиозе с этими
микроорганизмами, а также с сарциной вирус не только сохра-
няется, но и размножается, и что указанные взаимоотношения
(в частности, вирус осповакцины и стафилококк) могут иметь
место в естественных условиях.

В литературе опубликованы (П. Г. Сергиев, Н. А. Демина
и Н. Е. Рязанцева, 1945; Я. К. Гиммельфарб с сотрудниками,
1949; Б. Г. Вайнберг с сотрудниками, 1949, 1951 и многие др.)
материалы, освещающие возможности адсорбции вирусов на
различных бактериальных взвесах и использование адсорба-
тов в реакции агглютинации.

Следует, конечно, иметь в виду, что адсорбционный комп-
лекс вирус — бактерия отнюдь не всегда можно рассматри-
вать как нечто равноценное симбиотическому комплексу.

Естественно, что для разделения чисто адсорбционных и
симбиотических вирус-бактериальных ассоциаций должны
быть выработаны какие-то критерии.

Нам представляется, что выбор направления поиска тако-
вых должен определяться самой природой отношений вируса
и клетки-хозяина в связи с отсутствием автономного обмена и
выработки энергии у первого (В. И. Товарницкий, 1960).

имму-
антител
воло-
каторых

1Я
ЭННЫХ
КА

ий как
получил
тра на
интерес

(1933),
нушевич
тивиро-
этим
сохра-
ошения
т иметь

Демина
никами,
гие др.)
усов на
адсорба-

ий комп-
смати-
у.
нных и
должны

ка тако-
вируса
бмена и
)).

49

Взаимодействие вируса и клетки, обнаруживаемое по цитопатическому эффекту, являющемуся конечным выражением этого взаимодействия, на наш взгляд, может быть выявлено значительно раньше на основе учета физиологических сдвигов («сигналов») в системе вирус — клетка, до грубых морфологических изменений клетки, когда трудно определить, являются ли эти изменения обмена следствием размножения вируса или повреждения клетки.

Ряд авторов (Д. Бауер, 1956; Р. Н. Этингф, 1960; Е. Джифорд, 1961) отмечают, что изменения в обмене углеводов в системе вирус — клетка, по сравнению с неинфицированной клеткой, могут быть изучены на самых ранних этапах заражения.

Аналогичные указания (З. В. Ермольева, 1939; А. Е. Эссель и С. М. Рассудов, 1957) имеются и в отношении бактериофага.

Задачу настоящего исследования составляло сравнительное изучение интенсивности потребления кислорода бактериальными взвесями, адсорбированными на себе вирус осповакцины, взвесью брюшнотифозных бактерий под воздействием гомологичного бактериофага и культурой ткани Нер-2, зараженной аденовирусом 1-го типа.

Потребление кислорода определялось манометрическим методом в аппарате Варбурга.

При исследовании интенсивности потребления кислорода взвесью брюшнотифозных бактерий, на которых был адсорбирован вирус осповакцины, установлено, что уже через 30 мин. после адсорбции количество потребляемого кислорода резко возрастает по сравнению с ненагруженной бактериальной взвесью, и это различие статистически достоверно. Имеет место также нарастание потребления кислорода для взвеси бактерий, нагруженных инактивированным вирусом. Интенсивность потребления кислорода для взвеси брюшнотифозных бактерий под воздействием живого и инактивированного бактериофага также возрастает причем более значительно для комбинации с живым бактериофагом.

При заражении взвеси клеток культуры ткани Нер-2 аденовирусом 1-го типа (А. Е. Эссель, Н. Н. Глинских и В. П. Устьянцев, 1963) уже через 15 мин. после внесения вируса отмечается нарастание потребления кислорода, продолжающееся в течение 7—8 час. до момента освобождения вируса из клеток. После этого потребление кислорода значительно снижается и приблизительно через 15—20 час. совершенно прекращается, тогда как в контрольной культуре оно еще продолжается некоторое время.

Инактивированный вирус не оказывает сколько-нибудь существенного влияния на потребление кислорода взвесью клеток.

50

руживаемое по циничным выражением кет быть выявлено ологических сдвигов о грубых морфоло-определить, являют-азмножения вируса

гоф, 1960; Е. Джибмене углеводов в фицированной клет-этапах заражений. 1939; А. Е. Эссельени бактериофага. льяло сравнительное ода бактериальные вирус осповакцины, здействием гомоло-Нер-2, зараженной

нометрическим ме-

блени кислорода рых был адсорби-уже через 30 мин. кислорода резко ой бактериальной верно. Имеет мес-а для взвеси бак-русом. Интенсив-шнотифозных бак-ванного бактерио-ельно для комби-

кани Нер-2 адено-их и В. П. Устьян-вируса отмечается ющееся в течение из клеток. После-жается и прибли-ращается, тогда-жается некоторое

скольконибудь лсорода взвесью

Таким образом, в проведенных исследованиях установлено, что при воздействии (в пределах избранных моделей) вируса на бактериальную взвесь, вируса на взвесь клеток культуры ткани, а также бактериофага на бактериальную взвесь, потребление кислорода возрастает.

Учитывая, что нарастание потребления кислорода не носит специфического характера и имеет место в случаях адсорбции инактивированного вируса или бактериофага, можно предполагать, что мы имеем дело с общей ответной реакцией клетки на раздражение, вызываемое адсорбцией исследуемых факторов на ее поверхности.

Тщательное количественное изучение процессов дыхания и гликолиза в комплексе с гисто- и цитохимическими исследованиями может определить возможности разработки критериев случайности и облигатности вирусно-бактериальных ассоциаций и направленного рационального подбора систем вирус — клетка для диагностических и исследовательских целей.

ФИЗИОЛОГИЯ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ЕСНО-ВИРУСОВ С БИОЛОГИЧЕСКИМИ СУБСТРАТАМИ, ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ SH-ГРУПП ВИРУСОВ

*Н. А. Зейтленок, Ф. Н. Рейзин, В. М. Ройхель
М. М. Гольдфарб*

(Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов АМН СССР, Москва)

К числу основных функций покоящейся внеклеточной стадии развития вирусов — вироспоры (В. Л. Рыжков, 1955 г.) — относятся сохранение жизнеспособности вируса во внеклеточной среде и возможности реализации механизмов нападения его на клетку — прикрепления к клетке и внедрения в нее.

Для осуществления указанных жизненных функций вируса существенное значение имеют характер и интимные механизмы взаимодействия вироспор с различными биологическими субстратами. Раскрытие механизмов взаимодействия вирусов с биологическими субстратами тесно связано с выявлением роли биологически активных химических групп белковой оболочки вироспор. По имеющимся данным (Филипсон и Чоппин, 1960; Зейтленок и Рейзин, 1963), большое значение во взаимодействии некоторых вирусов с эритроцитами и чувствительными клетками имеют сульфгидрильные (SH-) группы.

В настоящей работе представлены данные, показывающие роль SH-групп вирусов 7, 11, 12, 19 в процессе взаимодействия

но,
на
са-
те-ит
ни
ла-
на
наи
ва-
ев
ий
ката-
ной
науса
уб-
с
оли
чки
160;
ист-
тет-щие
вия

51

с эритроцитами человека, чувствительными клетками культуры ткани почек обезьян, протеолитическим ферментом (трипсин), неспецифическими ингибиторами сывороток крови человека и животных, клеточными экстрактами. Показана также локализация неспецифических ингибиторов гемагглютининов вирусов ЕСНО в различных белковых фракциях сыворотки крови.

Меркаптидообразующие SH-реагенты, р-хлормеркурийбензоат (PCMB) и $HgCl_2$ полностью инактивируют гемагглютинины исследованных вирусов и снижают их инфекционную активность в культуре ткани. Инактивация вируса обратима под действием восстановленного глутатиона или солянокислого цистеина.

Алкирующий SH-реагент — иодацетамид — необратимо подавляет гемагглютинины вирусов ЕСНО 11 и 19, не влияя в тех же условиях на гемагглютинины вирусов ЕСНО 7 и 12, что указывает на различие в положении и в функциональной активности SH-группы на поверхность их вироспор.

Трипсин «Дифко» в конечной концентрации 0,25% не оказывал влияния на гемагглютинационную и инфекционную активность изученных вирусов. Однако после предварительного блокирования SH-групп вирусов обработкой их PCMB удалось показать полное и необратимое подавление гемагглютинационной активности и необратимое частичное подавление инфекционности вирусов при последующем воздействии трипсина. Обработанные таким образом вирусы не восстанавливали своей активности под действием редуцирующих агентов (восстановленный глутатион). Неполное подавление инфекционности ЕСНО-вируса 7 под влиянием PCMB или PCMB и трипсина было связано с наличием в вирусной популяции PCMB-чувствительных (PCMB⁺) и PCMB-резистентных (PCMB⁻) вариантов вируса. PCMB⁻ вироспоры не были способны агглютинировать эритроциты человека O-группы, не обладали высокой инфекционной активностью.

Методом препаративного электрофореза на фильтровальной бумаге установлено, что неспецифические ингибиторы гемагглютининов вируса ЕСНО 7 в сыворотках крови человека, кролика и лошади локализуются преимущественно в альбуминовой фракции; в сыворотках крыс в альфа- и бета-глобулинах; в сыворотках обезьян — в гамма- и бета-глобулинах. При действии трипсина на сыворотке крови утрачивалась их ингибиторная активность, что говорит о белковой природе неспецифических ингибиторов. Обнаружено, что обработка трипсином нейтрального комплекса «вирус — ингибитор» вела к реактивации гемагглютинационной активности вирусов ЕСНО. Аналогичные данные получены при изучении взаимоотношений сывороточных ингибиторов с вирусом гриппа (Лузянина с соавторами, 1964). По предварительным данным, во взаимодействии ЕСНО вирусов с неспецифическими ингибиторами сыв-

52

в
к
к
р
и
Г
Г

летками культуры
лентом (трипси-
н), крови человека и
а также локализа-
тенинов вирусов
ротки крови.

ормеркурийбензо-
ггемагглютинины
онную активность
ма под действием
го пестейна.

-необратимо по-
9, не влияя в тех
7 и 12, что ука-
нальной активно-

0,25% не оказы-
кционную актив-
арительного бло-
СМВ удалось по-
гглютинационной
ие инфекционно-
ипсина. обрабо-
али своей актив-

(восстановлен-
ности ЕСНО-
ипсина было свя-
з-чувствительных
риантов вируса.
ровать эритроци-
нфекционной ак-

а фильтроваль-
ингибиторы гем-
крови человека,
энно в альбими-
и бета-глобули-
лобулинах. При
ивалась их ин-
природе неспе-
работка трипси-
ор» вела к ре-
вирусов ЕСНО.
заимоотношений
Лузянина с сот-
1, во взаимодей-
гибиторами сы-

вороток крови человека и животных существенную роль игра-
ют SH-группы вирусов: вирусы, SH-группы которых были бло-
кированы РСМВ, не подавлялись неспецифическими ингибито-
рами.

Солевой экстракт ткани почек обезьян оказался активным
ингибитором гемагглютининов вирусов ЕСНО 7 и 19. Ингиби-
рующий фактор экстракта ткани не действовал на вирусы, об-
работанные РСМВ, что говорит о важной роли в этом фено-
мене SH-групп вирусов.

Результаты исследования показывают важное значение сво-
бодных SH-групп вироспор в процессах взаимодействия изу-
ченных ЕСНО-вирусов с различными биологическими субстра-
тами.

SH-группы вироспор необходимы для осуществления взаи-
модействия ЕСНО — вирусов 7, 11, 12, 19 с чувствительными
клетками почек обезьян, с эритроцитами человека О-группы, с
сывороточными и тканевыми ингибиторами гемагглютининов.
С другой стороны, SH-группы защищают вироспоры указан-
ных вирусов от губительного воздействия трипсина, что, воз-
можно, имеет значение для сохранения жизнеспособности
ЕСНО-вирусов в кишечнике.

Однако положение SH-групп на оболочке вироспор и их
значение в процессах взаимодействия с чувствительными клет-
ками и протеолитическими ферментами различно у разных
вирусов и даже у генетически разных вариантов одного и то-
го же вируса.

НЕКОТОРЫЕ ДАННЫЕ О ПРИРОДЕ ШТАММА ВИРУСА «БАКЫ-7с», ВЫДЕЛЕННОГО ИЗ СЫВОРОТКИ БОЛЬНЫХ ИНФЕКЦИОННЫМ ГЕПАТИТОМ

К. Г. Керимзаде, Л. И. Алекперова
(Научно-исследовательский институт ЭМИГ, Баку)

Штамм «Баки-7с» прошел 13 пассажей. Помимо него, из
сыворотки больных инфекционным гепатитом выделено еще
3 штамма, но первый изучен более подробно.

Этот штамм интересен и потому, что дает в значительном
количестве случаев положительную реакцию преципитации с
сыворотками больных и специфическое свечение при постанов-
ке опытов непрямом методом Кунса.

Была изучена возможная роль клеточного иммунитета как
причины трудной выделяемости вируса инфекционного

а-
о-
о-
М
и-
ю-
ю-
у-
а-
и-
ми
, с
ов.
зн-
оз-
сти
их
ет-
ых
то-

из
еще
ном
и с
нов-
как
ного
53

МС
ку

П
ти
ш

В
па
ни
н.
к
ш
Р

Т
5

гепатита. В частности, было обнаружено, что при заражении пробирок с большим количеством непрививаемых клеток почеч человека штаммом «Баки-7с», наряду с распавшимися, разрушенными клетками, имелись и группы клеток, по виду совершенно здоровых. Несмотря на то, что после тщательного встряхивания и промывания раствором Хенкса оставшиеся «здоровые» клетки повторно заражали этим же штаммом, приобретенная устойчивость клеток была настолько сильной, что они не подвергались никаким изменениям.

Это явление мы назвали аутоинтерференцией, сопровождающейся, по-видимому, образованием интерферона.

Вышеуказанный опыт проливает свет на причину трудной выделяемости вируса инфекционного гепатита.

Применение гистохимического метода Браше и Фельгена показало, что содержание дезоксирибонуклеопротеидов в зараженных клетках гораздо больше, чем в нормальных. ДНК особенно много сконцентрировано в внутриядерных включениях.

На основании полученных данных мы пришли к заключению, что штамм «Баки-7с» относится к ДНК-содержащим вирусам.

Люминесцентно-микроскопическое изучение содержания и распределения нуклеиновых кислот в зараженных вирусом препаратах подтвердило результаты гистохимических исследований.

Было обнаружено, что при окрашивании препаратов акридином оранжевым в разведении 1:10 000 и рН—4,5 первые изменения в клетках наблюдались через 6 час. после заражения. Эти изменения выражались в увеличении размера ядра, повышении яркости свечения его ДНК-компонента, что говорит об усилении процессов клеточного метаболизма, связанного с воздействием вируса на клетку. Спустя 16 час. после заражения указанные изменения усиливались: большинство клеток приобретали гигантские размеры, ядро разбухало, образовывались крупные, сильно светящиеся яркозеленым цветом гранулы в ядре. Сильные изменения, связанные с подавлением клеточного метаболизма, наблюдались через 24 часа после заражения; они выражались в образовании в ядре ДНК-включений с ободком и изменением ядрышек, ставших из кирпично-красных желто-зелеными. Вокруг ядра ободок цитоплазмы также из красного становился желтым и утолщался. Наблюдения показали, что там, где происходил распад ядрышка, имело место и разрушение клетки, что говорит о большом значении ядрышка для жизнедеятельности клеток. Конечная стадия распада клеток выражалась в сильно светящихся сплошных конгломератах, причем компоненты клеток не отличались друг от друга.

Проводилось электронномикроскопическое исследование ультратонких срезов зараженной и нормальной культуры ткани.

и заражении
клеток почек
имеются, раз-
но виду со-
тательного
зшиися «здо-
мом, приоб-
ной, что они

сопровожда-

ну трудной

Фельгена
в заражен-
НК особен-
ниях.

к заключе-
держащим

ержания и
русом пре-
с исследо-

атов акри-
5 первые
е зараже-
мера ядра,
то говорит
изанного с
е зараже-
во клеток
образовы-
метом гра-
давлением
са после
НК-вклю-
з кирпич-
топлазмы
Наблюда-
ка, имело
значении
адия рас-
ных конг-
друг от

едование
ры ткани.

Морфологическое изучение штамма вируса проводили с помощью электронного микроскопа на поверхности эритроцитов кур, применив методику Dawson and Elford.

Удалось обнаружить различные стадии изменений цитоплазмы, ядра и ядрышка клеток с образованием цитоплазматических и внутриядерных включений, вызванных активностью штамма «Баки-7с».

Изменения выражались в образовании гигантских клеток, вакуолизации цитоплазмы, утолщении оболочек клеток, распаде митохондрий, появлении крупных внутриядерных включений с ободком светлой зоны, а также в некоторых клетках обнаруживались дистрофические и некробиотические изменения как в цитоплазме, так и в ядре. Осмифильные вещества, окрашивающиеся фосфорно-вольфрамовой кислотой, сконцентрированы во включениях и в периферической зоне ядра.

Вирусные частички, адсорбированные на стромах эритроцитов, неоднородны. Их размеры колеблются в пределах 20—50 мкм.

с. по-
цитовцито-
азма-
стьюеток,
рас-
пече-
х об-
нения
окра-
нтри-роци-
20—

БИОХИМИЯ ВИРУСОВ И ВИРУСНЫХ БОЛЕЗНЕЙ

О РОЛИ РНК ПОЛИЭДРОВ, СОДЕРЖАЩИХ ДНК-ВИРУС

Л. М. Тарасевич, Е. Ф. Уланова, Н. Г. Шведчикова

(Институт микробиологии АН СССР, Москва)

Полиэдры — внутриядерные включения при вирусных заболеваниях насекомых — являются классическим примером, хорошо демонстрирующим историю развития взглядов на природу вирусных включений. Так, их последовательно принимали за простейшие организмы, за кристаллы, за продукт реакции клетки на вирус и защитное образование самого вируса.

Развитие электронной микроскопии позволило показать наличие вирусных частиц во включениях. Метод флуоресцирующих антител с достоверностью показал, что включения содержат вирусный антиген. Таким образом, в настоящее время нет сомнений в том, что вирусные включения являются одной из активных стадий развития вируса.

Полиэдры представляют собой удивительно сложное и интересное образование.

В настоящем сообщении мы коснемся лишь вопроса о нуклеиновых кислотах полиэдров, где также может быть продемонстрирована определенная сложность их нуклеиновокислотного состава.

В 1946 г. мы обнаружили в полиэдрах наличие одновременно двух нуклеиновых кислот: ДНК и РНК, что было затем подтверждено Рыжковым и Городской (1949), Фаулкнером (1962) в Канаде и Айзава (1963) в Японии. Бергольд (1947) показал, что вся ДНК полиэдров заключена в вирусных частицах, погруженных в белковую строму полиэдров.

Задачей настоящего исследования явилось выяснение роли РНК полиэдров.

Нуклеиновые кислоты извлекали из полиэдров с помощью щелочных растворов различных концентраций. Одновременно приводили химическое фракционирование полиэдров с последующим количественным определением нуклеиновых кислот и

БОЛЕЗНЕИ**ДНК-ВИРУС***Гведчикова*

а).

и вирусных за-
ским примером,
взглядов на при-
вательно прини-
лы, за продукт
зование самого

ло показать на-
флюоресцирую-
ключения содер-
жащее время нет
аются одной из

сложное и ин-

вопроса о ну-
жет быть проде-
клеиновокислот-

ние одновремен-
ыло затем под-
лкнером (1962)
(1947) показал,
с частицах, по-

ыяснение роли

ов с помощью
Одновременно
эдров с после-
овых кислот и

ставили эксперименты с заражением гусениц тутового шелко-
пряда разными фракциями полиэдров. Результаты эксперимен-
тов показали следующее:

1) разные образцы полиэдров содержали разное количе-
ство РНК и одинаковое количество ДНК;

2) даже очень слабые щелочные растворы (0,004 М Na_2CO_3)
извлекают из полиэдров ДНК и РНК, причем из разных об-
разцов полиэдров ДНК извлекается в одинаковом процентном
отношении, а РНК — в разном;

3) в результате обработки полиэдров 0,04 М Na_2CO_3 , раст-
воряющей подавляющую часть полиэдра, в раствор переходят
обе нуклеиновые кислоты;

4) как щелочная вытяжка, так и остаток полиэдров обла-
дают высокими инфекционными свойствами (70—80% от ин-
фекционности нативных полиэдров), что установлено в 5 опы-
тах с тремя повторностями по 50 гусениц в каждой;

5) высокоинфекционная щелочная вытяжка из полиэдров
полностью теряет свои инфекционные свойства при обработке
рибонуклеазой, в то время как инфекционный остаток полиэд-
ров сохранял их при той же обработке ферментом.

Результаты экспериментов показали, что инфекционность
легко экстрагируемой части ДНК полиэдров полностью свя-
зана с РНК и теряется при обработке рибонуклеазой.

Инфекционна ли сама РНК, легко экстрагируемая из по-
лиэдра, или ее присутствие необходимо для проявления инфек-
ционности ДНК, может быть установлено только в опытах с де-
зоксирибонуклеазой.

Трудно экстрагируемая ДНК, остающаяся в нерастворен-
ном остатке полиэдров, не влияет на инфекционность ДНК по-
лиэдров.

СТРУКТУРА АНТИГЕНОВ И НУКЛЕОПРОТЕИДОВ НЕКОТОРЫХ ВИРУСОВ ЗЛАКОВ

*И. Г. Атабеков, А. С. Кашпакова, Н. А. Киселев,
В. К. Новиков, Г. А. Попова*

1. Вирус мозаики озимой пшеницы.

Установлено, что препараты, выделяемые из растений, за-
раженных вирусом мозаики озимой пшеницы (ВМП) и виру-
сом закукливания злаков (ВЗЗ) и считавшиеся до сих пор ви-
русными нуклеопротеидами, являются в действительности низ-
комолекулярными белками — антигенами ВМП и ВЗЗ.

С применением методов вискозиметрии, двойного лучепреломления в потоке, седиментационного анализа и электронной микроскопии установлено, что при повышении концентрации антигена ВМП в растворе, а также в присутствии ионов кальция, магния и др. происходит самопроизвольное формирование фибриллярных структур в результате агрегации молекул антигена ВМП (Ф-Форма).

Агрегация носит обратимый характер и зависит от pH среды. При подщелачивании или удалении полимеризующего катиона происходит полная деградация линейных агрегатов до исходных «глобулярных» структур (переход от Ф-формы в Г-форму).

2. Вирус штриховатой мозаики ячменя.

Очищенные препараты вируса штриховатой мозаики ячменя (ВШМЯ) получали хроматографией на колонках фосфата кальция с последующим дифференциальным ультрацентрифугированием. Гомогенность и чистота препаратов ВШМЯ установлена с применением физико-химических и иммунологических методов.

Проведен иммунологический анализ ВШМЯ в сравнении с некоторыми другими палочковидными вирусами.

Из препаратов ВШМЯ выделена высокоинфекционная РНК. Приводится ее биологическая и физико-химическая характеристика.

Для выделения РНК из ВШМЯ можно применять «солевой» метод. В концентрированных растворах хлористого магния, бария и кальция происходит полная депротеинизация вируса: низкомолекулярный белок солюбилизируется, а нерастворимый в воде нуклеат может быть в дальнейшем растворен в присутствии версена.

При снижении концентрации солей этот метод позволяет провести неполную депротеинизацию вируса с частичным обнажением полинуклеотидной цепи.

Изучены некоторые физико-химические свойства ВШМЯ и субструктурных компонентов, образующихся при деградации вирусного нуклеопротеида в щелочи, в концентрированных растворах солей и мочевины, а также при действии детергентов.

Исследованы условия, при которых происходит реполимеризация низкомолекулярного вирусного белка с образованием вирусоподобных частиц.

О НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТАХ ИЗОЛИРОВАННЫХ ГРАНУЛ ПРИ ГРАНУЛЕЗЕ СИБИРСКОГО ШЕЛКОПРЯДА

Н. Г. Шведчикова, Л. М. Тарасевич

(Институт микробиологии АН СССР, Москва)

Гранулы, образующиеся при гранулезе насекомых, почти не изучены в отношении их химического состава. Данные о содержании нуклеиновых кислот в гранулах сибирского шелкопряда в литературе отсутствуют. Гранулы, выделенные нами из больных гранулезом гусениц сибирского шелкопряда (гусеницы получены от Гукасяна), подвергались химическому фракционированию и в них определялось количественное содержание нуклеиновых кислот. Оказалось, что гранулы, подобно полидрам тутового шелкопряда (Тарасевич, 1996), содержат обе нуклеиновые кислоты — ДНК и РНК.

Содержание РНК равно $8,0 \pm 0,26$, ДНК — $0,2\% \pm 0,04$ на сухую, обезжиренную навеску гранул.

ВЛИЯНИЕ УЛЬТРАЗВУКОВЫХ ВОЛН НА ФОТОДИНАМИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ И МЕТАХРОМАТИЧЕСКУЮ РЕАКЦИЮ ВИРУСА ТАБАЧНОЙ МОЗАИКИ

Н. Е. Эльпинер, А. Д. Шебалдина, Ф. И. Брагинская

(Институт биофизики АН СССР, Москва)

1. Вирус табачной мозаики под действием ультразвуковых волн большой интенсивности теряет свою инфекционную активность (проверено на половинках листьев *Nicotiana glutinosa*).

При этом наблюдаются нарушения не только нуклеиновых компонентов ВТМ, но и изменения в структуре белковой его части (спектрофотометрические исследования).

2. При меньших экспозициях ультразвуковых волн потеря инфекционности наблюдалась, если озвученная суспензия ВТМ подвергалась освещению в присутствии акридинового оранжевого (положительный фотодинамический эффект).

3. Метахроматическая реакция ВТМ с толуидиновым синим (комплекс I) не обнаруживается, если концентрация вируса сравнительно мала. Концентрированная же суспензия ВТМ обладает способностью взаимодействовать с красителем, с образованием комплекса II, что выражается в сдвиге максимума толуидинового голубого в сторону более длинных волн. Способность к образованию комплекса II исчезает, если вирус

более
ервыи
ицио-
лезнь
дкор-
зо) в
обще-
при-
фак-
зания.
и бо-
а опи-
сть в
ровых
и по-
с. Бо-
расту-
о бы-

про-
лении
болез-
екции
симп-
и ли-
двух-
так-
аботе
и че-
льные
или
при
кость
одно-

всех
импто-
фере,
их де-

ньший
виях,
могли
учена
груши
была

получена ни в одном случае использования листьев здоровых деревьев.

В докладе освещаются также результаты других опытов по передаче розеточности, в том числе заражением сеянцев яблони и груши, а также однолетних растений натираем и заражения саженцев яблони фенольными экстрактами нуклеиновых кислот.

Результаты электронномикроскопического исследования используемых в опытах экстрактов показали наличие в инфекционных жидкостях очень редко встречающихся палочковидных частиц длиной 150—800 мкм, с наиболее часто встречающимся размером 600 мкм. Поскольку такие структуры не были отмечены в препаратах из экстрактов здоровых листьев, авторы полагают возможным, что они могут иметь отношение к возбудителю болезни.

В итоге проведенной работы авторы приходят к выводу о инфекционности розеточности яблони на Украине.

ИНГИБИТОРЫ ФИТОПАТОГЕННЫХ ВИРУСОВ И ПУТИ ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

А. Д. Бобырь

(Институт микробиологии и вирусологии им. Д. К. Заболотного АН УССР)

Токсичность ингибиторов вирусов для растения-хозяина и обратимость вызываемой ими инактивации вируса — основное препятствие на пути их использования.

Токсичность ингибиторов и обратимость инактивации вируса диаметрально противоположно связаны с концентрацией вещества и продолжительностью его воздействия на вирус и растение. Эти свойства зависят в значительной степени также от видовой и сортовой специфики растения-хозяина и развития в нем вирусной инфекции.

Отбор ингибиторов вирусов с учетом факторов, влияющих на их токсичность и обратимость вызываемой ими инактивации, открывает возможности использования для химиопрофилактики антивирусных веществ с неспецифическим действием.

Изыскание веществ на основе общих принципов отбора ингибиторов вирусов для химиопрофилактики и терапии с широким спектром антивирусного действия — путь к повышению эффективности антивирусных веществ.

которое вы-
одали в ре-
ами (поли-
еская реак-
ены своеоб-
ложности в
нения РНК
а.

А

ВАННЯ

НИ

роко рас-
ропы. Эта
зу. Поэто-
внимание
нных дис-

лад не был

В настоящее время имеется, по меньшей мере, два наиболее распространенных взгляда на происхождение болезни. Первый из них, имеющий наибольшее число сторонников, основан на функциональном характере заболевания, основан на том, что болезнь в ранней стадии излечивается путем дополнительных подкормок деревьев некоторыми микроэлементами (цинк, железо) в сочетании с тщательным соблюдением всего комплекса общагротехнических мероприятий. Второй — о инфекционной природе — базируется на увеличивающемся с каждым годом фактическом материале о вирусном происхождении заболевания.

Наблюдаемые авторами в условиях Украины признаки болезни в основном соответствуют имеющимся в литературе описаниям. Однако ими неоднократно отмечалась очаговость в распространении болезни, проявление ее признаков на здоровых взрослых деревьях, если они растут вблизи от больных и поражение побегов, растущих вблизи следов обрезки веток. Болезнь в питомнике может поражать отдельные саженцы, растущие рядом с вполне здоровыми. Такие особенности обычно бывают характерны для инфекционных болезней.

Для выяснения природы заболевания в 1962—1964 гг. проведены ряд опытов и лабораторных исследований в направлении выяснения возможности заражения или, вернее, передачи болезни соком больных листьев. В качестве источника инфекции брались взрослые деревья, с которых собирали листья с симптомами болезни, а для контроля — листья без симптомов и листья здоровых деревьев. Для заражения использовали двухлетние саженцы и однолетние сеянцы яблони и груши, а также растения петунии, душистого табака и томатов. В работе использовались экстракты этих листьев после фильтрации через ватный или асбестовый фильтры, а также фенольные экстракты нуклеиновых кислот. Заражение проводили или путем натирания опыленных карборундом листьев, или при помощи каучуковой трубки, из которой инфекционная жидкость всасывалась внутрь срезанного под этой же жидкостью однолетнего побега.

Опыты 1962 г. дали положительные результаты. Во всех случаях заражения саженцев экстрактом из листьев с симптомами розеточности, в дистилляте или в фосфатном буфере, проявились признаки болезни. В 1964 г. некоторые из этих деревьев в сильной степени охвачены заболеванием.

Побеги с признаками болезни имеют значительно меньший прирост (на 56%) и намного более интенсивно ветвятся.

Заражения, проведенные в 1963 г. в полевых условиях, из-за неблагоприятных для роста деревьев погоды не могли быть учтены. В условиях же теплицы была получена передача болезни во всех случаях заражения саженцев груши экстрактами листьев яблони с симптомами болезни и не была

листьев здоровых
других опытов по
нием семян яб-
натирами и за-
трактами. нуклеи-

исследования ис-
личие в инфекци-
я палочковидных
го встречающимся
ы не были отме-
ишьев, авторы по-
ношение к возбу-

одят к выводу о
не.

РУСОВ

ного АН УССР)

я-хозяина и об-
— основное пре-

тивации вируса
нтрацией веще-
вирус и расте-
ни также от ви-
развития в нем

ров, влияющих
и инактивации,
опрофилактики
вием.

рв отбора инги-
пии с широким
шению эффек-

ВЛИЯНИЕ ВНЕШНИХ УСЛОВИЙ И ИЗМЕНЧИВОСТЬ ВИРУСОВ

ИЗУЧЕНИЕ ИНАКТИВИРУЮЩЕГО И МУТАГЕННОГО ДЕЙСТВИЯ ГИДРОКСИЛАМИНА НА ВИРУС ПОЛИОМИЕЛИТА

Ю. З. Гендон

(Московский научно-исследовательский институт вирусных препаратов)

1. В последнее время появились работы в которых описано мутагенное действие гидроксиламина в опытах с бактериофагами, вирусом табачной мозаики и вирусом болезни Ньюкэстль. Работами Шустера и др. было показано, что гидроксиламин реагирует преимущественно с пиримидиновыми основаниями нуклеиновой кислоты, причем в слабокислой среде происходит изменение главным образом цитозина, а в щелочной — урацила. В настоящей работе изучено инактивирующее и мутагенное действие гидроксиламина на вирус полиомиелита при обработке нативного внеклеточного вируса и вирусной РНК *in vitro*.

2. Изучение инактивирующего действия гидроксиламина при рН 7,1 показало, что инактивация нативного вируса, как и вирусной РНК, происходит, как реакция первого порядка. Каких-либо различий в скорости или характере кривой инактивации при проведении опыта в изотонической или гипертонической среде не обнаруживалось. Кинетика снижения инфекционности нативного вируса и вирусной РНК была практически одинакова. Из препаратов нативного вируса, инактивированного гидроксиламином, не удавалось выделить инфекционной РНК. Полученные данные свидетельствуют о том, что инактивация вируса полиомиелита гидроксиламином при использованных условиях опыта происходит главным образом за счет разрушения нуклеинового компонента вируса, а не его белковой оболочки. Эти результаты позволяют высказать предположение о том, что гидроксиламин может быть с успехом использован для приготовления высокоиммуногенных инактивированных вирусных вакцин.

3. Изучение инактивирующего действия гидроксиламина на нативный вирус полиомиелита и вирусную РНК при рН 6,1

(преимущественное удаление цитозина) и при pH 9,1 (преимущественное удаление урацила) показало, что инфекционность РНК разрушается при pH 6,1 значительно быстрее, чем при pH 9,1. В то же время в опытах с нативным вирусом потеря инфекционности при pH 6,1 происходила значительно медленнее, чем при pH 9,1. Учитывая, что снижение инфекционности вируса полиомиелита при действии гидроксиламина связано с преимущественным разрушением вирусной РНК, можно полагать, что в щелочной среде частично нарушается целостность вирусной белковой оболочки и облегчается проникновение гидроксиламина к нуклеиновому компоненту вируса. Косвенным подтверждением этой точки зрения служат полученные нами данные изучения фотодинамического действия профлавина на вирус полиомиелита. В этих опытах было показано, что потеря инфекционности при фотодинамическом действии профлавина на вирус полиомиелита обусловлена разрушением нуклеинового компонента вируса. Так, при pH 7,1 нативный вирус не инактивировался при фотодинамическом действии профлавина, в то время как РНК быстро теряла инфекционность. Однако при проведении опыта в щелочной среде нативный вирус также снижал инфекционность при фотодинамическом действии профлавина.

4. Изучение мутагенного действия гидроксиламина на вирус полиомиелита при pH 7,1 показало воспроизводимое и статистически достоверное возникновение мутаций по S-, d- и gc₄₀-признакам при обработке нативного вируса и вирусной РНК *in vitro*. Однако частота мутаций в опытах с вирусной РНК оказалась примерно в два раза выше, нежели при обработке нативного вируса. В опытах с вирусной РНК обнаруживалась определенная специфичность мутагенного действия гидроксиламина, выражавшаяся в преимущественном изменении S-признака вируса. Кроме того, гидроксиламин вызывал возникновение мутаций только при действии на РНК, выделенную из вирулентных штаммов вируса полиомиелита (прямые мутации), но не на РНК, полученную из аттенуированных штаммов (обратные мутации). В ряде опытов с РНК, выделенной из вирулентных штаммов вируса полиомиелита, удалось получить мутанты, обладающие свойствами вакцинных штаммов, включая апатогенность для приматов.

5. Изучение мутагенного действия гидроксиламина на РНК в слабокислой или щелочной среде показало, что при pH 9,1 имеет место постоянное возникновение мутаций по S-признаку, в то время, как при pH 6,1 появление мутаций практически отсутствовало. Учитывая полученные данные, можно полагать, что при действии гидроксиламина на вирус полиомиелита возникновение мутаций по S-признаку связано с изменениями в составе урацила, а потеря инфекционности обуславливается удалением

сано
эфа-
тль.
ре-
ну-
из-
ила.
дей-
отке

при
ви-
ких-
ции
ской
ости
ако-
рок-
олу-
ару-
сло-
ния
чки.
гом,
для
рус-

на
6,1

ци
де
со
га
ни

б
к
г
е
к
г
с
г

1 9,1 (преиму-
инфекционность
трее, чем при
вирусом потеря
ельно медлен-
инфекционности
ана связано с
можно пола-
я целостность
кновение гид-
а. Косвенным
лучшие нами
офлавина на
но, что поте-
гвини профла-
нием нуклеи-
ный вирус не
профлавина,
ость. Однако
й вирус так-
ом действии

мина на ви-
димое и ста-
по S-, d- и
и вирусной
с вирусной
ти при обра-
К обнаружи-
о действия
ном измене-
ни вызывал
К, выделен-
та (прямые
нных штам-
деленной из
сь получить
амов, вклю-

на на РНК
при рН 9,1
S-признаку,
стически от-
олагать, что
а возникно-
и в составе
удалением

цитозина. Учитывая определенную специфичность мутагенного действия гидроксилamina и возможность получения мутантов со свойствами вакцинных вирусных штаммов, можно полагать, что этот мутаген найдет широкое применение для решения ряда практических и теоретических вопросов вирусологии.

**ДЕЙСТВИЕ 5-БРОМУРАЦИЛА И 5-ФТОРОУРАЦИЛА
НА ИНДУКЦИЮ ВИРУСА ЛИЗОГЕННОГО,
ЛИШЕННОГО ТИМИНА МУТАНТА E. COLI
ПРИ УЛЬТРАФИОЛЕТОВОМ СВЕТЕ**

Х. А. Розенталь

(Институт вирусологии, Берлин)

Если бромурацил введен вместо тимина в ДНК лизогенной бактерии, то клетки проявляют увеличенную чувствительность к ультрафиолетовым излучениям и побуждаются к синтезу вируса при значительно более низких дозах. Если одновременно в РНК лизогенной бактерии присутствует фтороурацил, клетки инактивируются ультрафиолетовым светом, а не возбуждаются.

Эти результаты показывают, что первичные шаги вирусной индукции с помощью ультрафиолетового света вызывают реакции у молекул ДНК клеточных хромозом и, вероятно, исключают реакции, касающиеся самого ингибитора и молекул ДНК вируса (профага), регулируя синтез и действие ингибитора.

**К ВОПРОСУ РЕАКТИВАЦИИ ВИРУСА ЯЩУРА
И РОЛИ БЕЛКОВОЙ ОБОЛОЧКИ В ЭТОМ ПРОЦЕССЕ**

Е. Е. Никитин, В. Н. Сюрич

(Институт ветеринарной вирусологии, Москва)

Хорошо известны и экспериментально воспроизводимы факты реактивации вирусов оспы в организме животного при одновременном введении инактивированного и живого вирусов. В настоящее время в свете открытия генетической роли нуклеиновых кислот механизм этого феномена связывают с сохранением трансформирующего фактора — ДНК.

Однако по реактивации инактивированных вирусов в усло-

ГО
ЭВ
а-
е-
и.ЭЙ
ТЬ
И-
НО
Т-
а-ОЙ
И-
Ю-
И-
Как-
но-
ов.
ле-
не-ло-
85

виях неживой системы имеется сравнительно мало фактических данных. В 1954 г. Нортон наблюдал реактивацию инактивированного фага путем суспензирования его в концентрированных растворах ацетата натрия или в слегка кислых растворах пептона. Имеется ряд сообщений относительно реактивации микроорганизмов и фагов, облученных ультрафиолетовыми лучами (Латарже с сотрудниками, 1954; Дюлбекко, 1949, 1950; Кельнер, 1951; Кэмбелл, 1950; Барабой, 1961).

В настоящем сообщении нами приводятся экспериментальные данные по реактивации вируса ящура, инактивированного глубоким обезвоживанием, кислой средой и ультрафиолетовыми лучами вне организма животных.

В опытах использовали лапнизированный вирус ящура типа А. Глубокого обезвоживания вируса до остаточной влажности 0,2—0,4% достигали высушиванием в специальной среде. Инактивацию вируса в кислой среде осуществляли, добавляя к вирусосодержащей суспензии раствор соляной кислоты до pH 5,0 и выдерживая ее в темноте в течение 1 часа. Ультрафиолетовое облучение лампой БУВ-30 в дозе 8000 эрг/см² обеспечивало снижение активности вируса в высушенном состоянии на 2,5—3 логарифма.

Вирус, инактивированный обезвоживанием, обрабатывали высокой температурой и ультразвуком и помещали в поле ультравысокой частоты (УВЧ). Реактивацию вируса, инактивированного в кислой среде, производили двукратным подщелачиванием среды до pH 9,5, ультразвуком в дозе $6 \cdot 10^{11}$ эрг и в поле ультравысокой частоты. Вирус, частично инактивированный ультрафиолетовыми лучами, облучали синим светом, обрабатывали ультразвуком и помещали в электрическое поле ультравысокой частоты.

Установлено, что при высушивании вируса ящура до конечной влажности 0,2—0,4% активность его снижается в 1000—10 000 раз по сравнению с вирусом, высушенным до влажности от 1 до 3% и более.

Вирус, инактивированный обезвоживанием, легко реактивируется нагреванием при 60, 70 и 80°С в течение часа, повышая активность на 2—3 логарифма, а также при хранении его при температуре —30 и +20° в течение 30—45 дней. Ультразвук и УВЧ реактивирующего действия не оказывали.

Интересно отметить, что вирус, реактивированный подогреванием до 80°, полностью инактивировался в течение 30 мин. в 0,1%-ном растворе панкреатической рибонуклеазы при +37°. Вирус, реактивированный другими методами, оказался устойчивым к действию рибонуклеазы.

Полная инактивация вируса ящура в среде с pH 5,0 наступает при +20° в течение 30—60 мин. В опытах использовали вирус, полностью инактивированный при pH 5,0 в течение 1 часа.

рЕ
са
ва
П
ста
падо
со
чени
ти
че
бсул
ле
непо
ва
ул
сс
ти
бс
+ли
ни
в!пи
ки
и!

мало фактически
ацию инактивиро-
онцентрированных
х растворах пепто-
активации микро-
летовыми лучами
1949, 1950; Кель-

эксперименталь-
нактивированного
ультрафиолетовы-
вирус ящура типа
эной влажности
ной среде. Инак-
тובавляя к виру-
оты до рН 5,0 и
ультрафиолетовое
беспечивало сни-
обянии на 2,5 —

обрабатывали
мешали в поле
руса, инактиви-
ным подшелачни-
 10^{11} эрг и в поле
активированный
этом, обрабаты-
поле ультравы-
щура до конеч-
ается в 1000 —
и до влажности

егко реактиви-
часа, повышая
нении его при
Ультразвук и

нный подогре-
ение 30 мин. в
зы при $+37^{\circ}$.
зался устойчи-

рН 5,0 насту-
использовали
ечение 1 часа.

В результате установлено, что быстрая двукратная смена рН среды с 5,0 до 9,5 способствует частичной реактивации вируса ящура, инфекционность которого, как правило, восстанавливается до 1,5—2, а в отдельных случаях до 3—4 логарифмов ЛД₅₀. Частичная реактивация вируса наступает также при действии ультразвука в дозе $6 \cdot 10^{11}$ эрг. Рибонуклеаза не действует на вирус, реактивированный сменой рН и ультразвуком.

Ультрафиолетовое облучение (длина волны 2800—4200 А) в дозе 8000 эрг/см² частично инактивирует вирус в высушенном состоянии, снижая активность его на 2,5—3 логарифма. Увеличение дозы облучения не оказывает заметного эффекта.

Облучение инактивированного вируса синим светом в течение 40 и 60 мин. частично реактивирует вирус, повышая его активность на 0,7—1,5 логарифма. Однако увеличение дозы облучения синим светом не усиливает реактивацию, а наоборот, еще более снижает активность вируса.

Более отчетливое реактивирующее действие оказывает ультразвук, повышая активность инактивированного ультрафиолетовыми лучами вируса на 1,2—2 логарифма. Рибонуклеаза не действует на реактивированный вирус.

Суспензии тканей крольчат и культуры растущих клеток почек телят, содержащие вирус ящура, полностью инактивировали при $+60^{\circ}$ в течение 40 мин., а затем подвергали действию ультразвука ($6 \cdot 10^{11}$ эрг/см²) и электрического поля ультравысокой частоты в течение 1 часа. Вирус в препаратах, подвергнутых действию УВЧ, частично реактивировался как непосредственно после инактивации, так и через 3—6 дней хранения при $+2-4^{\circ}$. Ультразвук не оказывал реактивирующего действия.

Полученные в наших опытах данные могут иметь эпидемиологическое и эпизоотологическое значение, а также раскрывают некоторые закономерности природы и устойчивости вирусов во внешней среде.

ХИМИЧЕСКАЯ ИНАКТИВАЦИЯ ВИРУСОВ ИЗ ГРУППЫ КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА

Б. Ф. Семенов, П. С. Карасева

(Московский научно-исследовательский институт
вирусных препаратов)

Авторы изучали особенности действия формалина и бетапропиолактона (БПЛ) на инфекционные, гемагглютинирующие и комплементсвязывающие свойства, а также на антигенность и иммуногенность вирусов из группы клещевого энцефалита.

Показано, что формалин полностью инактивирует инфекционность и способность вируса агглютинировать эритроциты в течение 24—120 час. (скорость инактивации зависит от дозы препарата и температурных условий). Обработанные формалином вирусосодержащие суспензии были малоактивны в реакции связывания комплемента. В то же время эти суспензии вызывали формирование антигемагглютининов и различных видов вируснейтрализующих антител у лабораторных животных и у людей.

Иммуногенная активность инактивированного вируса сохраняется только в тех случаях, когда в суспензии находится свободный формалин. После нейтрализации формалина бисульфитом вакцины теряли свою активность в течение 1—2 месяцев.

Под влиянием формалина происходит образование комплексов вируса с тканевыми фрагментами. Эти комплексы выпадают в осадок под влиянием протаминсульфата.

БПЛ разрушает все свойства вируса. Однако скорость инактивации неодинакова: сначала разрушается инфекционность, затем иммуногенность, способность агглютинировать эритроциты и, наконец, комплементсвязывающая активность. При правильном выборе дозы препарата и температурных условий, с одной стороны, и своевременном прекращении действия БПЛ, с другой, можно получать неинфекционные препараты, обладающие всеми интересующими экспериментатора свойствами. Иммуногенная активность инактивированных БПЛ суспензий вируса разрушается в течение 2 месяцев. В присутствии протаминсульфата все свойства инактивированных препаратов, в том числе и иммуногенность, остаются без изменений на протяжении года.

ПЛАСТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА МЕЛЬЧАЙШИХ ОРГАНИЗМОВ НА ПРИМЕРЕ ВИРУСА ЯЩУРА

Е. В. Андреев, И. Е. Толстяк, М. Д. Бакуменко

(Украинский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии)

Давно известно, что интенсивность размножения вирусов зависит от физиологического состояния организма и тесно связана со структурой и общим метаболизмом клеток.

Наши исследования показали, что такие биологические свойства вируса ящура, как иммуногенность и антигенность, зависят не только от уровня окислительно-восстановительных процессов в клетках, но и от вида ткани, в клетках которой размножается вирус.

У тр
«Бобрск
дальней
возраста
возрелос
эпители:
этиотроп
ные сво

Виру
ные ово
ка 10⁻⁶.

свойств

По

этих се

«недозр

ны, из

ным м

альным

выхода

прониц

эпител

му воз

По

го де

(Allen

odgroo

ров (

тель

ние

разд

посл

В

о по

посл

И

щей

инактивирует инфекцию эритроциты в и зависит от дозы аботанные формали-оактивны в реакции эти суспензии вызы-и различных видов рных животных и у

ниного вируса сохра-изии находится сво-ормалина бисульфид-чение 1—2 месяцев. бразование комплек-комплексы выпадают

днако скорость инакт-гся инфекционность, ицировать эритроци-ктивность. При пра-ературных условий, кращении действия ционные препараты, ериментатора свой-рованных БПЛ сус-яцев. В присутствии ованных препаратов, из изменений на про-

У трех штаммов вируса типов О (штамм «Таласский» и Бобрский») и А (штамм «Сербка») в процессе адаптации и дальнейшего непрерывного пассирования на мышах разного возраста (с 3-дневного с постепенным повышением до половозрелости) установили, что с переменой «гнездовья» вируса в эпителиальных клетках на мышечные изменились не только тротропность локализации, но также антигенные и иммуногенные свойства.

Вирус ящура, в результате пассажей приобретший мнотропные свойства, несмотря на высокий инфекционный титр (порядка 10^6 — 10^7), обладал низкими антигенными и иммуногенными свойствами.

По нашему мнению, основной причиной резкого изменения этих свойств послужило массовое образование неполноценных «недозрелых» вирусных единиц, обусловленное, с одной стороны, изменением обменного процесса в связи с более интенсивным метаболизмом мышечных клеток по сравнению с эпителиальными, а с другой, более благоприятными возможностями для выхода вируса из клетки после формирования из-за большей проницаемости сарколеммы в сравнении с оболочкой клеток эпителия и, наоборот, меньшей устойчивостью ее к механическому воздействию.

ИЗМЕНЕНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ ВИРУСОВ ПОД ВЛИЯНИЕМ «УМЕРЕННОГО» НАГРЕВАНИЯ

Е. Е. Никитин, В. Н. Сюрик

(Институт ветеринарной вирусологии, Москва)

Повышение теплоустойчивости в результате предварительного действия положительной температуры наблюдали Аллен (Allen, 1950) у термофильных микроорганизмов, Вудруф (Woodroffe, 1960) у вируса оспы, Д. Н. Насонов и В. Я. Александров (1940), В. Я. Александров (1956), Шляхтер (1959) у растительных и животных клеток. Цитологи рассматривают это явление с точки зрения «денатурационной теории повреждения и раздражения», объясняя повышенную резистентность клеток после тепловой «закалки» состоянием парабриоза клетки.

В настоящей работе приводятся экспериментальные данные о повышении термоустойчивости вирусов ящура и чумы свиней после предварительного их прогревания.

Испытуемый материал — суспензии кроличьей ткани, растущей эпителиальной ткани, содержащие вирус ящура типа «А».

ИХ ОРГАНИЗМОВ РА

Бакуменко
(ментальной ветеринарии)

измножения вирусов анизма и тесно свя-клеток.

биологические свой-нтигенность, зависят вительных процессов торой размножается

и
и
ого
ло-
в
ко
ен-

оп-
яд-
ими

ния
ых
ро-
ли-
для
пей
ток
ко-

льно-
ллен
(Wo-
санд-
асти-
звле-
ния и
еток

нные
иней

асту-
«А»

69

и кровь больных чумой свиней. Материал сохраняли в условиях $+4 +5^{\circ}$ в течение 10—14 дней, высушивали методом лиофилизации и распыления при разных температурах. Образцы сухого содержащего вирус материала прогревали при $+60^{\circ}$ в течение часа. Термоустойчивость их определяли, прогревая при 100° в течение часа и исследуя отдельные пробы в процессе прогревания через каждые 15 мин.

Образцы содержащего вирус жидкого материала прогревали при 60° в течение часа, определяя их биологическую активность аналогичным методом через каждые 10 мин.

Вирус ящура титровали на мышцах-сосунках недельного возраста, а вирус чумы свиней — на подсосунках весом 25—40 кг. Вычисление титра производили по Риду и Менчу, достоверность различия сопоставляемых величин находили по таблице Стьюдента-Фишера.

Свежеприготовленные суспензии, содержащие вирусы ящура и чумы свиней, а также суспензии, но предварительно выдержанные при $+4 +5^{\circ}$ и в замороженном при -30° состоянии, одновременно подвергали воздействию температурой $+60^{\circ}$ и через каждые 10 мин. проверяли степень снижения их биологической активности.

Свежеприготовленные суспензии, как и суспензии, хранившиеся при температуре -30° , уже через 20—30 мин. воздействия температурой 60° полностью инактивировались, тогда как образцы, предварительно хранившиеся при $+4 +5^{\circ}$, сохраняли частично активность после 40 (вирус ящура) и 60 (вирус чумы) мин. прогревания в тех же условиях.

Лиофилизированные с конечным подогревом $+37^{\circ}$ и высушенные распылением при температуре подаваемого воздуха $+120^{\circ}$ вирусы подвергали действию температуры $+100^{\circ}$ С. Все образцы лиофилизированных вирусов, как правило, инактивировались в течение 40—50 мин., между тем как вирусосодержащий материал, высушенный распылением, сохранял частичную активность после 60 мин. прогревания.

Далее были изучены: 1) влияние четырех режимов подогрева материала (25, 37, 45 и 60° С) в процессе лиофильного высушивания на последующую устойчивость сухих вирусов к температуре $+100^{\circ}$ и 2) влияние трех режимов подогрева подаваемого воздуха (100, 120 и 140°) в процессе высушивания аналогичного материала методом распыления на последующую устойчивость сухого вируса к температуре 100° .

В результате установлено, что вирусы, лиофилизированные с использованием температуры нагрева до $+25$ и $+37^{\circ}$, а также высушенные распылением с подогревом подаваемого воздуха до $+100^{\circ}$, полностью инактивировались в течение 40—50 мин. при 100° . Однако те же препараты, высушенные при более «жест-

к
г
с
т
л

храняли в условиях
методом лиофили-
зации. Образцы сухого
при +60° в течение
нагрева при 100° в
процессе прогрева-

териала прогревали
биологическую активность

в течение недельного воз-
вешом 25—40 кг.
нчу, достоверность
по таблице Стью-

ние вирусы ящура
зарительно выдер-
т —30° состоянии,
ературой +60° и
чения их биологи-

в суспензии, храняв-
1) мин. воздействия
ь, тогда как об-
4 +5°, сохраняли
(60 (вирус чумы)

ом +37° и высу-
ваемого воздуха
ры +100°С. Все
авило, инактиви-
как вируссодержа-
ранял частичною

жимов подогреть
ильного высуши-
вирусов к темпера-
рева подаваемого
ния аналогичного
ую устойчивость

лиофилизированные
и +37°, а также
емого воздуха до
40—50 мин. при
ри более «жест-

ких» режимах, сохраняли частично инфекционные свойства
после 60 мин. воздействия той же температурой.

Часть лиофилизированных с конечным подогревом до +37°
образцов, содержащих вирусы чумы свиней и ящура, прогрева-
ли при 40, 50 и 60° в течение часа, затем прогретые и непрогретые
сухие образцы одновременно подвергали действию температу-
ры +100°. В результате прогретые при 40 и 50° и непрогретые
образцы уже через 40—50 мин. полностью инактивировали-
сь в условиях нагрева при 100°, в то время как предвари-
тельно прогретые при 60° образцы оказались частично актив-
ными после часового воздействия температурой 100°С.

Содержащие вирус ящура суспензии тканей крольчат и ра-
стущих эпителиальных клеток почек крупного рогатого скота
хранили при +4 +5° и при —30°. Свежеприготовленные су-
спензии и суспензии, хранившиеся в течение 20—30 дней в ука-
занных выше условиях, подвергали действию кислой среды
(рН 5,0) и часовому облучению лампой БУВ-30 на расстоянии
50 см. В результате установлено, что вирус в свежеприготов-
ленных суспензиях и в суспензиях, хранившихся при —30, пол-
ностью инактивировался при рН 5,0 в течение 30—60 мин. и при
часовом облучении лампой БУВ-30. В тех же суспензиях, хра-
нившихся при +4 и +5°, вирус частично сохранялся после
60-мин. пребывания в среде с рН 5,0 и 90-мин. облучения лам-
пой БУВ-30. Аналогичное повышение устойчивости у вируса
ящура отмечено нами также после многократного заморажива-
ния и размораживания.

Приведенные данные свидетельствуют о наличии у вирусов
защитных механизмов, которые способны включаться при пред-
варительном действии «умеренного» нагревания. «Умеренное»
нагревание является неспецифическим фактором, повышающим
устойчивость вирусов не только к высокой температуре, но и к
другим неблагоприятным для вирусов воздействиям.

ГЕМАГГЛЮТИНИРУЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ ВИРУСОВ ИЗ ГРУППЫ КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА КАК ШТАММОВЫЙ ПРИЗНАК И ФУНКЦИЯ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ

Б. Ф. Семенов, А. И. Резцова

(Московский научно-исследовательский институт вирусных препаратов)

Изучена гемагглютинирующая активность вирусов из группы
вирусов клещевого энцефалита, выделенных на Дальнем Восто-
ке, в Западной Сибири, на Урале, в Северо-Западных районах

ва

37°

за-

ре-

пе-

ро-

ва-

ри:

ив

ра-

эга

ус-

ка-

ды

ни

ов-

ол-

три

ра-

сле

ам-

уса

ива-

сов

ед-

ое»

дим

и к

ппы

сто-

онах

71

СССР и в Чехословакии. Источником выделения служили клетки *Ixodes ricinus* и *I. persulcatus*, кровь больных или органы трупов людей.

Показано, что гемагглютинирующие свойства вирусов, размножающихся в мозгу мышей, не зависят от числа предшествовавших пассажей. Количественная характеристика признака постоянна для каждого штамма.

Отмечено различие в гемагглютинирующей активности штаммов при размножении в однослойных культурах куриных фибробластов (КФ) или клетках почечного эпителия эмбрионов свиней (ПЭС). Для большинства штаммов ПЭС оказались наиболее благоприятной средой формирования вирусных частиц, обладающих способностью агглютинировать эритроциты. Вместе с тем при работе с некоторыми штаммами (например, Красноярск 2) лучшие результаты были получены в опытах с культурами КФ.

У всех штаммов образование гемагглютининов отмечали только до третьего пассажа. Исключение составил штамм Софийн (штамм которых поддерживают на мышцах более 20 лет). После 22 пассажей в клетках ПЭС его гемагглютинирующая активность оставалась неизменной.

Изменение условий культивирования клеток влечет за собой изменения гемагглютинирующей активности вирусов, размножающихся в этих клетках. В клетках КФ, переживающих во взвешенном состоянии, титры гемагглютининов в 8—16 раз выше, чем в жидкой фазе однослойных культур. В перевиваемых клетках почечного эпителия эмбриона человека не происходит формирование вирусных частиц с гемагглютинирующими свойствами, хотя в первичных культурах синтезируется вирус с указанными свойствами.

Приводятся результаты опытов, которые показывают, что длительное пассирование через клетки куриных фибробластов, в которых формируется вирус без гемагглютининов, не сопровождается стойкой утратой этого признака. При адаптации к благоприятным условиям (в наших опытах к мозгу мышей) вновь начинается воспроизведение вирусных частиц, способных агглютинировать эритроциты.

На основании изложенного обсуждается вопрос о возможности использовать гемагглютинирующие свойства в качестве маркера при проведении ряда экспериментальных исследований.

72

ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНИЗМОВ НАСЛЕДСТВЕННОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ ВИРУСА ПОЛИОМИЕЛИТА В ПРОЦЕССЕ ПАССАЖЕЙ В КУЛЬТУРЕ ТКАНИ ПРИ ПОНИЖЕННОЙ ТЕМПЕРАТУРЕ

А. Т. Марченко, Ю. З. Гендон

(Московский научно-исследовательский институт вирусных препаратов)

1. В последнее время появились работы, в которых показано, что пассажи некоторых вирусов при низкой температуре приводят к изменению ряда наследственных свойств вируса. Однако механизмы такого рода изменчивости практически не изучались. В настоящей работе исследовали изменения наследственных свойств и механизмов этой изменчивости на модели вируса полиомиелита. Опыты проводили с тщательно клонированными штаммами вируса полиомиелита 1-го типа (штамм Mahoney) и 2-го типа (штаммы МЕГ₁ и Дем.), обладавшими комплексом генетических признаков, характерных для вирулентных вирусов (MN₄₊, S₊, d₊, gct₄₀₊, gct₃₆₊, gct₃₀₊, gct₂₅₋, тип 1 — MN₋, тип 2 — mN₊, gct₂₃₋).

2. Пассажи вируса в культуре ткани обезьяньей почки при 30° (20 пассажей) практически не изменили наследственных свойств вируса, за исключением gct₂₅-признака: после пяти пассажей вирус приобрел способность размножаться при 25°.

Изменения наследственных свойств у изученных штаммов в процессе пассажей при 25° оказались неодинаковыми. Так, пассажи при 25° штамма Mahoney привели к изменению многих генетических признаков, характерных для вирулентного вируса, включая патогенность для обезьян (MN₋, gct₄₀₋, S₋, d₋). Штамм МЕГ₁ изменил S-признак (S₋), утерю способность размножаться при 40° (gct₄₀), существенно снизил патогенность для мышей (mN_±), однако неклонированная популяция, прошедшая 10 пассажей при 25°, сохранила патогенность для обезьян. Дальнейшие пассажи штамма МЕГ₁ при 23° привели к практически полной потере патогенности вируса для мышей, полной утрате способности вируса образовывать бляшки на культуре ткани под агаром как при температуре 23°, так и при 36°. С другой стороны, штамм ДЕМ даже после 20 пассажей при 25° сохранил неизменными все исходные генетические признаки.

В контрольных опытах 30 пассажей штаммов вируса полиомиелита при 36° не изменили ни одного из изученных свойств вируса.

3. Клональный анализ популяции вируса полиомиелита, проведенный на отдельных пассажах у штаммов, изменивших наследственные свойства, показал, что изменения свойств происходят ступенчато. В первых пассажах обнаруживаются частицы вируса, изменившие какой-либо один генетический признак; с

ОСТИ

РЕ

в)

казано,
приво-
Однако
учались,
твенных
уса по-
анними
апопуе)
плексом
вирусов
тип 2 —

чки при
твенных
яти пас-
5°.

аммов в
Гак, пас-
многих
го виру-
S., d-).
ость раз-
огенность
ция, про-
ля обезь-
ривели к
мышей,
яшки на
так и при
ажей при
признаки.
уса поли-
их свойств

лита, про-
ивших на-
в происхо-
я частицы
признак; с

73

увеличением числа пассажей в популяции выявляются частицы, изменившие два и более генетических признака, причем количество таких частиц постоянно возрастает. После достаточного числа пассажей у подавляющего большинства частиц вируса наблюдается изменение многих генетических признаков. Однако даже после большого числа пассажей в вирусной популяции, изменившей наследственные свойства, обнаруживаются единичные частицы, сохранившие неизменными некоторые или даже все изученные генетические признаки.

Проведенные исследования показали, что изменения наследственных свойств в процессе пассажей в культуре ткани при пониженной температуре наблюдались только при использовании массивной инфизирующей дозы; пассажи конечными разведениями вируса не изменяли наследственных свойств популяции.

4. Полученные данные позволяют считать, что в основе механизма наследственной изменчивости вируса полиомиелита в процессе пассажей в культуре ткани при пониженной температуре лежат ступенчатые мутации, индуцированные измененными условиями внешней среды, с последующей селекцией частиц вируса, свойства которых оказались наиболее адекватными измененным условиям. Изменения наследственных свойств вируса полиомиелита в процессе пассажей в культуре ткани при пониженной температуре зависят не только от условий пассажа, но также от свойств (стабильности наследственных признаков) штамма вируса.

ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ВИРУСА ГРИППА ПРИ ВЫЯВЛЕННОЙ И ЛАТЕНТНОЙ ИНФЕКЦИИ

Н. П. Корнюшенко Е. В. Сидоренко

(Кафедра вирусологии Киевского государственного университета)

В работе изучены развитие и биологические свойства вируса гриппа в условиях культивирования его в организме животных с различной чувствительностью к гриппозной инфекции при выявленном и латентном течении ее.

В опытах использованы белые мыши и африканские хорьки, как организмы, чувствительные к гриппу и дающие характерные проявления инфекции, и животных с естественной низкой восприимчивостью, у которых заражение не сопровождается явным заболеванием, но вирус может находиться в латентном состоянии. Аналогичные наблюдения проведены на вакцинированных мышах с различной напряженностью специфического иммунитета.

74

ются частицы, причем количество достаточного количества частиц вируса. Одной популяцией обнаруживаются которые или

наследия при использовании разведенных популяций. основе метода мембранной фильтрации с изменением температуры при пассаже, но признаков)

В результате проведенных исследований показано, что характер и биологические свойства вирусных частиц имеют определенные различия в зависимости от способности чувствительных клеток обеспечивать условия репродукции в них вируса.

В системе чувствительных к вирусу клеток у животных с пониженной восприимчивостью к данной инфекции (так называемых естественно резистентных или иммунизированных) обычный цикл развития вируса нарушается: при первичном заражении и в первых пассажах вирус обычными вирусологическими методами не выявляется. Однако в цитоплазме при этом отмечается увеличение содержания РНК (в виде мелкой диффузной пыли). В дальнейших опытах, при адаптации вируса, РНК формируется в более четкие гранулы, характеризующие вирусные тельца-включения, хотя и здесь вирусологическими методами вирус может еще не выявляться, а обнаруживаться серологическими и иммуногистохимическими методами. Лишь после так называемых слепых пассажей в ряде случаев удается получить вирус, обладающий способностью приживания к клеткам хориоаллантоисной оболочки куриного эмбриона.

Биологические свойства вируса на различных этапах его адаптации претерпевают изменения как в структуре, так и в функциях.

На некоторых этапах развития у вируса обнаруживаются необычно высокие титры гемагглютининов при низкой патогенности для чувствительных животных. При этом в препаратах, исследуемых при помощи электронной микроскопии, отмечается полиморфизм вирусных частиц, в частности появляются крупные лепешкообразные частицы с диаметром 160—200 мк и, наряду с этим, большое количество мелких субъединиц диаметром 30—40 мк.

Можно предположить, что мелкие субъединицы (образующиеся, по-видимому, при дезинтеграции вируса в процессе адаптации его к малочувствительному организму) являются гемагглютинидами, что сочетается с высоким титром гемагглютинации в этом состоянии вируса.

Изменения ферментативных свойств характеризуются повышением avidности этих вариантов к антителам и неспецифическим ингибиторам сывороток некоторых животных, а также в появлении способности агглютинировать эритроциты животных, обычно не реагирующих с вирусом гриппа (эритроциты барана, кролика). В отдельных случаях появлялась способность гемолизировать эритроциты белых крыс и кролика.

Своеобразие иммуногенных свойств адаптированных вариантов вируса проявлялось в выработке антител, чувствительных к температурному фактору и мало стойких при хранении.

иппа

за вируса животных при

е хорьки, характерной низкой является являющимся в экспериментальном цитонированном химического

о ха-
от оп-
встви-
их ви-

с по-
ывае-
лчный
жени
и ме-
екает
узной
РНК
вирус-
мето-
серо-
после
я по-
клет-

х его
к и в

аются
пато-
пара-
отме-
аются
Ю тп
диа-

азую-
адап-
гемаг-
люти-

повы-
фиче-
же в
кивот-
оциты
пособ-

вари-
льных
и.

75

Известные отличия отмечены также при изучении токсичности и патогенности вариантов вируса, полученных на различных этапах его адаптации.

Изучение структуры и функции вируса гриппа в процессе его адаптации к организмам с пониженной чувствительностью к данной инфекции показало, что изменения характера развития и состояния вирусных частиц претерпевают определенные фазы, обусловленные как характером метаболизма восприимчивых клеток хозяина, так и приспособительными механизмами самой вирусной частицы.

СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ ОБ АНАТОМИИ ВИРУСОВ КАК РАЗВИТИЕ ИДЕЙ Д. И. ИВАНОВСКОГО О ИХ КОРПУСКУЛЯРНОСТИ

А. А. Авакян, А. Ф. Быковский

(Институт эпидемиологии и микробиологии им. Н. Ф. Гамалеи АМН СССР)

Дмитрий Иосифович Ивановский в 1892 году опубликовал работу «О двух болезнях табака», в которой впервые привел неоспоримые доказательства существования фильтрующихся патогенных микроорганизмов. Серией оригинальных опытов Ивановский установил также корпускулярность этих организмов. Учитывая, что всему живому в природе присуща значительная сложность организации, Ивановский страстно отстаивает во всех своих последующих исследованиях, а также многочисленной полемике (в частности с Бейеринком) идею о их корпускулярности открытых им вирусов. Не следует забывать, что именно во имя идеи о живой природе вирусов (и лишь поэтому!) Ивановский отказывается во всех своих работах (за одним исключением) даже от термина «вирус», который по его представлениям мало соответствовал тому содержанию, которое он в него вкладывал.

Многочисленные исследования последних 10—15 лет подтвердили и развили идеи Ивановского о сложности организации вирусов. Применение рентгеноструктурного анализа и электронной микроскопии позволило не только детально описать поверхностные структуры вируса, но и детально изучить его внутреннее строение. Возникло учение об анатомии вирусов. В настоящее время удалось выявить четкие дифференцирующие анатомические признаки не только между отдельными группами вирусов, но и даже между некоторыми видами их. В будущем несомненно дифференцировку по анатомическим

76

чении токсичных на различия в процессе гвительностью актера развития определенных восприимчивости механизма

ВИРУСОВ

О

(МН СССР)

оду опубликовать впервые при- ильтрующихся опытов в этих ор- де присуща кий страст- едованиях, а Бейеринком) . Не следует юде вирусом о всех сво- ина «вирус», зал тому со-

15 лет под- ности орга- о анализа и тально опи- ьно изучить томии виру- дифференци- / отдельны- / видами их. атомическим

признакам можно будет проводить (разумеется на молекулярном и субмолекулярном уровне) не только между видами, но и отдельными штаммами одного и того же вируса.

Несмотря на значительное разнообразие строения различных представителей «царства вирусов» выявлены общие принципы их организации, которые присущи вирусам бактерий, животных и растений. Центр зрелого вируса — «вириона» (Львов), «вироспоры» (Рыжков) занимает «вирионуклеон» (по терминологии Н. А. Зейтленка) — Д — вирионуклеон (содержащий молекулу ДНК) или Р — вирионуклеон (РНК). Вирионуклеон окружает белковая оболочка (капсид), которую совместно с нуклеиновой кислотой называют нуклеокапсидом (Каспар, Дульбекко и др.). Капсид построен из отдельных структурных единиц, которые могут образовывать симметричные группы — морфологические субъединицы — капсомеры (Львов). По-видимому, структура отдельных капсомеров разных вирусов не одинакова.

Одним из важнейших вопросов современной вирусологии является изучение процесса формирования структуры вируса в ходе его онтогенеза (морфогенеза). Для ряда вирусов (группы оспы, герпеса, аденовирусов и др.) выявлена определенная последовательность изменения структуры «созревающего» вируса. Онтогенез некоторых вирусов, вироспоры которых содержат ДНК, удалось разделить на ряд периодов («бесполостный», «открытополостный», «однополостный» и т. д.): Подобная дифференцировка позволила не только более детально проанализировать изменение отдельных вирусных структур, но и показать, что некоторые биологические далеко отстоящие друг от друга вирусы (например, вирус оспы человека и аденовирусы) в своем онтогенезе проходят морфологически сходные стадии. Это дает право предположить, что биогенетический закон Мюллера и Геккеля применим не только к высокоорганизованным живым существам, но и к вирусам.

По-видимому, в настоящее время наши представления об анатомии вирусов будут не полными, если мы не введем понятие о теле вируса, как системе динамически функционирующих структур.

Результаты этих исследований имеют важное значение для подтверждения идей нашего славного соотечественника Д. И. Ивановского о живой природе вирусов.

лекуляр-
ми, по и

азличных
ринципы
ивотных
ов), «ви-
инологии
молекулу
окружает
ленной
о и др.).
которые
гические
руктура

усологии
и вируса
ов (груп-
деленная
его» ви-
их содер-
юстный»,
ная диф-
анализи-
токазать,
от друга
в своем
Это дает
ллера и
и живым

ения об
ем поня-
ающих

ение для
твенника

СОДЕРЖАНИЕ

В. Т. Рыжков, Д. П. Ивановский в кругу своих современников 3
В. М. Жданов. Вирусы, медицина и биология 5
К. С. Сухов. О развитии фитопатологической вирусологии в СССР 7

МЕСТО ВИРУСОВ В ПРИРОДЕ

Л. А. Зильбер. «Неинфекционные» вирусы 8
Л. М. Блэк. Размышления о происхождении и природе вирусов на ос-
новании тех из них, которые размножаются в насекомых и расте-
ниях 9
В. Т. Рыжков. О симбиозе на молекулярном уровне 12
К. Маромарош. Вирусы двух хозяев — растений и членистоногих и их
отношение к учению о происхождении вирусов 15
Х. Ж. Жуматов. Некоторые методологические вопросы трактовки при-
роды вирусов 16
А. Е. Проценко. О сапрофитных (свободно живущих) вирусах 18
Ю. И. Власов. Роль условий жизни растений в эволюции фитопатоген-
ных вирусов 20
С. Я. Гайдамович, В. М. Жданов. Современные подходы к классифи-
кации вирусов 23

МЕХАНИЗМ РЕПРОДУКЦИИ ВИРУСОВ

В. М. Жданов. О механизмах репродукции вирусов животных 25
Г. Кохран. Синтез вируса мозаики табака в бесклеточной среде 28
А. Г. Букринская, Н. Б. Азадова, А. К. Гительман, Г. К. Воркунова.
Некоторые закономерности репродукции РНК микровирусов 30
В. И. Агол, Г. А. Ширман. Об одном типе взаимодействия вирусов в
клетке 32
И. Г. Баландин, Э. Б. Хорошутина и В. С. Тонгур. Синтез РНК вируса
табачной мозаики in vitro 33
Б. С. Дискина, А. В. Михеева, А. А. Кияшко, О. Н. Агеева. Биосинтез
белка и нуклеиновых кислот в нефракционированных гомогенатах
разрушенных клеток, инкубируемых с нуклеиновыми компонента-
ми вирусов полиомиелита и аденовируса 34
А. Т. Кравченко, А. Д. Альштейн, Е. С. Воронин. Интерференция между
вирусами группа и саркомы Рауса in vivo 35

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ВИРУСОВ С КЛЕТКОЙ

<i>М. И. Гольдин.</i> Физическое действие вирусов	38
<i>Т. Хирай, Т. Тидомура.</i> Бластицидин S — эффективный антибиотик против репродукции вирусов растений	39
<i>И. Стеопое, А. Сэвулеску, П. Плойе.</i> Изменения в структуре клеточного ядра гусениц <i>Stilpnotia salicis</i> L. больных полиедрозом	40
<i>С. Я. Залкинд, И. А. Поберий, Н. В. Борисоглебская, Л. П. Изакова, Т. И. Тихомирова, Н. Н. Богомолова.</i> Цитохимическое и автордиографическое изучение инфицированной вирусами клетки	41
<i>Г. М. Раздзякый, Н. Д. Шаскольская, Г. П. Благодателева.</i> Патологическое действие вирусов группы желтух на растения и насекомое — переносчика	42
<i>К. Спис.</i> Механизм самоингибирования нового рода вирусов	43
<i>Б. А. Ерман, А. Е. Эссель, Е. Ю. Броницкая, С. Б. Шубина, А. Т. Мясникова.</i> Цитофотометрическое определение содержания РНК в клетках Нер-2, зараженных РНК-содержащим вирусом	43
<i>Д. Б. Голубев.</i> Некоторые ферментативные механизмы внутриклеточного биосинтеза вирусов	45
<i>Ю. А. Барштейн.</i> Изучение мнотропности вирусов Коксаки методом люминесцирующих антител	46
<i>А. Е. Эссель.</i> Некоторые общие закономерности потребления кислорода для вирусно-бактериальных адсорбционных комплексов, систем фаг-бактерия и вирус-клетка	49
<i>Н. А. Зейтленок, Ф. Н. Рейзин, В. М. Ройхель, М. М. Гольдфарб.</i> Физиология взаимодействия ЕСНО-вирусов с биологическими субстратами, физиологическая роль SH-групп вирусов	51
<i>К. Г. Керимзаде, Л. И. Алекперова.</i> Некоторые данные о природе штамма вируса «Баки-7с», выделенного из сыворотки больных инфекционным гепатитом людей	53

БИОХИМИЯ ВИРУСОВ И ВИРУСНЫХ БОЛЕЗНЕЙ

<i>Л. М. Тарасевич, Е. Ф. Уланова, Н. Г. Шведчикова.</i> О роли полиэдров, содержащих ДНК-вирус	56
<i>И. Г. Атабеков, А. С. Каштанова, Н. А. Киселев, В. К. Новиков и Г. А. Попова.</i> Структура антигенов и нуклеопротеидов некоторых вирусов злаков	57
<i>Н. Г. Шведчикова, Л. М. Тарасевич.</i> О нуклеиновых кислотах изолированных грауул при гранулезе сибирского шелкопряда	59
<i>И. Е. Эльпигер, А. Д. Шебалдика, Ф. И. Брагинская.</i> Влияние ультразвуковых волн на фотодинамический эффект и метахроматическую реакцию вируса табачной мозаики	59
<i>В. Ешану.</i> Исследования по метаболизму фосфора в растениях табака, пораженных ВМТ	60

ков 3
 5
 СССР 7
 8
 ов на ос-
 и расте-
 9
 12
 их и их
 15
 ки при-
 16
 18
 татоген-
 20
 ассифи-
 23
 25
 28
 сунова.
 30
 усов в
 32
 вируса
 33
 синтез
 натах
 нента-
 34
 тежду
 35

- 38 П. Плайз. Очистка вируса пожелтения свеклы для электронно-микро-
скопических исследований 60
- 39 С. Н. Московец, Ю. М. Шелудько. К вопросу о природе розеточности
яблони 60
- 40 А. Д. Бобьрь. Ингибиторы фитопатогенных вирусов и пути их исполь-
зования 62

ВЛИЯНИЕ ВНЕШНИХ УСЛОВИЙ И ИЗМЕНЧИВОСТЬ ВИРУСОВ

- 41 Ю. З. Гендон. Изучение инактивирующего и мутагенного действия
гидроксиламина на вирус полиомиелита 63
- 42 Х. А. Розентай. Действие 5-бромурцила и 5-фтороурцила на индук-
цию вируса лизогенного, лишённого тимина мутанта *E. coli* при
43 ультрафиолетовом свете 65
- 43 Е. Е. Никитин, В. Н. Сюрин. К вопросу реактивации вируса ящура и
роли белковой оболочки в этом процессе 65
- 45 Б. Ф. Семенов, П. С. Карасева. Химическая инактивация вирусов из
46 группы клещевого энцефалита 67
- Е. В. Андреев, И. Е. Толстяк, М. Д. Бакуменко. Пластические свойства
мельчайших организмов на примере вируса ящура 68
- 48 Е. Е. Никитин, В. Н. Сюрин. Изменение устойчивости вирусов под влия-
нием «умеренного» нагревания 69
- 49 Б. Ф. Семенов, А. И. Резепова. Гемагглютинирующая активность виру-
сов из группы клещевого энцефалита как штаммовый признак и
функция условий культивирования 71
- 51 А. Т. Марченко, Ю. З. Гендон. Изучение механизмов наследственной
изменчивости вируса полиомиелита в процессе пассажей в культуре
53 тканей при пониженной температуре 73
- Н. П. Корнюшенко и Е. В. Сидоренко. Изучение биологических свойств
вируса гриппа при выявленной и латентной инфекции 74
- 56 А. А. Авакян, А. Ф. Быковский. Современные представления об анато-
мии вирусов как развитие идей Д. И. Ивановского о их корпу-
скулярности 76

Тезисы докладов о природе вирусов к конференции, посвященной 100-летию со дня рождения Д. И. Ивановского

Утверждено к печати Академией медицинских наук СССР

Технический редактор Ю. В. Рылина.

59 Сдано в набор 27/VIII 1964 г. Подписано к печати 21/IX 1964 г. Формат 60×90^{1/16}.
Печ. л. 5. Уч.-изд. л. 4,6. Тираж 650 экз.
60 Г. 13844. Изд. № 3640. Удп. зак. № 5320.

Бесплатно.

Издательство «Наука», Москва, К-62, Подсосенский пер., 21
2-я типография издательства «Наука», Москва, Г-99, Шубинский пер., 10

George W. Cochran

АКАДЕМИЯ МЕДИЦИНСКИХ НАУК СССР
ИНСТИТУТ ВИРУСОЛОГИИ имени Д. И. ИВАНОВСКОГО

**МАТЕРИАЛЫ XVII СЕССИИ
ИНСТИТУТА ВИРУСОЛОГИИ
ЧАСТЬ I**

Москва — 1964

АКАДЕМИЯ МЕДИЦИНСКИХ НАУК СССР
ИНСТИТУТ ВИРУСОЛОГИИ ИМЕНИ Д. И. ИВАНОВСКОГО

ОБЩАЯ ВИРУСОЛОГИЯ
(физиология, биохимия, генетика, иммунитет,
эпидемиология, диагностика, клиника)

Материалы
XVII научной сессии Института вирусологии
им. Д. И. Ивановского АМН СССР
октябрь 1964 г.

ЧАСТЬ I

Москва — 1964

**ЭЛЕКТРОННОМИКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ СИНТЕЗА
ВИРУСНЫХ КОМПОНЕНТОВ С ПОМОЩЬЮ АНТИТЕЛ,
МАРКИРОВАННЫХ РТУТЬЮ**

*В. М. ЖДАНОВ, И. Б. АЗАДОВА, А. Я. КУЛЬБЕРГ, Т. С. ТУРОВСКАЯ
(МОСКВА)*

Ранее нами сообщалось о возможности использования антител маркированных ртутноорганическим соединением в электронной микроскопии (Жданов и сотр., 1962; Кульберг и Азадова, 1963).

Предложенный метод позволяет выявить места синтеза вирусных белков в начальной стадии вирусной инфекции, используя для этого антитела, полученные отдельно к компонентам вирусной частицы (Жданов и сотр., 1964). В работе использовали перевиваемую культуру почек свиньи, зараженную массивной дозой вируса Сендай (штамм 960). Исследование проводили в динамике. Использовали S-антитела, очищенные методом моноадсорбента и цельную сыворотку, контрастированные ртутью. Между 3 и 4 часами в ядрышках инфицированной клетки выявляли контрастированные структуры.

К 6 часам после заражения было отмечено формирование синцитиальных полей. В ядрах этих клеток наблюдали четко выраженную дезинтеграцию ядрышка, перераспределение и маргинацию хроматина. В ядрышковых и ядерных структурах, а также на ядерной мембране оседали меченные S-антитела. Через 9 часов на месте ядрышка оставалась запустевшая зона, а хроматин ядра выглядел контрастным. К этому сроку появилось контрастирование и цитоплазматических структур.

К 12 часам выявляли положительную реакцию гемадсорбции, а на клеточной стенке обнаруживали зрелые вирусные частицы.

В качестве контрольных препаратов использовали инфицированную культуру, обработанную нормальной маркированной сывороткой, а также нормальную культуру, обработанную специфической маркированной сывороткой. Во всех случаях просмотра

контрольных препаратов следов контрастирования не было обнаружено.

Проведенные исследования позволяют заключить, что синтез S-антигена вируса Сендай осуществляется в ядрышковых и ядерных структурах клеток с последующим переходом в цитоплазму. Эти данные были подтверждены методом флуоресцирующих антител.

Локализация синтеза V-антигена при использовании очищенных и маркированных V-антител изучается в настоящее время.

К ВОПРОСУ О ПОЛИЦИСТРОННОЙ СТРУКТУРЕ МИКСОВИРУСОВ

В. М. СТАХАНОВА, Е. М. ЖАНТИЕВА
(МОСКВА)

Образование в ранней стадии инфекции клеток РНК-содержащими вирусами белков-репрессоров и полимераз, а также наличие нескольких структурных белков у вирионов более сложных вирусов логически требует признания полицистронной организации вирусной РНК. Исходя из современных представлений о работе генома, неясным, однако, остается порядок работы генома у РНК-содержащих вирусов, т. к. представления о структурных генах, оперонах, операторах и генах-регуляторах сложилось на основе изучения генома бактерий и относится к организации работы ДНК. Нами была предпринята попытка расшифровки механизма работы генома миксовирусов (вирусов истинной и ложной чумы птиц).

При прогревании вирусов при 37°С или при облучении их ультрафиолетовыми лучами происходит одновременная инаktivация его биологических свойств. Было изучено влияние частично инаktivированного вируса (т. е. вируса лишенного способности к репродукции, но сохранившего гемагглютинирующие свойства) на нуклеиновый и белковый обмен инфицированных клеток культуры ткани. В качестве индикатора нуклеинового обмена использовали аденин — С¹⁴, белкового обмена — метионин — S³⁵. Изотопы добавляли за 30 минут до конца срока инкубации зараженных клеток. При инфекции клеток живым вирусом получены кривые синтеза НК с максимумом в 3 часа и синтеза белка с максимумом в 6 часов. При инфекции частично инаktivированным вирусом кривая синтеза НК аналогична кривой, полученной при инфекции живым вирусом. Такая же кривая была получена при использовании препарата РНК, выделенного из инфицированных миксовирусами клеток и растворимого S-антигена вируса гриппа. Кривая синтеза белка при использовании живого вируса резко отличается от кривой, полученной в случае инаktivированного вируса. В первом случае максимум ее подъема наблюдался

к 6 час
чае (и
12 час
тельств
ботке и
шения
повыше
пронхс
Таки
фиолет
ходит
вируса,
Нео
функци
инфор
количес
функци
рующе
может

ОБРАЗ

1
4

При
курины
класси
часы п
мую ф
культу
ление
белков
Снижен
вало ф
жено п
и Сенд
и С¹⁴—
жении
Н³—ур
При
ние Н³-
ткани с
зараже
ядрыши
ковую с

вания не было обнаружено, что синтез в ядрышковых и переходом в цитозольном флуоресцирующем использовании очищенного в настоящее время.

СТРУКТУРЕ

ЭВА

ток РНК-содержащих, а также наличие более сложной структурной организации представлений о работе генома у различных структурных элементов организации расшифровки мессенджерной и лож-

ри облучении их временная инактивация частично (т.е. способности к синтезу) свойства) культуры клеток культуры обмена использовать — S^{35} . Изотопы цинка зараженных получили кривые белка с максимумом при инактивированном вирусе гриппа при инактивированном вирусе гриппа наблюдались

к 6 часам инфекции, минимум — к 12 часам. Во втором же случае (инактивированный вирус) наблюдалось возрастающее к 12 часам инфекции включение метионина — S^{35} , что свидетельствовало о синтезе вещества белковой природы. При обработке инфицированных клеток актиномицином Д/0,1 $\mu\text{g}/\text{мл}$ повышения обмена белка отмечено не было. Возможно, линейное повышение обмена белка в случае инактивированного вируса происходит за счет выработки клетками интерферона.

Таким образом, при прогревании вируса, облучении его ультрафиолетовыми лучами, фенольном способе выделения РНК происходит необратимое разрушение (инактивация) цистрона генома вируса, ответственного за синтез белка.

Неодинаковая чувствительность отдельных биологических функций миксовирусов свидетельствует о том, что генетическая информация, записанная в НК вируса, должна иметь большое количество специфических «локусов», ответственных за отдельные функции. Изучение чувствительности миксовирусов к инактивирующему действию различных физико-химических факторов поможет подойти к расшифровке генома вируса гриппа.

ОБРАЗОВАНИЕ РЕПРЕССОРА СИНТЕЗА КЛЕТочНОЙ РНК В КЛЕТКАХ, ЗАРАЖЕННЫХ МИКСОВИРУСАМИ

А. Г. БУКРИНСКАЯ, А. К. ГИТЕЛЬМАН, Г. К. ВОРКУНОВА
(МОСКВА)

При заражении переживающих хориоаллантоисных оболочек куриных эмбрионов и клеток культуры ткани вирусами PR 8, классической чумы птиц, Сендай и болезни Ньюкастля в первые часы подавлялось включение C^{14} —цитидина в кислотонерастворимую фракцию клеток и H^3 —уридина в ядерные структуры клеток культуры ткани, определяемое методом авторадиографии. Подавление включения предшественников снималось ингибиторами белкового обмена фторфенилаланином (ФФА) и пуромицином. Снижение включения C^{14} —цитидина и H^3 —уридина предшествовало фазе ускоренного включения и было наиболее четко выражено при заражении клеток вирусами классической чумы птиц и Сендай (0—40% радиоактивности контроля для H^3 —уридина и C^{14} —цитидина соответственно) и несколько слабее — при заражении вирусами PR 8 и болезни Ньюкастля (от 20—75% для H^3 —уридина и C^{14} —цитидина соответственно).

При заражении клеток вирусом Сендай подавлялось включение H^3 —уридина в межядрышковую область клеток культуры ткани с последующим интенсивным включением в ядрышки, при заражении вирусом PR 8 подавлялось включено H^3 —уридина в ядрышки с последующим интенсивным включением в межядрышковую область.

Препараты вируса Сендай, очищенные и концентрированные в 10 раз с помощью хроматографии на DEAE — целлюлозе, вызывали более интенсивное подавление включения предшественников и более интенсивное последующее включение их в чувствительные к вирусу клетки культуры ткани. Препараты вируса Сендай, инактивированные сульфатом аммония с последующей очисткой и концентрацией, имеющие высокий титр гемагглютининов и сниженный в 10.000 раз титр инфекционности, вызывали подавление включения предшественников без последующего интенсивного включения их.

При заражении нечувствительных к вирусу ампиотических клеток человека (штамм AI) вирусом Сендай наблюдалось подавление включения C^{14} —цитидина, постепенно усиливающееся в последующие сроки наблюдения (5 часов после заражения). Фаза ускоренного включения в этой культуре не наступала. При добавлении FPA после заражения вирусом снижения скорости включения не обнаруживалось и наблюдалась некоторая стимуляция включения в первые 3 часа после заражения. При добавлении FPA через 2 часа после заражения снижение включения прекращалось, и скорость включения восстанавливалась до контрольного уровня.

Экстракты, полученные из клеток культуры ткани через 1 час после заражения вирусом Сендай, вызывали подавление включения C^{14} —цитидина в интактные клетки на 50% по сравнению с экстрактами, полученными из незараженных клеток. Экстракты, полученные через 2 часа после заражения, вызывали слабое подавление включения (на 10—15%).

В присутствии актиномицина D в концентрации 0,1—2,0 $\mu\text{g}/\text{мл}$ для клеток культуры ткани и 4—8 $\mu\text{g}/\text{мл}$ для хориоаллантоической оболочки фаза подавления включения C^{14} —цитидина в кислоторастворимую фракцию клеток, зараженных всеми четырьмя указанными вирусами, наступала в более ранние сроки после заражения. Соответственно в более ранние сроки наступала фаза ускоренного включения предшественников.

Гистон, выделенный из тимуса телят, вызывал подавление включения C^{14} —цитидина в незараженные куриные фибробласты на 60—80%. При добавлении гистона после заражения вирусом классической чумы птиц подавление включения было более глубоким, чем при действии одного гистона и одного вируса, а фаза ускоренного включения наступала на один час раньше.

Таким образом в клетках в первые часы после заражения миксовирусами происходит образование репрессора синтеза клеточной РНК, определяющее сроки наступления репродукции вирусной РНК. Чувствительность к FIA и пурамицину говорит о белковой природе репрессора. Синергичное с действием вируса действие актиномицина и гистона на подавление синтеза клеточной РНК приводит к тому, что репродукция вирусной РНК наступает в более ранние сроки и протекает более интенсивно. Цистрон молекулы вирусной РНК, регулирующий образование реп-

6

рессора, и факторам вирусной чувствительности факторов

**СРАВНИ
КОМП**

E

Вирус
ми групп
ми для р

Что к
клетках,
щеприя;
живается
вируса N
ления сп
ресцирук

Нами
ленновог
пользуя I

Работ
Вейбрид
ткани эм
лочках ку

Иссле
торадио
в зараже
логически
плазмы I
ный обмен

Метод
поле зар
включени
нению с I

Через
ток и цит

При з
удалось
рованные
ции на бл

При с

е и концентрированные
АЕ — целлюлозе, вызы-
ления предшественников
ение их в чувствитель-
параты вируса Сендай.
последующей очисткой
тр гемагглютининов и
ости, вызывали подав-
следующего интенсив-

вирусу аминокислотных
гдай наблюдалось по-
енно усиливающееся в
осле заражения). Фа-
е не наступала. При
снижения скорости
ась некоторая стиму-
ражения. При добав-
снижение включения
навливалась до конт-

ры ткани через 1 час
подавление включе-
0% по сравнению с
клеток. Экстракты,
вызывали слабое по-

рации 0,1—2,0 $\mu\text{g}/\text{ml}$
я хориоаллантоисной
тидина в кислотне-
семи четырьмя ука-
сроки после зараже-
ступала фаза уско-

ывывал подавление
риные фибробласты
заражения вирусом
ия было более глу-
ного вируса, а фаза
с раньше.

после заражения
ссора синтеза кле-
ия репродукции ви-
мицину говорит о
действием вируса
ие синтеза клеточ-
вирусной РНК на-
ее интенсивно. Ци-
образование реп-

рессора, является более устойчивым к внешним неблагоприятным факторам по сравнению с цистроном, регулирующим образование вирусной РНК-полимеразы, и может функционировать в нечувствительной ткани и при действии на вирус инактивирующих факторов.

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ СИНТЕЗА НУКЛЕИНОВОГО КОМПОНЕНТА ВИРУСОВ ИСТИНОЙ И ЛОЖНОЙ ЧУМЫ ПТИЦ

Е. М. ЖАНТIEВА, Г. А. КЛИСЕНКО, В. М. СТАХАНОВА
(МОСКВА)

Вирусы истинной и ложной чумы птиц, являясь представителями группы миксовирусов, используются многими исследователями для решения вопросов общей вирусологии.

Что касается размножения этих вирусов в чувствительных клетках, то в отношении вируса чумы птиц (FPV) имеется общепринятое мнение о том, что S-антиген этого вируса обнаруживается впервые в ядре зараженной клетки; что же касается вируса NDV, то большинству авторов не удалось отметить появления специфического вирусного антигена в ядре методом флуоресцирующих антител.

Нами была предпринята попытка изучать место синтеза нуклеинового компонента вирусов истинной и ложной чумы птиц, используя радиоактивные вещества.

Работа была проведена на моделях вирусов FPV (штамм Вейбридж) и NDV (штамм 605) и культурах кожно-мышечной ткани эмбриона человека, а также на хориоаллантоисных оболочках куриных эмбрионов.

Исследования проводились в двух направлениях: методом автордиографии изучалось включение меченных предшественников в зараженные клетки и при сочетании биохимических и радиологических методов мы пытались выявить фракции ядер и цитоплазмы инфицированных клеток, в которых наблюдался усиленный обмен использованных нами радиоактивных веществ.

Методом автордиографии было показано, что через 30 минут после заражения клеток вирусом NDV происходит подавление включения уридина- H^3 в ядра инфицированных клеток по сравнению с контролем.

Через 3 часа инфекции интенсивно меняются ядрышки клеток и цитоплазмы.

При заражении клеток вирусом истинной чумы птиц нам не удалось отметить подавления включения уридина- H^3 в инфицированные клетки. Максимум автографов через 2—3 часа инфекции наблюдался в ядре, через 6 часов — в цитоплазме.

При обработке клеток актиномицином Д (0,1 μ на 1 мл сре-

ды) интенсивность включения уридина— H^3 при заражении вирусом NDV почти не менялась, при заражении вирусом FPV включение меченого уридина снижалось, достигая лишь 50% необработанных образцов.

Аналогичные данные были получены с помощью электронной автордиографии. Результаты, полученные нами при использовании этого метода, нашли подтверждение в опытах биохимического фракционирования зараженных клеток и хориоаллантоисных оболочек.

При подкормке зараженных клеток средой, содержащей уридин— C^{14} , через 30—60 мин. после заражения было получено понижение кривой включения специфической радиоактивности в РНК ядра клетки по сравнению с нормой и повышение ее к 3—4 часам.

Интересно, что включение уридина— C^{14} в РНК фракцию цитоплазмы шло параллельно с включением уридина— C^{14} в РНК фракцию ядер клеток.

Возможно, синтез вируса NDV осуществляется на всей территории зараженной клетки, но не исключена возможность, что S-антиген его синтезируется в ядре и, не накапливаясь, немедленно поступает в цитоплазму.

Что касается вируса FPV, то максимум включения уридина— C^{14} в ядерную РНК клетки наблюдался через 3 часа инфекции, а в РНК цитоплазмы — через 5—6 часов. Подавления включения уридина— C^{14} в начале латентного периода инфекции вирусом FPV отметить не удалось.

ДЕЙСТВИЕ АКТИНОМИЦИНА Д НА ОБРАЗОВАНИЕ РАННИХ БЕЛКОВ ВИРУСА КЛАССИЧЕСКОЙ ЧУМЫ ПТИЦ

А. К. ГИТЕЛЬМАН, А. Г. БУКРИНСКАЯ

(МОСКВА)

Образование вирусных ранних белков — репрессоров клеточного обмена и вирусной РНК-полимеразы — почти не изучалось на модели миксовирусов. По данным Шолтиссека и Ротта, при заражении куриных фибробластов вирусом классической чумы птиц появляется лишь один ранний белок — вирусная РНК-полимераза и не образуется репрессор синтеза клеточной РНК.

В настоящей работе изучалось образование ранних белков вируса классической чумы птиц по изменению включения C^{14} цитидина в кислотонерастворимую фракцию клеток куриных фибробластов и переживающих хориоаллантоисных оболочек и H^3 уридина в структуре клеток РЕС при использовании метода автордиографии.

В течение первого часа после заражения культуры ткани ку-

риных фибробластов при заражении вирусом NDV включение меченого уридина снижалось, достигая лишь 50% необработанных образцов. Аналогичные данные были получены с помощью электронной автордиографии. Результаты, полученные нами при использовании этого метода, нашли подтверждение в опытах биохимического фракционирования зараженных клеток и хориоаллантоисных оболочек. При подкормке зараженных клеток средой, содержащей уридин— C^{14} , через 30—60 мин. после заражения было получено понижение кривой включения специфической радиоактивности в РНК ядра клетки по сравнению с нормой и повышение ее к 3—4 часам. Интересно, что включение уридина— C^{14} в РНК фракцию цитоплазмы шло параллельно с включением уридина— C^{14} в РНК фракцию ядер клеток. Возможно, синтез вируса NDV осуществляется на всей территории зараженной клетки, но не исключена возможность, что S-антиген его синтезируется в ядре и, не накапливаясь, немедленно поступает в цитоплазму. Что касается вируса FPV, то максимум включения уридина— C^{14} в ядерную РНК клетки наблюдался через 3 часа инфекции, а в РНК цитоплазмы — через 5—6 часов. Подавления включения уридина— C^{14} в начале латентного периода инфекции вирусом FPV отметить не удалось.

При действии вируса NDV на куриные фибробласты включение меченого уридина в РНК ядра и цитоплазмы клеток снижалось. При действии вируса FPV на куриные фибробласты включение меченого уридина в РНК ядра и цитоплазмы клеток снижалось. При действии вируса FPV на куриные фибробласты включение меченого уридина в РНК ядра и цитоплазмы клеток снижалось.

Включение меченого уридина в РНК ядра и цитоплазмы клеток куриных фибробластов и переживающих хориоаллантоисных оболочек и H^3 уридина в структуре клеток РЕС при использовании метода автордиографии. В течение первого часа после заражения культуры ткани куриных фибробластов при заражении вирусом NDV включение меченого уридина снижалось, достигая лишь 50% необработанных образцов. Аналогичные данные были получены с помощью электронной автордиографии. Результаты, полученные нами при использовании этого метода, нашли подтверждение в опытах биохимического фракционирования зараженных клеток и хориоаллантоисных оболочек. При подкормке зараженных клеток средой, содержащей уридин— C^{14} , через 30—60 мин. после заражения было получено понижение кривой включения специфической радиоактивности в РНК ядра клетки по сравнению с нормой и повышение ее к 3—4 часам. Интересно, что включение уридина— C^{14} в РНК фракцию цитоплазмы шло параллельно с включением уридина— C^{14} в РНК фракцию ядер клеток. Возможно, синтез вируса NDV осуществляется на всей территории зараженной клетки, но не исключена возможность, что S-антиген его синтезируется в ядре и, не накапливаясь, немедленно поступает в цитоплазму. Что касается вируса FPV, то максимум включения уридина— C^{14} в ядерную РНК клетки наблюдался через 3 часа инфекции, а в РНК цитоплазмы — через 5—6 часов. Подавления включения уридина— C^{14} в начале латентного периода инфекции вирусом FPV отметить не удалось.

при заражении ви-
русом FPV
гая лишь 50% не-
ющею электронной
и при использова-
тах биохимическо-
рионаллантоисных

содержащей ури-
1 было получено
радиоактивности в
вышение ее к 3—

РНК фракцию цити-
дина— C^{14} в РНК

ется на всей тер-
возможность, что
апливаясь, немед-

ключения уриди-
ез 3 часа инфек-
одавления вклю-
да инфекции ви-

РАЗОВАНИЕ И ЧУМЫ ПТИЦ

я

рессоров клеточ-
ти не изучалось
са и Ротта, при
сической чумы
сная РНК-поли-
шой РНК.

ранних белков
ключения C^{14} ци-
к куриных фиб-
их оболочек и
зовании метода

туры ткани ку-

риных фибробластов вирусом классической чумы птиц включе-
ние C^{14} —цитидина в кислотнонерастворимую фракцию клеток бы-
ло подавлено на 60%. К трем часам после заражения включение
 C^{14} —цитидина постепенно восстанавливалось до контрольного
уровня, а от 3-х до 4-х часов происходило интенсивное включе-
ние C^{14} —цитидина в кислотнонерастворимую фракцию, дости-
гающее 190—230% радиоактивности незараженных клеток. По-
давление включения C^{14} —цитидина в кислотнонерастворимую
фракцию клеток зараженных хориоаллантоисных оболочек обна-
руживалось между 2 и 4 часами, а ускоренное включение — меж-
ду 4 и 6 часами после заражения. Фаза подавления и интенсив-
ного включения предшественника снимались при добавлении к
клеткам фторфенилаланина (20—100 $\mu\text{g}/\text{мл}$). В соответствии с
литературными данными фаза подавления включения рассматри-
вается как фаза образования индуцированного вирусом репрес-
сора синтеза клеточной РНК, а фаза ускоренного включения
как фаза образования вирусной РНК — полимеразы и синтеза
вирусной РНК.

При добавлении актиномицина Д (0,3—2 $\mu\text{g}/\text{мл}$) фаза синте-
за вирусной РНК наблюдалась в течение первого часа после за-
ражения, при этом включение C^{14} —цитидина в кислотнонераство-
римую фракцию достигало 200—350% радиоактивности незара-
женных клеток в прямой пропорциональности от использованной
концентрации актиномицина Д. Ускорение фазы синтеза вирус-
ной РНК было обусловлено, по-видимому, подавлением актино-
мицином клеточной информации и, в первую очередь, образова-
ния интерферона. В том случае, если интерферон был добавлен
одновременно с актиномицином, ранний синтез вирусной РНК
был блокирован.

Включение H^3 уридина в ядра клеток PEC в присутствии
0,3 μg мл актиномицина через 1 час после заражения было по-
давлено на 60%. Через два часа происходило ускоренное вклю-
чение H^3 —уридина в межядерковую область ядра, достигающее
наибольшей интенсивности (220—250%) через 3 часа и уменьшаю-
щееся через 4 часа. Является ли межядрышковая область мес-
том синтеза РНК вируса классической чумы птиц или же, по
аналогии с вирусом Сендай, сюда перемещается синтез вирусной
РНК из ядрышка под влиянием действия актиномицина — оста-
ется неясным. Образование гемагглютининов в культурах, обра-
ботанных актиномицином, было подавлено. Подавление синтеза
гемагглютининов наблюдалось только в том случае, если актино-
мицин был добавлен в период синтеза вирусной РНК и, таким
образом, было обусловлено изменениями во вновь синтезированной
молекуле РНК. Инфекционный титр снижался пропорцио-
нально снижению титра гемагглютининов. Расчленение функций
образования ранних белков и гемагглютининов с помощью акти-
номицина подтверждает полицистронное строение молекулы ви-
русной РНК и разное функциональное значение исходных и вновь
синтезированных молекул.

О РАДИОЧУВСТВИТЕЛЬНОЙ СТАДИИ В РАЗВИТИИ НЕКОТОРЫХ ДНК-СОДЕРЖАЩИХ ВИРУСОВ

О. П. ПЕТЕРСОН, О. Н. БЕРЕЗИНА
(МОСКВА)

Для понимания особенностей течения вирусных инфекций в облученном организме необходимо предварительно изучить влияние ионизирующей радиации на клеточном уровне. Поэтому целью настоящего исследования является более глубокое изучение процессов, происходящих при взаимодействии вирусов с чувствительными клетками в условиях рентгеновского облучения. Мы изучали влияние изменений клеточного метаболизма и изменений в системе вирус-клетка, вызванных облучением в дозе 2.000 р, на развитие вирусов в культурах тканей. В качестве моделей брали ДНК-содержащие вирусы: два штамма вируса герпеса (Л₂ и К) и вирус осповакцины. Облучение в дозе 2.000 р проводили на аппарате РУМ-11 со следующим режимом: 195 кв, 15 мА без фильтра при максимальном приближении трубки к объекту и мощности облучения 500 р/мин. Эксперименты проводили в условиях, позволяющих сравнивать результаты отдельных опытов. Это достигалось путем синхронизации как процесса развития клеточной популяции, так процесса инфицирования тканевых культур. Синхронизированные культуры получали выдерживанием в течение 18 часов при 4°С. Заражение вирусами и облучение производили на протяжении времени, соответствующему 1 циклу развития клеток. Заражение проводили массивными дозами вируса с таким расчетом, чтобы на одну клетку приходилось от 1 до 10 вирусных частиц. Соблюдение описанных условий позволило добиться однотипной реакции всей клеточной популяции как на облучение, так и на инфицирование.

Результаты исследований по влиянию предварительного облучения культур тканей за 24 часа до инфицирования совпадают с нашими ранними, а также с литературными данными о том, что биосинтетическая активность клеток чрезвычайно радиорезистентна: несмотря на полную остановку митозов и угнетение синтеза клеточной ДНК в культурах, подвергнутых облучению, вирусы способны прodelьвать в них полный цикл развития и выход их не отличался от контрольных.

Представляется интересным исследовать радиочувствительность системы вирус-клетка на ранних стадиях развития вируса (в эclipse и стадии логарифмического выхода). Известно, что радиация, повреждая синтез ДНК, влияет на предсинтетическую стадию, нарушая механизмы, ответственные за подготовку к синтезу ДНК, а именно, подавляя активность специфических ферментов тимидинкиназы, тимидилактакиназы и ДНК-полимеразы. Поэтому мы на примере ДНК-содержащих вирусов решили проверить радиочувствительность ранних стадий развития вирусов.

когда иде
Нам удае
герпес и
о чем бы.
радиации
производи
витие вир
вирусов и
из опыта
отношени
рованных
зрелых ви
сопровожд
Прове
дальнейш
а также
ионизиру

**ПАРА
ТКА
С П**

При и
клеток тк
парагрипп
значитель
Наблюдае
точной, ме
контраста
гипоплаз
щающихся
осмиофил
В цитс
русных ча
ные струк
кольцевид
электронс
кой зоны.
личались д
ны и нали
контурных
наруживал
колец и п

АДИИ В РАЗВИТИИ ЩИХ ВИРУСОВ

БЕРЕЗИНА

ия вирусных инфекций в варительно изучить влия- точном уровне. Поэтому ся более глубокое изуче- одействия вирусов с чув- итгеновского облучения. ого метаболизма и изме- нных облучением в дозе х тканей. В качестве мо- два штамма вируса гер- ченне в дозе 2.000 р про- щим режимом: 195 кв, приближении трубки к т. Эксперименты прово- ть результаты отдельных заши как процесса раз- а инфицирования ткане- уры получали выдержи- ажение вирусами и об- мени, соответствующему водили массивными до- а одну клетку приходи- ние описанных условий всей клеточной популя- ние.

предварительного об- ридирования совпадают ными данными о том, резвычайно радиорези- митозов и угнетение двергнутых облучению, ный цикл развития и

ать радиочувствитель- адиях развития вируса ахода). Известно, что на предсинтетическую а за подготовку к син- специфических фер- и ДНК-полимеразы. вирусов решили про- дий развития вирусов,

когда идет подготовка к синтезу и сам синтез вирусных ДНК. Нам удалось установить, что ранние стадии развития вирусов герпес и осповакцины являются весьма радиочувствительными, о чем было доложено на IV Межинститутской конференции по радиационной иммунологии и микробиологии 1963 г. Облучение, производимое спустя 1—4 часа после заражения тормозит раз- витие вирусов и их титры резко снижаются. Угнетение синтеза вирусов имеет вполне достоверную величину и воспроизводится из опыта в опыт с некоторыми незначительными колебаниями в отношении сроков появления этого эффекта. Облучение инфици- рованных культур в более поздние сроки, к моменту появления зрелых вирусных частиц, либо не изменяет титра вирусов, либо сопровождается увеличением выхода вируса.

Проведенные опыты, как нам кажется, намечают пути для дальнейшего исследования ранних стадий развития вирусов, а также могут служить удобной моделью для изучения влияния ионизирующей радиации на синтез ДНК.

ИЗУЧЕНИЕ ПРОЦЕССА РАЗМНОЖЕНИЯ ПАРАГРИППОЗНОГО ВИРУСА СЕНДАЙ В КЛЕТКАХ ТКАНЕВОЙ КУЛЬТУРЫ ПОЧКИ ОБЕЗЬЯНЫ РЕЗУС С ПОМОЩЬЮ МЕТОДА УЛЬТРАТОНКИХ СРЕЗОВ

В. Д. ЛОТТЕ

(МОСКВА)

При изучении в электронном микроскопе ультратонких срезов клеток тканевой культуры почки обезьяны резус, зараженных парагриппозным вирусом Сендай, штамм 960, были выявлены значительные изменения ультраструктуры ядра и цитоплазмы. Наблюдалось сильное утолщение и растворение ядерной и кле- точной мембран, уменьшение структурированности и падение контраста и электронооптической плотности кариоплазмы и глалоплазмы, набухание или уплотнение митохондрий, превра- щающихся в прозрачные бесструктурные вакуоли или плотные осмиофильные гранулы с плохо различимыми кристами.

В цитоплазме зараженных клеток выявлялись скопления в- вирусных частиц, образовавших гексагональные кристаллоподоб- ные структуры. Вирусные частицы имели диаметр 80—120 мк и кольцевидную форму строения, характеризовавшуюся наличием электронооптически прозрачного центра и плотной перифериче- кой зоны. «Кольцевидные формы», составлявшие «кристалл», от- личались друг от друга шириной и плотностью периферической зо- ны и наличием в центральной части некоторых из них тонких одно- контурных нитей. Кроме описанных структур, в «кристаллах» об- наруживались вирусные частицы, имевшие форму незамкнутых колец и полулуний. Эти частицы располагались в центральной

части «кристаллов» и являлись, по-видимому, самыми молодыми структурами, которые позднее приобретали форму кольца и отеснялись к периферии, вновь образуясь. Кольцевидной формы вирусные частицы и образуемые ими «кристаллы» выявлялись только внутри клеток и локализовались обычно в прямоугольную форму, состояли из полиморфных вирусных частиц и содержали матрикс в центральной части. Реже встречался другой способ формирования «кристалла»: кольцевидные вирусные частицы располагались в резервуарах эндоплазматического ретикулюма и прилегающих участках гиалоплазмы, образуя почти правильную гексагональную укладку. При этом способе формирования матрикс в «кристаллах» не обнаруживался.

В препаратах зараженной тканевой культуры, кроме «кристаллов кольцевидных форм», выявлены были структуры, представлявшие собой плотно упакованные кристаллоподобные скопления вирусных частиц, лежавшие вне клеток. В указанных скоплениях вирусные частицы характеризовались большой вариативностью размеров (80-240 мк), круглой или овальной формой и сложной внутренней структурой. Внутреннее строение вирусных частиц выявлялось в виде системы слабо осмиофильных зигзагообразно изогнутых и вытянутых двухконтурных нитей нуклеопротеида (диаметр 180 А°), не имеющих строго ориентированного расположения. Последнее обстоятельство определялось, по-видимому, различным положением оси спиральной нуклеокапсида по отношению к плоскости среза. Оболочка вирусной частицы представляла собой двухконтурную структуру шириной 100-120 А°, имеющую радиальную исчерченность и соответствующую, очевидно, той наружной части вирусной частицы, которая образована лучеобразными гемагглютинидами, выявляемыми при негативном контрастировании препаратов.

При анализе полученных данных прежде всего возникает вопрос о взаимоотношении между «кольцевидными формами» и вирусными частицами, имеющими сложное внутреннее строение. Хотя представленный материал не позволяет сделать окончательных выводов, мы считаем возможным высказать некоторые предположения, которые кажутся нам логично вытекающими из полученных данных. Можно думать, что электроннооптически плотный матрикс, обнаруживаемый в цитоплазме зараженных клеток, является скоплением «вирусного материала», т. е. вирусного белка и вирусной РНК, и представляет собой вегетативную стадию онтогенеза вируса, виропласт (Зейтленок Н. А., 1963). В виропласте происходит формообразовательные процессы, заканчивающиеся формированием зрелых вироспор. Обнаруженные в матриксе структуры в виде незамкнутых колец, полудуний и тей вирусных частиц являются, по-видимому, самой ранней, незрелой стадией формирования вироспор. Следующей стадией является образование «кольцевидных форм», которые превращаются в зрелые вирусные частицы, выделяющиеся из клетки и имеющие сложное внутреннее строение.

12

Аналоги
образования
вируса весе
Неясных
нуклеокапсида
видных фор

СОДЕРЖА ЗАРАЖЕН

Б. А. ЕРА

Противо
нии РНК в
миелита, по
ния с испо
по литерату
ткани.

Клетки
тальбумина
день роста
миелита (ш
среды средс
водилась бе

Реплики
после зараж
РНК вы
ляли путем

Цитофото
плазме клет
вирусом по
через 4 час
ние РНК в
сравнению

6 часов пос
РНК в цитс
нию с клет
контрольной
РНК в цит
рышках кле
6 часов посл

Показате
нерирующих

ному, самыми молодыми
тапи форму кольца и от-
ующимися. Кольцевидной
е ими «кристаллы» выяв-
зовались обычно в прямо-
эфных вирусных частиц и
ти. Реже встречался дру-

кольцевидные вирусные
индоплазматического рети-
юплазмы, образуя почти
ри этом способе форми-
наруживался.

культуры, кроме «крис-
а были структуры, пред-
кристаллоподобные скоп-
еток. В указанных скоп-
эвались большой вари-
круглой или овальной
ой. Внутреннее строение
темы слабо осмиофиль-
ых двухконтурных нитей
ющих строго ориентиру-
ятельность определялось
я спирали, нуклеокапси-
лочка вирусной частицы
структуру шириной
енность и соответствующ-
усной частицы, которая
тами, выявляемыми при

де всего возникает вон-
дными формами» и ви-
внутреннее строение
ает сделать окончатель-
казать некоторые пред-
ытекающими из по-
ктроннооптически плот-
ме зараженных клеток,
а», т. е. вирусного бел-
й вегетативную стадию
Н. А., 1963). В виро-
процессы, заканчиваю-
Обнаруженные в мат-
ец, полулунный и теней
амой ранней, незрелой
шей стадией является
рые превращаются в
из клетки и имеющие

Аналогичный способ формирования вирусных частиц путем
образования кольцевидных форм описан для западных штаммов
вируса весенне-летнего клещевого энцефалита.

Неясным остается пока вопрос о способе формирования нук-
леокапсида в вирусной частице и путях превращений «кольце-
видных форм» в зрелые вироспоры.

СОДЕРЖАНИЕ РНК В КЛЕТКАХ КУЛЬТУРЫ ТКАНИ НЕр-2, ЗАРАЖЕННОЙ ВИРУСОМ ПОЛИОМИЕЛИТА, ПО ДАННЫМ ЦИТОФОТОМЕТРИЧЕСКОГО ИЗУЧЕНИЯ

Б. А. ЕРМАН, А. Л. ЭССЕТЬ, Е. Ю. БРОНИЦКАЯ, С. Б. ШУБИНА,
А. Г. МЯСНИКОВА
(СВЕРДЛОВСК)

Противоречивость данных литературы по вопросу о содержа-
нии РНК в клетках культуры тканей, зараженных вирусом полио-
миелита, побудила нас предпринять соответствующие исследова-
ния с использованием метода цитофотометрии. Этот метод, судя
по литературе, не применялся в опытах с зараженной культурой
ткани.

Клетки НЕр-2 выращивали в 0,5% растворе гидролизата лак-
тальбумина в растворе Хенкса с 15% бычьей сыворотки. На 3-й
день роста культуру заражали 1.000 ЦПД₅₀ вируса полио-
миелита (штамм Брунден) с последующей заменой указанной
среды средой 199 без сыворотки. В контроле смена среды произ-
водилась без добавления вируса.

Реплики для исследования брали через 2; 4; 6; 10 и 24 часа
после заражения.

РНК выявляли по методу Эйнерсона и количественно опреде-
ляли путем фотографической цитофотометрии.

Цитофотометрические исследования содержания РНК в цито-
плазме клеток культуры ткани НЕр-2 в норме и при заражении
вирусом полиомиелита, тип I, штамм Брунден, показали, что
через 4 часа после заражения наблюдается снижение содержа-
ния РНК в цитоплазме клеток инфицированной культуры, по
сравнению с контрольной культурой того же возраста. Через
6 часов после заражения отмечается повышение содержания
РНК в цитоплазме клеток инфицированной культуры по сравне-
нию с клетками 4-х часовой культуры и клетками 6-ти часовой
контрольной ткани. К 10 часам после заражения содержание
РНК в цитоплазме клеток снижается. Содержание РНК в яд-
рышках клеток инфицированной культуры уменьшается через
6 часов после заражения.

Показатели содержания РНК в цитоплазме сморщенных деге-
нерирующих клеток инфицированной культуры (24 часа) не пре-

вышают таковых для клеток контроля. Сопоставление содержания РНК в цитоплазме клеток 24-х часовой культуры и ткани 4-х суток роста показало, что молодые клетки содержат в цитоплазме больше РНК, чем клетки более позднего возраста.

ИЗУЧЕНИЕ АКТИВНОСТИ СУКЦИНДЕГИДРОГЕНАЗЫ В ТКАНЕВЫХ КУЛЬТУРАХ, ИНФИЦИРОВАННЫХ ВИРУСОМ КОРИ

АБДУМАЛИКОВА З. А., НОСНК Н. И.

(МОСКВА)

При изучении вопросов, связанных с развитием вирусной инфекции, большое значение имеют данные о метаболических процессах клетки, обеспечивающих нормальную жизнедеятельность, в частности, окислительно-восстановительные реакции.

В наших исследованиях по изучению цитопатологии коревой инфекции в тканевых культурах, наряду с морфологическими и гистохимическими методами, проводилось изучение активности сукциндегидрогеназы, одного из ключевых ферментов электронно-транспортной системы.

Исследования проводились цитохимическими методами с помощью солей нитросинего тетразолия. Использовалась тканевая система клеток КЭМ, инфицированных вирусом кори, штамм Эдмонстон.

Изучение развития инфекции через 6, 12, 18, 24 часа и до 7—9 суток показало, что статистически достоверной разницы в изменении активности сукциндегидрогеназы в инфицированных клетках по сравнению с контрольными не наблюдалось.

В части опытов отмечалось увеличение количества осадка дигидроформазана в инфицированных культурах уже через 48 часов после заражения. В то же время уже через 20—23 часа от момента заражения удается выделить активный вирус кори, вызывающий характерные изменения в клетках.

На более поздних сроках исследования — 5—6 суток, когда обнаруживались внутриядерные оксифильные, фельген-отрицательные включения, активность фермента была примерно такой же, как и в нормальной культуре клеток КЭМ.

Результаты настоящего исследования дают основания предположить, во-первых, что роль данного фермента в репродукции вируса кори незначительна и, во-вторых, что при развитии коревой инфекции в изучаемой тканевой системе не происходит резких нарушений окислительно-восстановительных процессов и, в частности, обмена ди- и трикарбонновых кислот, при котором сукциндегидрогеназа играет особую роль.

14

ЦИТОХИ
НЕЛ
АД

При
во внешн
логически
повирусо.
жащая ж
дллась 1
где они,
презвеча
концентр
та были
различны
и до 1 : 10
Иссле
зали, чт
зараженн
ной мемб
ния их п
Через
мелких о
жительно
ленным це
Через
виваются
ная мемб
большие
крупными
ваны тя
дают по
го-зелены
Через
цитоплаз
в размера
Через
в дегенер
Под в
личество
неских из
Изуче
днями ви
: 100000

оставление содержания культуры и ткани 4-х суток содержат в цитоплазме разного возраста.

ДЕГИДРОГЕНАЗЫ ОБРАЗОВАНИЙ ВИРУСОМ

К. Н. Н.

развитием вирусной и метаболических процессов жизнедеятельности реакции. цитопатологии коревой с морфологическими и изучение активности ферментов электрон-

ными методами с использованием тканевым вирусом кори, штамм

12, 18, 24 часа и до достоверной разницы и в инфицированных наблюдалось.

количества осадка даже через 48 часов с 20—23 часа от мой вирус кори, вызы-

— 5—6 сутки, когда ные, фелген-отрица- была примерно такой А.

дают основания пред- о при развитии коре- не происходит рез- ных процессов и, в лот, при котором сук-

ЦИТОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК HeLa в РАЗЛИЧНЫЕ СРОКИ ПОСЛЕ ЗАРАЖЕНИЯ АДЕНОВИРУСОМ 5 ТИПА И ПРИ РАЗЛИЧНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЯХ ВИРУСА

В. В. ВЛАДОВЕЦ, С. Н. РЕЗИНА

(МОСКВА)

При разработке методов ускоренной индикации аденовирусов во внешней среде (воздух, вода) были поэтапно изучены морфологические изменения в культуре клеток HeLa, зараженных аденовирусом 5 типа. В экспериментах использовалась вирусосодержащая жидкость с титром $10^{4.5}$, которая для заражения разводилась 1:10. Для обнаружения аденовирусов во внешней среде, где они, как правило, находятся в незначительных количествах, чрезвычайно важное значение имеет определение минимальных концентраций инфекционного агента. Для изучения этого вопроса были проведены исследования с заражением культуры ткани различными разведениями вирусосодержащей жидкости (от 1:10 и до 1:100000).

Исследования действия аденовируса 5 типа на клетки показали, что первые изменения появляются через 12 часов после заражения и выражаются в гипертрофии ядер, набухания ядерной мембраны и резком увеличении ядрышек с усилением свечения их при исследовании в люминесцентном микроскопе.

Через 15 часов появляются внутриядерные включения в виде мелких округлых образований в количестве 2—4, дающих положительную реакцию по Фелгену и флуоресцирующих желто-зеленым цветом при окрашивании акридиновым оранжевым.

Через 18—20 часов наступают резкие изменения: ядра увеличиваются в размере и приобретают причудливую форму, ядерная мембрана сильно флуоресцирует, причем на ней видны небольшие утолщения в количестве 8—10. Включения становятся крупными рыхлыми или более плотными массами, которые связаны тяжами с утолщениями на ядерной мембране. Включения дают положительную реакцию Фелгена и флуоресцируют желто-зеленым цветом.

Через 48 часов пораженные клетки начинают округляться, цитоплазма дегенерирует, а включения в ядрах увеличиваются в размерах, занимая почти все ядро.

Через 72 часа ядерная мембрана рвется и включения выходят в дегенерирующую цитоплазму.

Под влиянием аденовирусной инфекции резко снижается количество митозов, что свидетельствует о глубоких цитофизиологических изменениях в зараженных культуре клеток.

Изучение клеток HeLa, зараженных различными концентрациями вирусосодержащей жидкости показало, что при разведении 1:100000 через 12—20 часов изменений в клетках не обнаружено.

Слабо выраженные изменения (небольшое набухание ядер и усиление свечения ядрышек) наблюдались при заражении дозой вируса в разведении 1 : 10000. Чёткие изменения, выраженные в увеличении ядер и образовании внутриядерных включений, отмечены в клетках, зараженных разведением 1 : 1000. Типичные изменения отмечаются приблизительно у 30% клеток. При заражении клеток суспензией вируса в разведении 1 : 100 от 50 до 70% клеток имеют явно пораженные ядра (резкое увеличение размеров, причудливые формы и наличие крупных включений). При заражении культуры ткани вирусом в разведении 1 : 10 у 90% клеток наблюдаются типичные поражения ядер.

ИЗУЧЕНИЕ НАКОПЛЕНИЯ ВИРУСА ОБЫЧНОГО ГЕРПЕСА В КУЛЬТУРЕ ТКАНИ

А. Ф. БОЧАРОВ, Ю. И. ГОФМАН, Т. В. ПАНДОВА
(МОСКВА)

Целью настоящей работы явилось сравнительное изучение накопления вируса обычного герпеса непосредственно в клетках культуры ткани (используя для этого различные способы разрушения клеток) и в культуральной жидкости вирусологическими методами. Параллельно проводили изучение накопления вируса в тонких срезах клеток и в культуральной жидкости, используя метод электронной микроскопии. Работу проводили для изучения возможности получения на культуре ткани больших количеств высокоактивного вируса.

В опытах использовали вирус обычного герпеса штамм «Л-2». Вирус выращивали в монослое первично-трипсинизированных клеток фибробластов эмбриона человека (ФЭЧ) на среде 199 с 10% сыворотки быка при температуре 35°C. Методика обнаружения внутри- и внеклеточного вируса сводилась к следующему. Через определенные промежутки времени из инфицированных культур полностью сливали в отдельный сосуд культуральную жидкость. Клетки несколько раз промывали раствором Хенкса. В матрац наливали среду в небольшом количестве, специальным шпателем механически снимали клетки с поверхности стекла. Далее среду доливали до первоначального объема культуральной жидкости. Взвесь клеток, инфицированных вирусом, разрушали одним из трех методов: однократным замораживанием — оттаиванием, в гомогенизаторе Поттера, или ультразвуком в аппарате фирмы RFT в течение 5—7 мин (частота колебаний 800 КГц, мощность до 10 W/cm²). По данным Макферсона (1958), обработка ультразвуком является наилучшим методом освобождения внутриклеточного вируса.

Для обнаружения вируса в тонких срезах, клетки культур были собраны через 9, 12, 24, 48, 72 час после инфицирования.

Моносом
спирта
створе
ультра
ная в
колло
фосфо
створа
ральн
моши
Пр
несг
спача
разли
тивнос
взвесь
ток на
метод
ботки
выращ
ствию
клеточ
ваши
ток. Р
начина
в кл
10⁵ |
скольк
одном
эффек
было
В кул
после
вируса
держа
100 ра
концен
через
постык
жанне
культу
лись о
больш
В т
ванья
ядер
фракци
не уда
2—1418

набухание ядер и заражении дозой в 100 раз, выраженные в виде включений, от 1:1000. Типичные клетки. При заражении 1:100 от 50 до 100 (резкое увеличение упругих включений). Заведении 1:10 ядер.

ИНОГО ГЕРПЕСА

АВЛОВА

тальное изучение в клетках и способы разрушения вирусологическими методами накопления вируса в культуре, используя для изучения или для изучения больших количеств

штамм «Д-2», инкубированных в среде 199 с помощью обнаружения к следующему инфицированным культуральную среду Хенкса. В работе, специальным методом поверхности стекла. В культуре вирусом, разрушением — ультразвуком в апостата колебаний (1958), методом освобождения

клетки культур инфицирования.

Методом клеток фиксировали 1% раствором O_3O_4 , забуференном по Палладе в модификации Колфида. Обезжизнили в спиртах возрастающей концентрации, контрастировали в 1% растворе уранилнитрата, заключали в метакрилаты и резали на ультрамикротоме ЛКБ 4800 А. Культуральная жидкость, собранная в те же сроки после заражения была нанесена на сеточки с коллоидными подложками, контрастированы 10% раствором фосфорно-вольфрамовой кислоты, доведенной с помощью 1N раствора NaOH до pH = 7,2. Препараты, приготовленные из культуральной жидкости и тонких срезов клеток исследованы при помощи электронного микроскопа модели JEM 5У.

При определении содержания внутриклеточного вируса существенное значение имеет метод разрушения клеток. Поэтому сначала выяснили степень разрушения нормальных клеток ФЭЧ различными методами и характер влияния этих методов на активность вируса герпеса. Проведенные опыты показали, что взвесь клеток культуры ткани ФЭЧ в концентрации 10^5 — 10^6 клеток на 1 мл полностью разрушалась любым из выше названных методов. Наиболее полное разрушение клеток было после обработки ультразвуком. Мы наблюдали также, что вирус герпеса, выращенный на культуре ткани ФЭЧ, высокоустойчив к воздействию ультразвука. Затем мы изучали внутриклеточное и внеклеточное накопление вируса в культуре ткани ФЭЧ, инфицированной оптимальной дозой вируса — 10^8 ЦПД₅₀ на 15×10^6 клеток. Размножение вируса герпеса в клетках культуры ткани ФЭЧ начиналось через 9 час после инфицирования. Количество вируса в клетках постепенно нарастало и к 24 час составляло 10^7 ЦПД₅₀/мл. Через 48 час концентрация вируса в клетках несколько повышалась, но в дальнейшем оставалась примерно на одном уровне. В это время наблюдался полный цитопатический эффект. Затем титр вируса постепенно падал, что, возможно, было связано с инактивацией его в процессе инкубирования. В культуральной жидкости вирус обнаруживался спустя 3—4 час после начала его активного размножения в клетках. Количество вируса постепенно нарастало. Через 24 час после заражения содержание вируса в 1 мл культуральной жидкости было в 100 раз меньше, чем в 1 мл клеточной взвеси. Наибольшая концентрация вируса в культуральной жидкости наблюдалась через 72 час, когда значительная часть клеток была полностью разрушена и отслаивалась от стекла. В это время содержание вируса в клетках было равным содержанию его в культуральной жидкости. Когда практически все клетки отслаивались от стекла, содержание вируса в клеточной взвеси оставалось большим, чем в культуральной жидкости примерно в 10 раз.

В тонких срезах клеток только через 12 час после инфицирования удавалось обнаружить среди гранулярных участков ядер незначительное количество вирусных частиц. В жидкой фракции культур в этот период вирусных частиц обнаруживать не удавалось. Через 24 час и позже отмечалось резкое увеличе-

идкой фракциях культуры вирусных частиц в осадках.

размножения вируса в клетках ФЭЧ (Асдр., 1958), изучавших с ИФЕМ на культуре мы поставили серию культуры ткани ФЭЧ челяскую жидкость удаляя и суспендировали в растворе Хейкса бычьей культуральной жидкостью. Одним из вышеперечисленных образцов вируса, и ультразвуком, оказавшись, что при применении обычных методов приготовления препаратов под микроскопом культуры ткани

В КЛЕТОЧНОЙ КУЛЬТУРЕ ВИРУСА

ОВА

свинки, инфицированы базофильные включения (связано с I_{50} на клетку). Ускорения включения зернистость, зернистой формы и клетки содержат ядра. Цитохимическое включение да-

ются в корреляции с культуральной коэффициентом агглютинации. Включения в культуре для отличия висотр., 1963). По-

индному, это положение справедливо для характеристики инфекционного вируса в клеточной культуре. Наши наблюдения показали, что при введении оптимальных доз (0,1 ЭИД₅₀ для вируса гриппа В и 0,1 ЭИД₅₀ для вируса гриппа А2) включения отсутствуют или обнаруживаются в единичных случаях в виде базофильной зернистости и только в поздние сроки культивирования вируса. При репродукции полноценного инфекционного вируса в клеточной культуре крупные включения в виде глыбок, как правило, не обнаруживаются.

Представляется возможным рассматривать наличие цитоплазматических включений при гриппе, как дополнительный критерий для характеристики полноценного вируса гриппа в клеточных культурах.

К МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ ХАРАКТЕРИСТИКЕ ЧАСТИЦ ВИРУСА ГЕРПЕСА В СУСПЕНЗИИ И ТОНКИХ СРЕЗАХ ИНФИЦИРОВАННЫХ КЛЕТОК КУЛЬТУРЫ ТКАНИ

А. Ф. БОЧАРОВ, Ю. П. ГОФМАН, О. П. БЕРЕЗИНА

(МОСКВА)

В результате электронномикроскопического изучения вируса герпеса, штамм ИФЕМ, выращенного в культуре клеток HeLa (Вайлди и др., 1960, 1960, 1962; Ватсон и др. 1963) показано три основных структурных компонента частиц: нуклеоид, капсид и оболочка. Нуклеоид занимает центральное положение, в проекции имеет гексагональную форму и включается в характеристику капсида, окружающего нуклеоид. Эти структуры состоят из субструктур каземеров. Наружняя структура, называемая оболочкой, заключает капсид. Часть частиц не содержит некоторых структурных компонентов.

Целью настоящей работы явилось (1) изучение морфологии частиц вируса герпеса, штамм Л2, выращенного в первично-трипсицизированной культуре клеток фибробластов эмбриона человека (ФЭЧ), (2) изучение влияния на морфологию частиц очистки вирусных суспензий с применением нуклеаз (ДНКазы, РНКазы), трипсина, хроматографии на кальций-фосфатной колонке, ультрацентрифугирования, а также (3) выяснение отношения различных морфологических типов вирусных частиц к инфекционности. Изучение вирусных частиц в тонких срезах клеток ФЭЧ в динамике инфекций проводилось для сравнения вирусных структур в ядре, цитоплазме и межклеточных пространствах со структурами частиц из очищенных и неочищенных вирусных суспензий.

Вирус выращивали в монослое клеток ФЭЧ на среде 199 с 10% сыворотки быка. Культуры, содержащие около 15×10^6 клеток, инфицировали 10^8 ЦПД₅₀ вируса. Через 48 час инкубации

2*

19.

при 35°С клетки снимали со стекла и разрушали в небольшом объеме питательной среды однократным замораживанием — оттаиванием или в гомогенизаторе Поттера. Вирусодержащую суспензию разрушенных клеток подвергали циклу дифференциального центрифугирования. Осадок суспендировали в растворе фосфатного буфера и обрабатывали ДНКазой, РНКазой и трипсином в расчете 1 мг/мл суспензии в течение 20 мин при 37°С с целью разрушения клеточных нуклеиновых кислот и белка. Обработанную суспензию ультрацентрифугировали, осадок суспендировали в растворе фосфатного буфера и подвергали хроматографии на кальций-фосфатной колонке. Вирус, адсорбированный на колонке, промывали большими объемами 0,001 М раствором фосфатного буфера и затем элюировали 0,6, 0,8 М растворами. Обе фракции, содержащие вирус в разных количествах, анализировали через 100 объемов диализированной воды при 4°С в течение суток. Очищенный вирус концентрировали ультрацентрифугированием.

Чистоту полученных вирусных препаратов определяли (1) методом спектрофотометрии (количественное определение нуклеинового и белкового компонентов), (2) методом Лоури (количественное определение белкового компонента), (3) методом электронной микроскопии. Очищенный и концентрированный вирус обладал высокой биологической активностью при заражении тканевых культур и при интрацеребральном введении мышам.

В процессе очистки исследовали некоторые образцы вирусных суспензий. Одни после удаления грубого клеточного дебриса путем быстрого и высокого центрифугирования. Другие после обработки ферментами и ультрацентрифугирования, после элюции 0,6 - 0,8 М растворами фосфатного буфера с кальций-фосфатной колонки и последующего диализа. Вирусные суспензии были вынесены на столы с коллоидными подложками, контрастированы 1% раствором фосфорно-вольфрамовой кислоты (ФВК), доведенной с помощью 1N раствора NaOH до pH - 7,2.

Для изучения структуры вируса в тонких срезах, клетки культур были собраны через 9, 12, 24, 48, 72 час после инфицирования. Моновиды клеток фиксировали 1% раствором OsO₄, забуференном по Палладе в модификации Колфилда. Обезвоживали в спиртах в возрастающей концентрации, контрастировали 1% раствором уранилнитрата. Заклаивали в метакрилаты и резали на ультрамикротоме LKB 4800 A.

Препараты, приготовленные из вирусных суспензий и тонких срезов клеток исследовали при помощи электронного микроскопа модели JEM 5U.

Вирусные частицы, наблюдаемые в негативно контрастированных препаратах, в проекции имели характерную для герпес-структуру. Большинство из них обладало тремя основными структурными компонентами — нуклеоидом, располагающимся в центральной части, капсидом, окружающим нуклеоид, и оболочкой. Во всех препаратах наблюдалось широкое морфологическое

разнооб-
ме, раз-
бался с
сидов,
оболоч-
ли без
у части
«полны
«полны
капсид
турпы и
называ-
заполн-
лишень
действи
кажущ-
шо сох
нуклео-
метром
стоял в
кругу с
Между
тому,
далее
до 200
лены с
встреч-
зий. У
тограф
чению
чению
которо-
В т
вания
ядер
24 - 26
лого ви
мя наб
штол-
как и
пообра-
сферич-
жающе
обла-
мембра
были с
лись в
мембра
вах на

ушали в небольшом замораживании — от ируссодержащую суспензию дифференциально осаждали в растворе фосфорной кислоты и трипсином 20 мин при 37°С с кислот и белка. Образовали осадок суспензии подвергали хроматографии, адсорбировали в объемах 0,001 М раствором 0,6, 0,8 М разности количества иализированной воды и концентрировали

определяли (1) определение нуклеиновых кислот (количественным методом электронной микроскопии вирус обладал характерными тканевыми признаками.

ые образцы вирусной клеточной дебринии. Другие после заражения, после элиминации с кальций-фосфатными суспензиями были контрастированы кислотой (ФВК), рН — 7,2.

резцах, клетки культуры после инфицирования OsO₄ забульварда. Обезвоживали астировали 1% раствором платины и резали на

успензий и тонких срезов тонкого микроско-

ю контрастированную для герпеса тремя основными способами: аспологающимся в нуклеонд, и оболочке морфологическое

разнообразии частиц. Оболочка значительно варьировала в форме, размерах и структуральной целостности. Ее диаметр колебался от 1700 до 2100 А. Иногда наблюдались два и более капсидов, заключенных в одной оболочке. В некоторых частицах оболочка была разрушена. Значительное количество частиц были без оболочек, так называемые «голые» (Вайлди и др.). Как у частиц с оболочками, так и у частиц «голых» капсиды были «полными» и «пустыми». У капсидов, классифицированных как «полные», нуклеонды обладали структурным комплексом. Такие капсиды являются наилучшим доказательством внутренней структуры нуклеонды. Многие капсиды не содержали нуклеонды, так называемые «пустые». В таких случаях место нуклеонды было заполнено ФВК. Создавалось впечатление, что они полностью лишены структурного содержимого. Однако, остается неясным, действительно такие капсиды лишены нуклеонды или это только кажущееся впечатление. Капсиды во всех случаях обычно хорошо сохранялись и четко ограничивали пространство занимаемое нуклеондом. Оно имело гексагональную форму со средним диаметром 780 А. Капсид также имел гексагональную форму и состоял из 24 вытянутых капсидомеров, регулярно расположенных по кругу с интервалом около 30 А. Средний диаметр капсида 1060 А. Между «полными» и «пустыми» капсидами существуют, по-видимому, некоторые переходные формы. Иногда, например, наблюдались нуклеонды, в которых центральная зона, диаметром около 200 А или область между капсидом и нуклеондом были заполнены ФВК. Различные морфологические типы вирусных частиц встречались во всех обследованных препаратах вирусных суспензий. Ультрацентрифугирование, обработка ферментами, хромотография на кальций-фосфатной колонке способствовали увеличению морфологической однородности частиц, особенно увеличению числа «пустых» капсидов. Очистка приводила также к некоторому снижению инфекционности вирусных суспензий.

В тонких срезах клеток только через 12 час после инфицирования удавалось обнаруживать среди гранулярных участков ядер незначительное количество вирусных частиц. Через 24-26 часов и позже отмечалось резкое увеличение инфекционного вируса в клеточной и жидкой фракциях культур. В это время наблюдалось большое количество вирусных частиц в ядрах, цитоплазме и клеточных поверхностях. В тонких срезах клеток, как и в вирусных суспензиях отмечалось морфологическое разнообразие частиц. В ядрах вирусные частицы характеризовались сферическим нуклеондом диаметром 350—550 А с одной окружающей мембраной диаметром 750—850 А. Некоторые частицы обладали тройной мембраной и располагались среди ядерных мембран. Большинство цитоплазматических вирусных частиц были с тройной мембраной, диаметром 1250—1370 А и находились внутри вакуолей, образовавшихся, по-видимому, из ядерных мембран. На поверхности клеток, в межклеточных пространствах наблюдались частицы с одной и тремя мембранами. В яд-

р-
те-
п-
ах
ы-
ак
ти
ак
ие
к-
ак
до
ю
м,
со
о-
се
а-
о-
ю
А
н-
о-
т-
щ
н-
а-
н-
е-

о-
ю
з-
т-
э-
х,
к,
з-
ь
у-
ы
х
щ
т-
х
г-
г-
21

рах, цитоплазме, на поверхности клеток, окружающая нуклеонидная мембрана часто имела гексагональную форму. Во всех препаратах наблюдались частицы с неполными мембранами. Много вирусных частиц с маленькими нуклеоидами диаметром около 200 А. Кроме того, у некоторых частиц нуклеонид был различной плотности. Некоторое количество вирусных частиц были «пустыми».

Результаты показывают, что частицы вируса герпеса имеют ясный структурный комплекс, как в препаратах приготовленных из суспензий, так и в тонких срезах инфицированных клеток ФЭЧ. Морфологически различные типы вирусных частиц встречаются во всех препаратах, приготовленных из суспензий и тонких срезов клеток. Очистка вирусных суспензий приводит к увеличению морфологической разнородности частиц, особенно числа «пустых» капсидов, а также некоторому снижению инфекционности вирусных суспензий. Возможно, что частицы, не имеющие нуклеоида «пустые», являются неинфекционными формами.

ЭЛЕКТРОННОМИКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ СУБКЛЕТОЧНЫХ СТРУКТУР ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ БЕШЕНСТВЕ

К. А. ВЛАНГ
(МОСКВА)

Морфология субклеточных компонентов при патологическом состоянии организма представляет значительный интерес для выявления связей между нарушением структур и состоянием их функции.

В настоящем исследовании приводятся результаты сравнительного изучения данного вопроса на модели экспериментального бешенства, являющегося частным примером общей проблемы взаимодействия вируса и клетки при нейровирусных инфекциях.

Данная работа отражает результаты электронномикроскопического изучения измененных ядер и митохондрий нервных клеток при экспериментальном бешенстве в динамике развития инфекционного процесса. Исследованию подвергался вирусосодержащий мозг белых мышей. Приготовление материала и получение ультратонких срезов производилось по разработанной нами методике. Просмотр готовых препаратов, контрастированных уранил ацетатом, производился на электронном микроскопе JEM-5U.

В наших предыдущих работах, проведенных методом иммунофлуоресценции совместно с Н. Н. Соколовым, было показано, что специфический антиген вируса бешенства обнаруживается в ядре или в приядерной области инфицированных клеток.

Пр
инфи
ках. и
измер
котор
ной м
В
раже
та ме
ки, с
типов
В
литич
руете
стено
Зн
ине
ляющ
мой
Ес
внях
наход
видн
разбр
сти
удли
В
пара.
ренне
ной
альн
Расп
руша
бран
В
тивне
ине
прави
хондр
В
ния)
часть
чае
хондр
Те
контр
рован
ствия
ядрах

ток, окружающей нуклеоид с гональную форму. Во всех случаях с неполными мембранами и нуклеоидами диаметры нуклеоидов были раз- ными. Диаметр нуклеоидов вирусных частиц был

Вирус герпеса имеет форму, характерную для препаратов, приготовленных из инфицированных клеток. Вирусные частицы встречаются в суспензиях и тонких суспензиях, приводит к увеличению частиц, особенно численности, что способствует снижению инфекционности, но, что частицы, не имеющие инфекционными формами.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ

Э

Интерес при патологическом и интерес для вы- работок и состоянии на

яются результаты сравни- тельной модели эксперименталь- ной примером общей проб- лем при нейровирусных ин-

Электронномикроскопи- ческих исследований нервных клеток динамики развития инфек- ции, содержащий вирус- ный материал и получение ульт- раструктурной нами методи- кой с использованием уранил аце-

татов методом иммуно- цитохимии, было показано, что вирус обнаруживается в яд- рных клетках.

При электронной микроскопии ультратонких срезов мозга инфицированных животных было показано, что на первых сро- ках исследования (2—4 день после заражения) существенных изменений со стороны ядра не наблюдается, если не считать не- сколько увеличения пространства между внутренней и наруж- ной мембраной ядра.

В препаративной стадии инфекции (6—8 день после за- ражения) в ядрах больших пирамидальных клеток аммонова ро- га мышей отмечается незначительное набухание ядерной оболоч- ки, сопровождающееся в некоторых местах ее разрывом. Хрома- тинная сеть часто собирается в глыбки.

В препаратах, полученных из мозга мышей, забитых в пара- литической стадии заболевания, на 10 день инфекции, регистри- руется раздвоение ядерной мембраны и видимое утолщение ее стенок.

Значительный раздел исследований был направлен на изуче- ние цитоплазматического компонента клетки — митохондрий, яв- ляющихся, как известно, местом образования энергии, необходи- мой для жизнедеятельности клетки.

Если в контрольных срезах, полученных в аналогичных усло- виях обработки мозга незараженных животных, митохондрии находятся вблизи ядра, часто примыкая к нему, и имеют шаро- видную форму, то на 2—4 день после заражения митохондрии разбросаны по всей цитоплазме, чаще в непосредственной близо- сти к ядру. В эти сроки появляются первые единичные формы удлиненных митохондрий.

В незараженных клетках кристы митохондрий расположены параллельно и направлены в сторону ядра. Начинаясь от внут- ренней оболочки митохондрий, они не доходят до противополож- ной стороны. В некоторых митохондриях кристы образуют ради- альные лучи, обращенные к центру, но до него не доходящие. Расположение крист на первых сроках инфекции несколько на- рушается. В одних они направлены параллельно ядерной мем- бране, в других — ориентированы в сторону ядра.

В дальнейшем, на 6—8 день инфекции, отмечаются дегенера- тивные формы митохондрий. Наблюдается частичное исчезнове- ние крист, их фрагментация на отдельные участки, нарушается правильность их расположения. Двуконтурность оболочек мито- хондрий менее выражена.

В паралитической стадии инфекции (10 день после зараже- ния) резко увеличивается число дегенерированных митохондрий, часть из которых распадается. Во многих митохондриях отме- чается исчезновение крист или их набухание. В матриксе мито- хондрий можно видеть обрывки крист.

Таким образом на основании сопоставления микрографов контрольных срезов мозга с микрографами срезов мозга инфици- рованных животных, можно считать, что в результате взаимодей- ствия уличного вируса бешенства с чувствительной клеткой в ядрах последних возникают деструктивные изменения, морфоло-

тически проявляющиеся в резком нарушении их целостности, в изменении ядерного хроматина и в появлении на поздних стадиях инфекции язвений околоядерного отсека.

Постоящие данные находят свое подтверждение в опытах определения специфического антигена при бешенстве.

Глубокие изменения тонкой структуры митохондрий, с которыми связана ферментативная функция клеток, обеспечивающая цикл трикарбоновых кислот, позволяет думать, что короткое течение паралитической стадии заболевания бешенством связано с быстрым истощением энергетических ресурсов клетки и нарушением внутриклеточного дыхания.

МОРФОЛОГИЯ И НЕКОТОРЫЕ СВОЙСТВА ВИРУСОВ ГРИППА ЖИВОТНЫХ

И. А. ГРАФ, Г. А. СМЕРНОВА

(МОСКВА)

Все известные в настоящее время вирусы гриппа животных (свиней, лошадей, птиц) обнаруживают антигенное родство с вирусами гриппа человека типа А. В морфологическом отношении эти вирусы мало изучены; считается, что они также имеют идентичное строение с вирусами гриппа людей. В настоящей работе нами была поставлена цель сравнительного изучения морфологии вирусов гриппа сельскохозяйственных животных как в исходной культуральной жидкости, так и в очищенных препаратах при использовании различных методов очистки.

В опытах были использованы вирусы гриппа свиней (535, 1/15), лошадей (Equi — Прага — 56), уток (Кошице 56) и вирусы гриппа человека А — РР₈, А₁ — Пан, А₂ — эль, Алтай.

Вирусы размножали в 10—11-дневных куриных эмбрионах при заражении последних в аллантоисную полость соответствующим вирусом в дозе 1000 ИД₅₀. Эмбрионы инкубировали при 35° в течение 48 часов. В полученной аллантоисной жидкости определяли ГА, содержание белка, морфологию вирусов и их чувствительность к температуре, ультрафиолету и к воздействию протеолитических ферментов. Приготовление препаратов для электроинмикроскопического анализа проводили по методу теплового прикрепления непосредственно из вирусодержащей суспензии без дополнительной очистки и концентрирования.

Все изучаемые нами вирусы гриппа животных в исходной аллантоисной жидкости, так же как и вирусы гриппа человека типа А, характеризуются наличием сферических, удлиненных, нитевидных и гигантских форм (от 600 мμ и более). Применявшаяся методика негативного контрастирования позволила выявить структуру оболочки, характерную для миксовирусов. Однако, при

дета
тей.
рус
мом
дру
тей.
физи
руш
метр
Для
вид
иног
фор
вид
Г
кур
нат
руса
руш
и не
Д
амм
инф
сви
при
мом
тиче
бе о
О
сефа
и ут
шаде
лись,
вать

А

А
РНК
Хорб
что
синте

лении их целостности, лении на поздних ста-
1.
тверждение в опытах бешенстве.
митохондрий, с кото-
еток, обеспечивающая
ать, что короткое те
бешенством связано с
ов клетки и наруше-

СТВА ВИРУСОВ

гриппа животных
енное родство с ви-
гическом отношении
также имеют иден-
3 настоящей работе
изучения морфоло-
животных как в ис-
щенных препаратах

свиной (535, 1/15),
56) и вирусы грип-
ай.

куриных эмбрионах
юсть соответствую-
инкубировали при
гонской жидкости
гию вирусов и их
у и к воздействию
препаратов для
ти по методу теп-
содержащей сус-
ирования.

ых в исходной ал-
иппа человека ти-
удлиненных, ните-
1. Применявшаяся
зволюла выявить
усов. Однако, при

детальном изучении вирусов животных выявлен ряд особеннос-
тей, характерных для каждой группы исследуемых вирусов. Ви-
рус гриппа лошадей характеризуется значительным полиморфиз-
мом, особенно среди нитевидных форм, которые в отличие от
других вирусов, имеют неодинаковый диаметр по всей длине ни-
тей. Оболочка частиц рыхлая, крайне не стойкая к воздействию
физико-химических факторов, поэтому целостность ее легко на-
рушается. В препаратах присутствуют крупные образования диа-
метром до 500 мк с волокнистой структурой, лишенной оболочки.
Для гриппа уток характерно присутствие большого числа ните-
видных форм, часто переплетающихся. Причем нитевидные тела
иногда распадаются на сферические, образуя цепочковидные
формы. Оба штамма свиного вируса имели меньшее число ните-
видных тел с преобладанием гигантских форм.

При очистке методом адсорбции на формализированных
куриных эритроцитах вирусы гриппа свиной и уток сохраняли
нативную структуру и форму частиц, тогда как в препаратах ви-
руса гриппа лошадей было обнаружено значительно число раз-
рушенных частиц, что свидетельствует о непрочности оболочки
и необходимости подбора более щадящего режима очистки.

Дробное фракционирование вирусной суспензии сульфатом
аммония давало препараты с высоким гемагглютинирующим и
инфекционным титром. При работе этим методом вирусы гриппа
свиной и уток не претерпевают видимых повреждений оболочки,
при этом препараты характеризовались меньшим полиморфиз-
мом, преобладают сферические формы, нитевидные тела прак-
тически отсутствуют. Вирусы гриппа лошадей и при этом спосо-
бе очистки имели значительное число поврежденных частиц.

Обессоливание полученных препаратов проводили с помощью
сефадекса Г-25, при этом в препаратах вируса гриппа свиной
и уток повреждение частиц не имело места. Вирусы гриппа ло-
шадей при прохождении через колонку с сефадексом поврежда-
лись, поэтому для обессоливания этого вируса лучше использо-
вать диализ.

АНТИБИОТИК АКТИНОМИЦИН Д КАК ВИТАЛЬНЫЙ КРАСИТЕЛЬ И ФЛУОРОХРОМ

В. М. ЖДАНОВ и Ф. И. ЕРШОВ

(МОСКВА)

Актиномицин Д широко применяется как ингибитор синтеза
РНК на ДНК-матрицах (Рич и др., 1960; Гольдберг и др., 1962;
Хорбес и др., 1963). В работах последних лет было установлено,
что концентрации актиномицина, полностью подавляющие био-
синтез всех трех типов РНК клетки не влияют на репродукцию

ряда РНК-содержащих вирусов, таких как: вирусы полиомиелита, Мейто, Сендай, венесуэльский лошадиного энцефаломиелита и болезни Ньюкаста (Барри и др., 1962; Франклин и Балтимор, 1962; Циммерман и др., 1963; В. М. Жданов и А. Г. Букринская, 1963; Ф. И. Ершов, В. М. Жданов и А. А. Царева, 1964). По данным Р. Б. Хесина (1964) циклическая группа актиномицина Д внедряется в ДНК клетки и повышает прочность связи ее парных нитей.

Способность актиномицина Д формировать стабильные комплексы с нуклеиновыми кислотами и поглощать ультрафиолетовые лучи в области, близкой к спектру поглощения нуклеиновых кислот, побудила нас испытать этот антибиотик в опытах прямого фотодинамической инактивации. В качестве модели был выбран вирус венесуэльского лошадиного энцефаломиелита (ВВЭ), белковая оболочка которого проницаема для витальных красителей (Н. В. Каверин, 1964).

Было установлено, что при действии видимого света (27000—30000 люксов) на смесь ВВЭ актиномицина Д (2γ/мл) в течение 1 часа инактивируется от 68 до 82% вируса. При увеличении концентрации антибиотика до 20γ/мл степень инактивации возрастает на 3—4 порядка, в то время как контакт вируса с антибиотиком в темноте не изменяет титра вируса. Скорость фотодинамической инактивации подчиняется экспоненциальному закону и при соблюдении стандартных условий опыта может быть выражена при помощи следующего уравнения:

$$K = \frac{2.3}{t} \lg \frac{P_0}{P}, \text{ где}$$

P_0 — исходная концентрация вируса, K — константа скорости инактивации, в мин⁻¹, P — количество вируса через t мин облучения.

Представляло интерес определить, приобретает ли ВВЭ светочувствительность при культивировании в присутствии антибиотика. С этой целью сразу же после массового заражения фибробластов куриного эмбриона, в питательную среду вносили актиномицин Д в концентрации 2γ/мл. Полученный «урожай» облучался видимым светом в течение 1 часа, после чего производилось титрование вируса с помощью метода бляшек под агаром с добавлением р-ра Хенкса, лошадиной сыворотки, куриного эмбрионального экстракта и Трис-буфера по нашей прописи. Облучение ВВЭ приводило к инактивации 88—93% вируса. Возможно, именно с приобретением светочувствительности связана малая устойчивость потомства ВВЭ, полученного из клеток обработанных актиномицином, что было обнаружено нами ранее, но оставалось необъясненным.

Следует особо подчеркнуть, что константы скорости инактивации при прямом (фотодинамический эффект) и «непрямом» (приобретение светочувствительности) действия актиномицина

пред
их с
стой
(сро
С
ВВЭ
25 с
Ч
виру
ры с
лич
приз
щих
Г
ково
(чув
тимс
са
обет
дейс
С
от д
нейт-
Н. Е
тя и
Д
нару
втор
ном
акти
с па
было
мы и
П
денц
тые
гран
фикс
пиды
пред
твори
неват
васте
О.
окрас
тибис
сивис
уступ
жевы

вирусы полноцелого энцефаломелитиса (ВЭЭ) и Бальсана (А. С. Бурдонский, 1951). По данным актиномицина Д есть связь с пар-

стабильные комплексы ультрафиолетовых лучей с клеточными структурами были обнаружены (ВЭЭ). Белые красители

видимого спектра актиномицина Д (2 мкг) вируса. При увеличении дозы актиномицина Д контакт вируса с клетками. Скорость фотодинамического воздействия может быть

понижена скорости через 1 мин облу-

гает ли ВЭЭ светом в присутствии антибиотика зараzenia фиброblastов в отношении актиномицина Д облучения производных под агаром фотки, куриного нашей прописи. 13% вируса. Воздействие связано с клетками облучено нами ранее.

скорости инактивации и «непрямом» актиномицина

представляет характер связи антибиотика с РНК вируса в обоих случаях. Приобретение светочувствительности было весьма слабым при облучении и инкубации при температуре двух месяцев перед облучением.

Скорость инактивации заметно возрастала при облучении ВЭЭ ультрафиолетовыми лучами (лампа БУФ-15, расстояние - 25 см, время облучения - от 10 сек до 10 мин).

Часть бляшек, формирующихся под агаром после облучения вируса обработанного актиномицином Д, имеют крупные размеры (до 5-6 мм в диаметре) в отличие от обычных бляшек, величина которых составляет в среднем 1,5-2 мм. Однако этот признак не является стабильным и утрачивается при последующих пассажах вируса, выделенного из подобных крупных бляшек.

Приведенные данные свидетельствуют о проницаемости белковой оболочки вирионов ВЭЭ для молекул актиномицина Д (чувствительность к фотодинамической инактивации) и необратимости связи этого антибиотика с нуклеиновой кислотой вируса (приобретение стойкой светочувствительности). Последнее обстоятельство может быть использовано при изучении взаимодействия вируса с клетками.

Следует особо отметить отличие в действии актиномицина Д от других витальных красителей (акридинового оранжевого и нейтрального красного), в присутствии которых, по данным Н. В. Каверина, ВЭЭ не приобретает светочувствительности хотя и подвергается прямой фотодинамической инактивации.

Другим свойством актиномицина Д, которое нам удалось обнаружить, является способность этого антибиотика вызывать вторичную флуоресценцию. Клетки, фиксированные формалином и окрашенные свежеприготовленными водными растворами актиномицина, исследовались под люминесцентным микроскопом с набором светофильтров ФС-1, СЗС-7 и БС-8. При этом можно было обнаружить однородное бледно-зеленое свечение цитоплазмы и ядрышек и коричневатое свечение ядер.

После обработки препаратов РНК-азой, однородная флуоресценция цитоплазмы и ядрышек исчезает и выявляются зеленые гранулы, которые по числу и локализации соответствуют гранулам липидов, выявляемых с помощью фосфина 3 R. При фиксации препаратов подкисленным спиртом, растворяющим липиды, указанные гранулы не обнаруживаются. Это позволяет предположить, что водные растворы актиномицина Д легко растворяются в липидах. После обработки клеток ДНК-азой коричневая флуоресценция ядер исчезает и вся клетка прокрашивается однородно-зеленым.

Опыты с нуклеазами указывают на специфический характер окраски клеток актиномицином Д, однако, использовать этот антибиотик как флуорохром вряд ли целесообразно, т. к. интенсивность получаемой флуоресценции крайне мала и во много раз уступает свечению препаратов, окрашенных акридиновым оранжевым или фосфином 3 R.

бо-
ма
ев

ивн

ия
де-
зе-
от
ю-
ж.
м-
Д
а-
у-
се
о-

Д
и
им
о-

б-
гь
и-
ш
м
ю
з-

с-
т-
т
н
г-
т
г-
г-

р
г-
г-
з
г-

17

ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ В РАЗВИТИИ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ

В. И. НОСИК
(МОСКВА)

Для изучения процессов влияния окислительного фосфорилирования на развитие вирусных инфекций был применен 2,4-динитрофенол (ДНФ), вызывающий разобщение процессов дыхания и сопряженных с ним реакций окислительного фосфорилирования в клетке.

Изучению подвергались инфекции, вызываемые различными ДНК- и РНК-содержащими вирусами (аденовирус тип 5; вирус герпеса, вирус венецуэльского энцефаломиелимита). Исследования проводили как на одной клеточной системе, чувствительной к различным вирусам, так и на различных тканевых системах, инфицированных одним вирусом.

Проведенные исследования показали, что разобщение процессов дыхания и сопряженных с ними реакций окислительного фосфорилирования, являющихся основными источниками энергетических связей клетки, не препятствует размножению изучаемых вирусов, если ДНФ берется в относительно небольших концентрациях, достаточных однако для разобщения данных процессов.

При изучении аденовирусной инфекции было установлено, что постоянное присутствие ДНФ не влияет заметным образом на развитие инфекции; и несмотря на резкие морфологические изменения клеток через 17-20 часов в ядрах обнаруживались характерные оксифильные, Фельген-положительные включения. Титры вируса были лишь немного ниже, чем в соответствующих контрольных культурах.

Накопление вируса герпеса в присутствии ДНФ в дозе 10^{-5} происходит в тех же количествах и на те же сроках, что и в контрольных препаратах, и количество бляшкообразующих единиц вируса на 1 мл было одного порядка — $2,4 \times 10^5$ БОЕ в контроле и $4,6 \times 10^4$ БОЕ в присутствии ДНФ.

При воздействии на клетки очень высоких концентраций ДНФ (10^{-2} М) в течение часа перед заражением различного вируса вели себя по-разному. Если в культурах, контактированных с ДНФ и инфицированных аденовирусом, на фоне резких морфологических поражений клетки удавалось проследить размножение вируса, то во многих опытах с вирусом герпеса отмечалось заметное подавление его синтеза. Данные, полученные при изучении РНК-содержащего вируса (исследования с вирусом венецуэльского энцефаломиелимита были проведены совместно с Ф. И. Ершовым) показали, что ДНФ в дозе 10^{-5} М мало влияет на синтез инфекционного вируса; увеличение концентрации ДНФ до 5×10^{-4} М приводит к подавлению синтеза вируса. Действие

ДНФ
нения
за тот
сы гли
Так
виях р
есть в
ввиду
дтес
актер

Изу
мена в
гриппа
сводящ
конден
све АТ
Гри
процес
о дыха
Выя
различ
на тка

Опр
ности и
ним ис
(Джил
1963).
С по
росы, с

ЬНОГО ВИТИИ

льного фосфорилирования 2,4-дифосфатов дыхательной цепи фосфорилирования

в семье различных вирус тип 5; вирус а). Исследования свидетельствуют к различным системам, инфи

азобобщение процес- нсительного фос- ками энергетиче- но изучаемых ви- льших концентра- ьных процессов.

у установлено, что тым образом пе- риферические из- наруживались ха- е включения. Тит- е соответствующих

ДФ в дозе 10^7 ках, что и в конт- азующих единиц БОЕ в контроле

их концентраций м. различного ви- контактированных ле резких морфо- ить размножение а отмечалось за- нные при изуче- : вирусом вене- ы совместно с М мало влияет центрации ДНФ руса. Действие

ДФ на развитие вирусных инфекций не зависит от происхож- дения культур одноклеточных и млекопитающих, несмотря на то факт, что в одноклеточных клетках заметно усилены процес- а дыхания.

Таким образом, полученные данные показывают, что в усло- виях разобщения процессов окисления и фосфорилирования, то- ешь в условиях выключения 34 и 38 макроэргических связей, об- руживающихся при окислении одной молекулы глюкозы, происходит о- та инфекционного вируса, способного вызвать развитие ха- рактерной инфекции.

НЕКОТОРЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ СОСТОЯНИЯ ЭНЕРГЕТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ В ТКАНЯХ ПРИ ГРИППОЗНОЙ ИНФЕКЦИИ

Л. Л. ТРОФИМОВА, Л. А. КУЗЬМИНСКАЯ,
Е. М. МИРОНОВ, Л. В. АКСЕНОВА

(КИЕВ)

Изучено состояние некоторых показателей энергетического об- мена в миокарде и печени белых мышей, зараженных вирусом гриппа А (PR-8). Выявлены нарушения в углеводном обмене, сводящиеся к изменению активности ферментов гликолиза и на- зультатно количества гликогена. Отмечены изменения в количе- стве АТФ (повышение — в миокарде, понижение — в печени).

Гриппозная инфекция вызывает нарушение окислительных процессов, проявляющееся в уменьшении интенсивности тканево- го дыхания и снижении активности пирогосфатазы тканей и крови.

Выявленные сдвиги свидетельствуют о глубоком нарушении различных механизмов, лежащие в основе энергетического обмена тканей при экспериментальном вирусном гриппе.

К МЕХАНИЗМУ ФЕРМЕНТАТИВНЫХ СДВИГОВ ПРИ ВИРУСНОЙ РЕПРОДУКЦИИ

Д. Б. ГОЛУБЕВ, В. К. СИМАНОВСКАЯ, Е. П. ЗВЕРЕВА

(ЛЕНИНГРАД)

Определение ферментативной активности культуральной жид- кости инфицированных вирусами тканевых культур является од- ним из методов изучения взаимоотношений вирусов и клеток (Джилберт, 1963; Д. Б. Голубев, 1963; Аллисон и Санделин, 1963).

С помощью этого метода могут быть решены различные воп- росы, связанные с индикацией и идентификацией вирусов.

ж-
ря
с-
ю-
то
б-
ят
а-

Причины изменения ферментативной активности культуральной жидкости при вирусной репродукции неясны. Для изучения этих явлений в детальной работе проводили определение ферментативной активности культуральной жидкости на единицу объема и тканевого гомогената на мг белка в сопоставлении с показателями вирусной репродукции и результатами морфологических и гистохимических исследований при помощи люминесцентной микроскопии.

Изучение связи с вакцинным штаммом вируса паротита в культуре фибробластов куриного эмбриона. Определяли активность ферментов: ацетилцистамина, фосфофруктозазы, дегидрогеназы глюкозо-6-фосфата и лактикодегидрогеназы. Обнаружено, что в инфицированных клетках происходит увеличение ферментативной активности в расчете на мг белка. Так, например, фосфофруктозазы активность статистически достоверно возрастает в течение первых 24 часов после введения в ткань 1.000 инфекционных доз вируса.

Этот подъем предшествует развитию видимых при световой микроскопии цитопатических изменений и первых признаков синцитиеобразования, выявляемых при помощи люминесцентной микроскопии. В то же время он совпадает с началом роста инфекционного титра вируса, т. е. с началом активной вирусной репродукции.

Ферментативная активность культуральной жидкости в каждый данный период вирусной инфекции определяется соотношением активности соответствующего фермента внутри клеток и проницаемости клеточных мембран для этого фермента.

ОСОБЕННОСТИ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА ВИРУСОВ ГРИППА А₂

Г. А. СМЕРНОВА, В. А. ИСАЧЕНКО, И. А. ГРАФ

(МОСКВА)

При очистке вирусов гриппа А₂ на гелях сефадексов, нами было обнаружено неодинаковое отношение различных вариантов к обессоливанию. Ингибиторорезистентный штамм А₂ — Эль, проходя через столб геля, почти полностью разрушался, благодаря этому были выявлены две гемагглютинирующие фракции с различным молекулярным весом. Ингибиторочувствительный вариант А₂ — Алтай при прохождении через гель сефадекса (как показал электронномикроскопический анализ) сохранял полностью свою нативную структуру. При этом в выходящих с колонки белковых фракциях была обнаружена только одна фракция, обладающая гемагглютинирующими свойствами. Это позволило предполагать, что изучаемые штаммы вируса гриппа А₂ имеют неодинаковую химическую структуру.

Г.
дого
дого
было
е.
Э
рр
ру
И
и
и
иО.
си ос
ченис
тей
субъ
лов
ки на
матог
ние
набл
хрома
микс
вующ
В
ке и
мощь.
5 ап
ни
отобр
и три
ков би
дующи
пеллю
Пр
содер
ной оч
грубы
казате

активности культураль-
ных клеток. Для изучения
активности ферментов
на единичных объектах
использовались с показате-
лями морфологических и
флуоресцентной микро-
графии вируса паротита и
гриппа. Определяли актив-
ность ферментов: глутамин-
амидазы. Обнаружено, что
увеличение ферментатив-
ной активности достоверно
возрастает в ткани 1000 инфеци-

руемых клеток при световой
микроскопии. Активность
ферментов увеличивается
с началом роста ин-
фекции активной вирусной ре-

продукции в жидкости в каж-
дой клетке. Соотношение
ферментов внутри клеток и про-
дукции фермента

ОСТАВА ВИРУСОВ

Э. И. А. ГРАФ

в сыворотках, нами
исследованы различные варианты
штамма A₂ — Эль, про-
зрачные, благодаря
растворимые фракции с раз-
личной чувствительностью вари-
антов сыворотки (как по-
казано) сохранял полностью
выходящих с колонки
почти одна фракция, об-
разованная. Это позволило
вируса гриппа A₂ имеют

При изучении химического состава очищенных препаратов ви-
руса гриппа A₂ — Эль, определяли содержание об-
щегликозидов, фосфора, азота, углеводов. В результате
анализа установлено, что по содержанию белка оба варианта близки,
а содержание его достигает 75—76%.

Эти варианты значительно отличались друг от друга по со-
держанию углеводов и липидов. В препаратах A₂ — Алтай об-
наружено до 18% липидов, тогда как у A₂ — Эль — 6,5%.

Неодинаковым было также и содержание углеводов: A₂ — Ал-
тай было в два раза богаче углеводами, чем A₂ — Эль. Причем из-
менения содержания углеводов в препаратах A₂ — Алтай 0,6% углево-
дов связано с большим количеством A₂ — Эль — 1,3%.

ХРОМАТОГРАФИЯ ВИРУСА ГРИППА НА ИОНООБМЕННИКАХ

Я. М. СЕЛИВАНОВ, Л. К. МЕНЬШИХ, Г. И. ТИХОНЕНКО
(МОСКВА)

Очистка и концентрация вирусосодержащего материала являет-
ся основной для проведения исследований, направленных на изу-
чение биологических, химических и морфологических особеннос-
тей как самой вирусной частицы, так и входящих в ее состав
субъединиц. С целью освобождения вирусов от посторонних бел-
ков и последних годы используются синтетические ионообменни-
ки на целлюлозной основе. Использование ионообменной хро-
матографии позволило получить высокоочищенные вирусосодержа-
щие суспензии отдельных вирусов животных и растений. Чрезвы-
чайно малочисленные данные, касающиеся использования метода
хроматографического фракционирования применительно к группе
грипповирусов, послужили основанием для проведения соответст-
вующих исследований.

В настоящей работе излагаются результаты опытов по очист-
ке и концентрации вируса гриппа A₂ (штамм Алтай/62) с по-
мощью метода колонной хроматографии. Из 9 ионообменников
(5 анионитов и 4 катионитов), различавшихся по степени адсорб-
ции анионной вирусосодержащей аллантоиновой жидкости, были
выбраны наиболее перспективные в этом отношении аминоэтил —
триэтил-аминоэтилцеллюлоза. Опыты по подбору ионообменни-
ков были проведены с помощью центрифугирования; все после-
дующие эксперименты осуществлялись в колонках с аминоэтил-
целлюлозой.

При сравнении адсорбции ионообменником исходной вирус-
содержащей суспензии и суспензии, подвергнутой предвари-
тельной очистке, путем ее фильтрации через гель севадекса g—25
(грубый вариант), было установлено, что в последнем случае по-
казатель адсорбции возрос в 16 раз. Осуществление таким путем

ви-
об-
ате
ки.

со-
об-

д-
из
зо-

т-
у-
с-
ив
т-
4-
5-
1-
1-
а
е

предварительного обессоливания и освобождения вирусосодержащей аллантоисной жидкости от низкомолекулярных белковых примесей позволило определить адсорбционную емкость аминокислоты, составляющую около 150 000 гемагглютинирующих единиц вируса гриппа на один грамм обменника.

Применение в качестве элюента 0,5 М раствора NaCl в 0,02 М фосфатном буфере (рН 7,2) позволяет провести полную десорбцию вируса с обменника и получить фракции с высокоочищенным (данные спектрофотометрии и определения количества белка по методу Лоури) и сконцентрированным вирусом гриппа.

Данные, полученные при проведении ступенчатой элюции, проходящей при возрастающей концентрации NaCl, вскрыли существенные особенности, касающиеся биологической неоднородности популяции вируса, и позволили установить во фракциях, полученных при элюции вирусосодержащего материала в 0,1—0,5 М растворы соли по меньшей мере два типа различных в биологическом отношении частиц вируса. При сравнительном электронномикроскопическом изучении материала было установлено, что частицы вируса, содержащиеся в таких фракциях, имеют и существенные морфологические различия.

В работе обсуждаются вопросы перспективности использования метода ионообменной хроматографии миксовирусов и интерпретируются полученные данные.

К ВОПРОСУ О РЕАКТИВАЦИИ ВИРУСА ЯЩУРА И РОЛИ БЕЛКОВОЙ ОБОЛОЧКИ В ЭТОМ ПРОЦЕССЕ

Е. Е. НИКИТИН, В. И. СЮРИН

Хорошо известны и экспериментально воспроизведены факты реактивации вирусов оспы в организме животных при одновременном введении инактивированного и живого вирусов. В настоящее время в свете открытия генетической роли нуклеиновых кислот механизм этого феномена связан с сохранением генетического материала реактивирующего вируса — его нуклеиновой кислоты.

Однако, по реактивации инактивированных вирусов в условиях неживой системы, имеется сравнительно мало фактических данных.

В 1954 году Нортон наблюдал реактивацию инактивированного фага путем суспендирования его в концентрированных растворах ацетата натрия или слегка кислых растворах пептона. Имеется ряд сообщений относительно реактивации микроорганизмов и фагов, облученных ультрафиолетовыми лучами (Ла-

зарже
к-амбе
В
даны
шакт
д-тра
В
на А.
0,2
0,
в виру
го вы
не об
еже
2,5—3
Ви
сокой
ны (X
реде,
рН 9,5
частот
лучами
поле у
Нет
ной
1000—
ности с
Ви
дуются
тивнос
виях
активн
Инт
внем д
0,1%—
рус, ре
к дейст
Под
част: пр
вирус,
В р
среды
ящюра,
то 1,5-
Част
Ультраз
рус, ре
Ульт
тозе 80
3—1418

сдения вирусодержа-
лекулярных белковых
ную емкость аминокис-
00 гемагглютинирую-
обменника.

створа NaCl в 0,02 M
ести полную дессорб-
ии с высокоочищен-
ения количества бел-
ым вирусом гриппа,
тушенчатой элюции,
и NaCl, вскрыли су-
дической неоднород-
овить во фракциях,
дего материала в
два типа различных
При сравнительном
аала было установ-
аких фракциях, име-
ия.

вности использова-
ксвирусов и интер-

ЯЩУРА И РОЛИ ПРОЦЕССЕ

произведены фак-
животных при одно-
ого вирусом. В на-
роли нуклеиновых
рашением генетиче-
его нуклеиновой

вирусов в услови-
мало фактически

ю инактивирован-
ентрированных ра-
растворах пептона.
ивации микроорга-
ыми лучами (Ла-

арже с сотр. 1954; Дюлбекко - 1949; 1950; Кельнер - 1951;
Дюлбекко - 1950; Барабой - 1961).

В настоящем сообщении нами приводятся экспериментальные
данные по реактивации вируса ящура вне организма животных,
инактивированного глубоким обезвоживанием, кислой средой и
ультрафиолетовыми лучами.

В опытах использовали лапифицированный вирус ящура ти-
па А. Глубокое обезвоживание вируса до остаточной влажности
0,2—0,4% достигали высушиванием в специальной среде. Инак-
тивацию вируса в кислой среде осуществляли путем добавления
к вирусодержащей суспензии 3% HCl до pH 5,0 и последующе-
го высушивания ее в темноте в течение 1 часа. Ультрафиолето-
вое облучение лампой БУФ-30 в дозе 8000 эрг/см² обеспечивало
снижение активности вируса в высушенном состоянии на
2,5—3 логарифма.

Вирус инактивированный обезвоживанием, обрабатывали вы-
сокой температурой, ультразвуком и в поле ультравысокой частоты
(УВЧ). Реактивацию вируса, инактивированного в кислой
среде, производили двукратным подщелачиванием среды до
pH 9,5, ультразвуком в дозе 6·10¹¹ эрг и в поле ультравысокой
частоты. Вирус, частично инактивированный ультрафиолетовыми
лучами, облучали синим светом, ультразвуком и в электрическом
поле ультравысокой частоты.

Установлено, что при высушивании вируса ящура до конеч-
ной влажности 0,2—0,4% активность его снижается в
1000—10000 раз по сравнению с вирусом, высушенным до влаж-
ности от 1 до 3% и более.

Вирус, инактивированный обезвоживанием, легко реактиви-
руется нагреванием при 60, 70 и 80° в течение часа, повышая ак-
тивность на 2—3 логарифма, а также при хранении его в усло-
виях +30 и +20° в течение 30—45 дней. Ультразвук и УВЧ ре-
активирующего действия не оказывали.

Интересно отметить, что вирус, реактивированный подогрева-
нием до 80° полностью инактивировался в течение 30 минут в
0,1%-ном растворе панкреатической рибонуклеазы при +37°. Ви-
рус, реактивированный другими методами, оказался устойчивым
к действию рибонуклеазы.

Полная инаktivация вируса ящура в среде с pH 5,0 насту-
пает при +20° в течение 40—60 минут. В опытах использовали
вирус, полностью инаktivированный при pH 5,0 в течение 1 часа.

В результате установлено, что быстрая двукратная смена pH
среды с 5,0 до 9,5 способствует частичной реактивации вируса
ящура, инфекционность которого, как правило, восстанавливается
до 1,5—2, а в отдельных случаях до 3—4 логарифмов.

Частичная реактивация вируса наступает также при действии
ультразвука в дозе 6·10¹¹ эрг. Рибонуклеаза не действует на ви-
рус, реактивированный сменой pH и ультразвуком.

Ультрафиолетовое облучение (длина волны 2800—4200 А) в
дозе 8000 эрг/см² частично инаktivует вирус в высушенном
3—1418

состоянии, снижая активность его на 2,5--3 логарифма. Увеличение дозы облучения не оказывает заметного эффекта.

Облучение инактивированного вируса синим светом в течение 10 и 60 минут частично реактивирует вирус, повышая его активность на 0,7--1,5 логарифма. Однако увеличение дозы облучения синим светом не усиливает реактивацию, а, наоборот, еще более снижает активность вируса.

Более отчетливое реактивирующее действие оказывает ультразвук, повышая активность инактивированного УФ-лучами вируса на 1,2--2 логарифма. Рибонуклеаза не действует на реактивированный вирус.

Полученные в наших опытах данные могут иметь эпидемиологическое и эпизоотологическое значение, а также раскрывает некоторые закономерности природы и устойчивости вирусов во внешней среде.

ПРИМЕНЕНИЕ МИКРОКИНОСЪЕМКИ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ЦИТОПАТОЛОГИИ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ

Ф. И. ЕРШОВ
(МОСКВА)

Микрокиносъемка представляет собой объективный метод регистрации разнообразных биологических процессов в динамике. Важным преимуществом которого является возможность многократного воспроизведения изучаемого процесса. Укорененное в десятки раз. Применение микрокиносъемки в вирусологии было начато в последние 5--8 лет и по времени совпало с внедрением в вирусологическую практику метода тканевых культур. Анализ исследований, посвященных использованию микрокинематографического метода в отношении различных систем вирус-клетка, позволяет судить о его возможностях и перспективах.

Можно выделить, по крайней мере, два основных аспекта применения микрокиносъемки в вирусологических исследованиях:

- 1) Изучение морфогенеза инфицированных клеток первичных и перевиваемых тканевых культур.
- 2) Исследование реакции клеток на воздействие вирусов.

Исследования первого типа, помимо самостоятельного значения являются необходимым предварительным этапом в любой работе, посвященной изучению морфологии-цитопатогенного действия вирусов. Следует особо подчеркнуть, что в ряде случаев в клетках нормальной культуры могут встретиться образования (включения, вакуоли, поликарионы и т. д.), которые необходи-

мо дифф
рокинос
вятия у
Сказан
В ре
есных
жидолиза
ной тка
не прик
гина ме
рье нап
кающие
Однако
мощью
ния с д
Вмест
ток раз
ных кл
клеткам
бенно л
дения
правило
зая вар
номинан
Наис
вируса
вируса
вать по
либели
изаимо
обли пр
энцефал
разруше
культур
8--12 ч
окончан
ных кле
ных дв
аул в да
ядер. Т
пающен
рита. В
20--24 ч
можно п
паралел
симплас
плазмы
Микр
ини-мор
3

эгарифиз. Увели
эффекта.

и светом в тече
повышая его ак
вещь дозы обду
а, наоборот, он

оказывает ульт
УФ-лучами в
следует на реакти

мень эпидемиоло
к и исследует их
вещи вирусом в

ИЗУЧЕНИЯ ЕКЦИИ

новый метод ре
в динамике,
ожность много
ускоренного в
русологии было
о с внедрением
ультур. Анализ
кинематографи
вирус клетка
зах.

вных аспекта
исследованиях:
деток первич-

е вирусов.
ельного значе
аном в любой
тогенного дей
яде случаев в
образования
рые необходи-

дифференцировать от вирусных поражений. Применение микрокиносъемки позволяет установить динамику появления и развития указанных образований, а иногда и судить о их природе. Кроме того можно проиллюстрировать двумя примерами.

В работе, проведенной нами совместно с лабораторией онкологических вирусов, изучался так называемый феномен ранней вакуолизации клеток первично-трипсицизированной кожи-мышечной ткани эмбрионов мышей. Было обнаружено, что сразу же после прикрепления к стеклу в цитоплазме некоторых клеток этого типа можно легко определить крупные и мелкие вакуоли, которые напоминают по морфологии подобные образования, возникающие после заражения клеток вакуолизирующим вирусом SV₄₀. Однако анализ характера процесса ранней вакуолизации с помощью микрокиносъемки позволил установить связь этого явления с дифференцировкой жировой ткани.

Вместе с А. Н. Мосоловым изучалась судьба погибших клеток различных культур. Было установлено, что часть отмирающих клеток и клеточного детрита утилизируются окружающими клетками с помощью фагоцитоза (цитофагии). Этот процесс особенно легко наблюдать в культуре мезэнхиматального происхождения. Фагоцитированные остатки дегенерировавшихся клеток, как правило, длительное время обнаруживаются в цитоплазме, образуя варьирующие по величине и форме включения, которые напоминают специфические вирусные тельца включений.

Наиболее важной областью применения микрокиносъемки в вирусологии является изучение динамики воздействия различных вирусов на клетки тканевых культур. Метод позволяет исследовать поведение инфицированных клеток с момента заражения до гибели и, таким образом, судить о морфологическом проявлении взаимодействия вируса и клетки. Подобного рода исследования были проведены в отношении вируса венесуэльского лошадиного энцефаломиелита (ВВЭ), вызывающего острую деструкцию и разрушение клеток большинства первичных и перевиваемых культур. Цитопатический эффект ВВЭ обнаруживался уже через 8-12 часов после заражения культур и по времени совпадал с окончанием цикла размножения этого вируса. В пораженных клетках отмечалось постепенное замедление вращательных движений ядер и перемещения цитоплазматических гранул, в дальнейшем развивается вакуолизация цитоплазмы и пикноз ядер. Процесс заканчивается округлением и быстро наступающей контракцией клеток с образованием бесформенного детрита. Все клетки культуры представляются погибшими к 20-24 часам после контакта с вирусом. В некоторых случаях можно наблюдать также явление симпластообразования, идущее параллельно гибели клеток. При этом в основе формирования симпластов лежит разрушение клеточных стенок и слияние цитоплазмы близлежащих клеток в единую массу.

Микрокиносъемка является незаменимым методом при изучении морфогенеза цитопатогенного действия вирусов. Она позво-

ляет выявлять взаимосвязь между различными этапами патологических изменений клетки и определять характерные особенности острой, субтотальной и очаговой деструкции клеток, зараженных вирусами разных типов.

Существенный интерес представляет также возможность использования этого метода для изучения отдельных проявлений взаимодействия вируса с клетками, как то:

- 1) определение механизма формирования симпластов;
 - 2) реакция цитоплазмы, ядер и ядрышек на репродукцию вируса;
 - 3) влияние вирусной инфекции на митотическую активность и подвижность клеток;
 - 4) динамика формирования специфических телец включений;
 - 5) действие различных ингибиторов вирусного роста и т. д.
- В качестве примера можно указать на исследования, посвященные выяснению механизма симпластообразующего действия вирусов.

В нашей работе, проведенной совместно с А. Г. Букринской в отношении парагриппозного вируса Сендай, было показано, что вскоре после массивного заражения этим вирусом ряда перевиваемых культур можно наблюдать начинающееся симпластообразование. Процесс протекал весьма бурно и заканчивался через 1-2 часа после заражения. Симпласты формировались в результате цитоагломерации и последующего слияния клеток.

Наая картина симпластообразования наблюдалась при микрокинематографическом изучении перевиваемой клеточной линии CA-SV₄₀-60, полученной В. И. Гавриловым из опухоли сирийского хомячка, зараженного вирусом SV₄₀. В этом случае основным механизмом формирования симпластов был амитоз без деления цитоплазмы. Иногда деление ядер приобретало характер фрагментации или неправильного почкования, что приводило к появлению симпластов со значительным количеством ядер, отличающихся по форме и размерам.

В заключение следует подчеркнуть, что микрокиносъемка имеет те же ограничения, что и фазово-контрастная микроскопия, поэтому любое исследование, в котором используется данный метод, должно сочетаться с комплексом других методов и, прежде всего, цитохимических и электронноскопических. Подобное сочетание методов представляется наиболее перспективным, т. к. позволяет изучать различные стороны цитопатологии вирусных инфекций.

МЕ

Мето-
 ие в из
 и возмо:
 телей пр
 етемы к.
 вирусам
 гической
 компоне
 Виру-
 логическ
 и клетк
 зовать в
 стоящей
 simplex)
 гивность
 робласте
 к получе
 препарат
 ре изото
 ряется в
 туре им
 гернесса
 мого на:
 низирова
 ки мечен
 Клетк
 воротки.
 ток за 2
 локислы
 (Na₂HPC
 ния кул
 дили та
 37° С кл
 ме пита
 нием пл
 зию раз
 центриф
 0,001 М
 ми (ДН
 зии в те
 нукленно
 тивные п

МЕТКА ВИРУСА ГЕРПЕСА P^{32} В КУЛЬТУРЕ ТКАНИ

О. И. БЕРЕЗИНА, А. Ф. БОЧАРОВ, Ю. П. ГОФМАН

(МОСКВА)

Метод радиоактивных индикаторов нашел широкое применение в изучении природы вирусов. Большая точность этого метода и возможности, которые он открывает побудили ряд исследователей применить метод радиоактивных изотопов для изучения системы клетка - вирус. Основные трудности работы с мечеными вирусами заключается в получении препаратов с высокой биологической и специфической активностью, очищенных от клеточных компонентов.

Вирус герпеса - удобная модель для изучения различных биологических, физических и химических отношений между вирусом и клеткой в течение инфекции. При этом целесообразно использовать вирус с включенным радиоактивным индикатором. В настоящей работе мы использовали вирус обычного герпеса (Herpes simplex) штамм Л2, отличающийся высокой биологической активностью в культуре первично-трипсинизированных клеток фибробластов эмбриона человека (ФЭЧ). При этом мы стремились к получению высоко очищенных и концентрированных вирусных препаратов с мечеными нуклеиновыми компонентами. При выборе изотопа учитывали, что радиоактивный фосфор активно внедряется в нуклеиновые кислоты и фосфолипиды вируса. В литературе имеются отдельные сообщения, относительно метки вируса герпеса в культуре ткани. Но нет сведений, касающихся изучаемого нами штамма, применения для этой цели первично-трипсинизированной культуры ФЭЧ и комбинированного метода очистки меченого вируса.

Клетки ФЭЧ культивировали в среде 199 с 10% бычьей сыворотки. В культуры, содержащие в монослое около 15×10^6 клеток за 24 часа до заражения вводили двузамещенный фосфорнокислый натрий с радиоактивным изотопом фосфором P^{32} (Na_2HPO_4) в дозе 10 $\mu\text{м/мл}$ питательной среды. После заражения культур 10^8 ЦПД₅₀ вируса в новую питательную среду вводили такое же количество P^{32} . Через 48 часов инкубации при 37°С клетки снимали со стекла и разрушали в небольшом объеме питательной среды однократным замораживанием — оттаиванием или в гомогенизаторе Поттера. Вируссодержащую суспензию разрушенных клеток подвергали циклу дифференциального центрифугирования. Осадок суспендировали в небольшом объеме 0,001 М раствора фосфатного буфера и обрабатывали нуклеазами (ДНКазой, РНКазой) и трипсином в расчете 1 мг/мл суспензии в течение 20 минут при 37°С с целью разрушения клеточных нуклеиновых кислот и белка. Оставшиеся ферменты и радиоактивные примеси частично отделяли от вируса ультрацентрифуги-

не-
то-
ма-
ли-
ми-
ю-
ых

ю-
ом
ль-
га-
ес
их-
б-
сь
их
о-
д-
а-
са
е-
й-
т-

и-
е-
р-
32
е-
о-
ли
е-
а-
н-
го
те
а-
н-
их
к-
и-
37

рованием. Осадок вируса суспендировали в 0,001 М растворе фосфатного буфера и подвергли хроматографии на кальций-фосфатной колонке. Вирус, адсорбированный на колонке промывали большими объемами 0,001 М раствором фосфатного буфера и затем элюировали 0,6-0,8 М растворами. Обе фракции, содержащие вирус в разных количествах, объединяли и диализовали против 1000 объемов дистиллированной воды. Диализ проводили при 4°C с периодической сменой воды до полного отмывания радиоактивных примесей. Очищенный вирус с целью концентрации ультрацентрифугировали.

Чистоту полученных вирусных препаратов определяли (1) методом спектрофотометрии (количественное определение нуклеинового и белкового компонентов), (2) методом Лоури (количественное определение белкового компонента), (3) методом электронной микроскопии. Инфекционность вируса проверяли заражением тканевых культур и интрацеребральным введением мышам. Меченый P³², очищенный и концентрированный вирус герпеса обладал высокой биологической и специфической активностью.

ПРОЦЕССЫ СИМПЛАСТООБРАЗОВАНИЯ В КЛЕТОЧНОЙ ЛИНИИ СА—SV 40—63—1 ПО ДАННЫМ МИКРОКИНОСЪЕМКИ

*В. И. БЛЮМКИН, В. И. ГАВРИЛОВ, Ф. И. ЕРШОВ,
Р. Г. ЗМИЕВА, Н. Н. КВОКОВ, Д. С. ЛЕВИНА
(МОСКВА)*

Из опухоли (полиморфной саркомы), вызванной у сирийского хомячка введением онкогенного вируса SV 40, было получена перевиваемая клеточная линия СА—SV 40—63—1 (В. И. Гаврилов, Н. Н. Васильева, Н. Н. Додонова, Р. Г. Змиева - 1963). Начиная с третьего пассажа, клеточные культуры этой линии подвергали цитологическому и цитохимическому изучению (В. И. Блюмкин, В. И. Гаврилов, Н. Н. Васильева, Р. Г. Змиева, 1963, 64). Было установлено, что для культур линии СА—SV 40—63—1 характерны резко выраженный полиморфизм, высокая митотическая активность, обилие атипических митозов, гетероплоидия, отчетливая тенденция к цитофагии, очень высокое содержание уродливых гигантских клеток (сегментоядерных и многоядерных).

Изучение поведения клеток с помощью метода цейтраферной микрокиносъемки показало, что образование многоядерных кле-

ток
ми.
шест
цито
зульт
Инои
ние
Част
обра
тибе
заю
Мно
особ
А
яени
био:
тур.
Г
СА
Г
СА—
плаз
Л
для
клет
К
тивн
ся
СА
при

МЕ

Ю. А.

И
руса
риро
кой с
вирус
ли, т.
сорби

в 0,001 М растворе
фенил на кальций
я на колонке про
м фосфатного бу
фен. Обе фракции
дистилят и дистил
ной воды. Дистил
ты до полного от
ай вирус с целью

пределяли (1) ме
деление нуклеи
Поури (количес
) методом элект
роверяли зараже
ведением мышам
ный вирус герпе
кой активностью.

КЛЕТОЧНОЙ ТЫМ

ШОВ,
ША

ой у сирийско
было получена
(В. И. Гаври
Змиева - 1963).
ы этой линии
му изучению
, Р. Г. Змиева.
ультур линии
полиморфизм,
еских митозов,
очень высокое
ентоядерных и
цейтраферной
оядерных кле-

ток в культурах СА-SV 40 63-1 происходит несколькими путя
ми. В части случаев образование многоядерных элементов осу
ществляется в итоге последовательных нормальных митозов без
цитотомии. Многоядерные клетки могут возникать также в ре
зультате многополюсных митозов без деления клеточного тела.
Иногда в конце митоза наступает цитотомия, но молодые дочер
ные клетки тут же сливаются между собой, образуя симпласт.
Часто наблюдаются процессы почкования ядра, приводящие к
образованию гигантских клеток, содержащих сотни мелких ядер,
либо к формированию многополюстных уродливых ядер. Наблю
даются также картины чередования митозов и почкования ядер.
Многоядерные клетки могут сливаться между собой, образуя
особенно массивные симпласты.

Метод центрифужной микроплоскостной съемки дает возможность объ
яснить все разнообразие многоядерных клеток и симпластов, на
блюдающихся на фиксированных окрашенных препаратах куль
тур линии СА-SV 40 63-1.

Прогрессивное развитие симпластов в культурах линии
СА-SV 40 63-1 происходит на ранних этапах культивирования.

Пролетены процессы дегенерации симпластов культур
СА-SV 40-63-1 (образование пузыревидных выпячиваний цито
плазмы, ретракция клеток).

Линия СА-SV 40 63-1 является весьма удачным объектом
для изучения различных вариантов образования многоядерных
клеток и симпластов.

Клетки СА-SV 40-63-1 обладают высокой-туморогенной ак
тивностью по отношению к сирийским хомячкам. Сопоствляют
ся цитологические картины однослойных культур линии
СА-SV 40-63-1 и срезов опухолей, развивающихся у хомячков
при введении им вируса SV 40 и взвеси клеток СА-SV 40-63-1.

МЕТОД ОЧИСТКИ И КОНЦЕНТРАЦИИ ВИРУСА СЕНДАЙ

Ю. А. СМЕРНОВ, Ф. Л. КИСЕЛЕВ, Т. И. ТИХОНЕНКО, А. Г. БУКРИНСКАЯ
(МОСКВА)

Необходимым условием для выделения и изучения РНК ви
руса Сендай является получение большого количества концент
рированного биологически активного вирусного препарата высо
кой степени очистки. Известные методы очистки и концентрации
вируса Сендай не являются оптимальными для поставленной це
ли, так как не позволяют провести полную очистку вируса (ад
сорбция — элюция на формализированных куриных эритроци-

ТЯ-
су-
без
Гу-
ли-
ер-
сет.
З К
ер.
по-
ер.
ая

ТЬ-
из-
ТЬ-

ни
из.
ур
о-

эм.
их

К-
т-
ш
эв
-1.

Я

Г-
Г-
о-
н-
э-
Г-
Г-
39

ЭКС

П
дован
спат
риом
У
ни ш
ни з
том
мляя
Б
рифе
центу
аних
шому
шей.
У
лей,
шитар
рах
перис
сносо
Эгот
о нек
что н
автор
Ус
ител
ных э
(для
3-4
шкуб
образ
нос з
от бо
торной
мисес
Мо
живот
тическ
вирусс

тах), разрушают вирус (высаливание сульфатом аммония, осаждения в изоэлектрической точке), не позволяют работать с большими объемами вирусосодержащей атлантонской жидкости (колоночная хроматография, дифференциальное центрифугирование). В процессе работы были использованы различные комбинации указанных методов. В результате был разработан следующий метод очистки и концентрации вируса Сендай из атлантонской жидкости, полученный через 3 суток после заражения 11-дневных куриных эмбрионов с титром 25600—51200 ГА в 1 мл и $10^{9.0} - 10^{10.0}$ ЕИД₅₀ в 1 мл:

1. Освобождение атлантонской жидкости от макрочастиц фильтрованием и центрифугированием на малых скоростях.
 2. Концентрация и частичная очистка вируса с помощью однократного цикла адсорбции и элюции на формализированных куриных эритроцитах. Элюцию проводили 0,05 М фосфатным буфером, рН 7,0 объемом в 5—10 раз меньшим первоначального.
 3. Колоночная хроматография. В качестве ионообменника из 14 смол (дауке 1, дауке 50, IRA 10, IRA 50, парааминобензилцеллюлозы, сульфатилцеллюлозы, р-целлюлозы, эктеолы, ДЕАЕ и ТЕАЕ — целлюлозы порошковых и волокнистых) был выбран анионит СЕАЕ — целлюлоза порошковая и волокнистая, на которой адсорбировалось 96—99% вируса с последующей 100% элюцией. Колонку с волокнистой ТЕАЕ — целлюлозой насыщали вирусом, промывали 0,05 М фосфатным буфером, а затем 0,2 М NaCl на фосфатном буфере. Вирус элюировали 0,3—1 М NaCl на фосфатном буфере. Почти весь вирус элюировали во фракции 0,3 М и 0,4 М NaCl. Пики фракций содержали 400000—800000 ГА/мл и $10^{9.0} - 10^{11.0}$ ЕИД₅₀/мл. При определении белка по Лоури и величин поглощения УФ (Е 240, 260, 280) выявилось четкое соответствие их кривых с кривой гематглютинирующей активности.
- Получение двух фракций вируса при элюции 0,3—0,4 М NaCl позволяет думать о гетерогенности вируса Сендай, однако соотношение ГА/ЕИД₅₀ этих фракций было одинаково. В настоящее время этот вопрос исследуется.
- В итоге был получен препарат вируса Сендай, содержащий в 200 раз меньшее количество белка по сравнению с исходным препаратом, концентрированный в 10 раз и более, и инфекционной активностью $10^{10.0} - 10^{11.0}$ мл, содержащий 200000—400000 ГА мл.
4. Осаждение вируса из фракций с помощью ультрацентрифугирования на 40000 g 30 минут. Осадки суспендировали в минимальном объеме 0,14 М NaCl с 0,005 М ЭДТА. Из полученного препарата выделяли РНК.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ДАННЫЕ ПО СРАВНИТЕЛЬНОМУ ИЗУЧЕНИЮ ВИРУСНЫХ ГЕПАТИТОВ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

А. К. ШУБЛАДЗЕ, Н. Ф. БАРИНСКИЙ, В. А. АНАНЬЕВ

(МОСКВА)

При сравнительном изучении вирусных гепатитов были использованы вирусы инфекционного гепатита собак, гепатита мышей, гепатита уток, герпеса, желтой лихорадки, лимфоцитарного хориоменингита, экстремелли.

Удалось установить, что фекально-оральный способ передачи инфекций имеет основное значение при гепатите мышей. И если здесь нельзя провести полную аналогию с вирусным гепатитом человека (ЭГБ), то некоторое сопоставление результатов является полезным.

Была также показана возможность внутриутробной передачи инфекции при вирусных гепатитах. Вирус проходит через плаценту беременной мыши и накапливается в теле плода в больших концентрациях. Процесс ведет к гибели плода и значительному проценту мертворождаемости (до 70%) у беременных мышей, зараженных вирусом гепатита мышей.

Установлено в опытах с использованием вируса гепатита мышей, гепатита уток, герпеса, вирусов желтой лихорадки, лимфоцитарного хориоменингита, экстремелли, что в наибольших титрах вирус накапливается не только в печени, но и в мозгу экспериментальных животных и куриных эмбрионов при различных способах ведения их: внутрибрюшинном, через рот, подкожно. Этот опыт с перечисленными выше вирусами позволяет судить о некоторой энцефалотропности вирусов, вызывающих гепатит, что находит подтверждение в клинических наблюдениях ряда авторов при болезни Боткина.

Установлено, что вирусы при гепатитах накапливаются в значительной концентрации в печени зараженных животных и куриных эмбрионов задолго до клинических проявлений заболевания (для желтой лихорадки и лимфоцитарного хориоменингита — за 3—4 суток до начала клинических проявлений заболевания при инкубационном периоде в 6—7 суток). Период вирусемии, таким образом, также сдвигается. Такие наблюдения имеют определенное значение как для практики более раннего выделения вируса от больных эпидемических гепатитом, так и для ранней лабораторной диагностики эпидемического гепатита с помощью биохимических тестов, выявляющих такие поражения печени.

Морфологическое изучение печени и мозга экспериментальных животных и куриных эмбрионов показало разнообразные некротические и воспалительные изменения, подтверждающие данные вирусологического обследования.

Использование вируса гепатита собак (ИГС) и гепатита мышей как модели для сравнительных исследований при гепатитах человека и животных позволило установить общность патогенеза инфекции при вирусных гепатитах. Совместно с Б. К. Беспрудиным была изучена закономерность патоморфологических изменений в органах зараженных животных. Полученные результаты хорошо соответствовали данным секционного обследования проб биопсии при эндемическом гепатите Боткина у людей.

На модели ИГС и гепатита мышей выявлена высокая контагиозность вирусных гепатитов при естественном заражении животных, наличие большого количества стертых и инвазивных форм заболевания, провоцирующая заболевание роль рентгеновского облучения.

В опытах сравнительного серологического обследования сывороток больных ЭГБ и сывороток иммунных животных подтверждено наличие антигенного родства между вирусом ИГС и аденовирусами, выявляемого с помощью РСК и РПГ, но не в реакции биологической нейтрализации цитопатического эффекта вируса в культуре ткани. Роль вирусов аденогруппы по крайней мере в патогенезе инфекции подтверждена в последние годы в опытах В. А. Апаньева, Р. М. Абиевой, Керим-Заде прямым выделением вирусов аденогруппы из крови больных ЭГБ.

Изучение биологических свойств вирусных гепатитов, установление спектра чувствительных к каждому вирусу культур тканей позволило установить ряд общих приемов для их выделения.

Использование предложенной ранее для выделения вирусов ЭГБ культуры ткани почки эмбриона человека, а также перевиваемой линии клеток Детройт-6 позволило В. А. Апаньеву и А. К. Шубладзе с сотрудниками выделить около 200 штаммов вирусов, этиологическая роль которых при ЭГБ изучается.

К ВОПРОСУ ВЕДЕНИЯ ВСЕСОЮЗНОЙ КОЛЛЕКЦИИ ВИРУСОВ

Л. Л. ФАДЕЕВА, А. И. ПЫРИКОВА, Л. С. ЯКОВЛЕВА

(МОСКВА)

Широкое развитие в нашей стране вакцино- и серопротекции, а также массовое проведение серологических исследований при инфекционных заболеваниях как для диагностических, так и эпидемиологических целей ставит вопрос о наличии в Государственной коллекции вирусов стандартных штаммов представителей различных групп вирусов как эталонов.

Начиная с 1956 г. в Институте вирусологии им. Д. И. Ивановского АМН СССР ведется работа по созданию коллекции основных представителей вирусов — возбудителей заболевания человека, животных, птиц и растений. В настоящее время в коллек-

цию вкл
вирусов

1. Virotl
2. Rhinc
3. Derm
1. Botki
5. Polyu
6. Frfor

7. Buny
8. Brasi
9. Aviol

10. Pneu
11. Polyt
12. Syncy
13. Polyc
14. Aden
15. Later
16. Neur
17. Borre

Из 5

имеется
ные шта
ные стан

Больш
рациона
антели

Для
разработ
и стандар

Особ
иши виру
ческих с
шофиль.

групп ви
вания с

сушиван
туре — 1
продолж

Прим
иввали е
возможн
ставлена

В пре
шивании

По

и гепатита м
и при гепатита
ность патогенез
Б. К. Беспр
тогических изме
ные результаты
обследования
на у людей,
высокая конта
заражении жи
и индарапные
роль рентгенов

следования с
вотных подтвер
ом ИГС и ад
Г, но не в ре
ского эффек
ны по крайне
следние годы
те прямым вы
ЭГБ.
титов, установ
культур тка
выделения.
селения вирус
также первы
А. Апаньеву в
о 200 штаммо
зучается.

ПЛЕКЦИИ

КЛЕВА

серопротек
исследований
тических, так
и в Государ
з представите

Д. И. Иванов
лекции основ
евания чело
емя в коллек

чно включены все основные представители следующих семейств вирусов*

1. Virothricaceae — Энтеровирусы
2. Rhinophilaceae — Риновирусы
3. Dermaphilaceae — Вирусы ящура
4. Botkiniaceae — Вирусы гепатита
5. Polyvectaceae — Энцефаломиелиита лошадей
6. Frgonaceae — Клещевые и комариные энцефалиты, а также желтой лихорадки
7. Bunyamwergaceae — Буниамвера
8. Brasiliaceae — Ортхока, Каранару, Митрукуку и др.
9. Aviolfaceae — Вирусы саркомы Рауса, птичьего лимфоматоза
10. Pneumotropiaceae — Вирусы гриппа
11. Polynosaceae — Группа кори
12. Syncytiaceae — Респираторные синцитиальные
13. Polyomaceae — Паповавирусы
14. Adenoxenaceae — Аденовирусы
15. Latentiaceae — Группа герпеса
16. Neuroroyclaceae — Группа бешенства
17. Borreliotaceae — Группа оспы.

Из 500 видов, описанных в мировой литературе, в коллекции имеется 250 видов, более 1000 штаммов вирусов. Это оригинальные штаммы, выделенные на территории СССР, и международные стандарты.

Большое внимание в музейном деле уделялось разработке рациональных методов пассирования, индукции, консервации и длительного хранения штаммов.

Для индукции вирусов в лаборатории музейных штаммов разработаны методики приготовления диагностических антигенов и стандартных сывороток.

Особенно большое значение придавалось вопросам консервации вирусов с целью длительного сохранения исходных биологических свойств штаммов. Разработаны стандартные методики лиофильного высушивания и стабилизаторы для большинства групп вирусов. В качестве благоприятных режимов для высушивания большинства вирусов можно рекомендовать режим высушивания продолжительностью 22 часа (16 часов при температуре — 18—20° и 6 часов при комнатной) и скоростной режим продолжительностью четыре часа при комнатной температуре из замороженного состояния.

Применяемые режимы лиофилизации и стабилизаторы обеспечивали высокое качество высушенных препаратов и давали возможность длительно их хранить. Часть этих материалов представлена в таблице.

В процессе изучения динамики поведения вирусов при высушивании и хранении был выявлен ряд закономерностей.

* По номенклатуре вирусов. Жданов В. М., Гайдамович С. Я.

Вид вируса	Вирусосодержащий материал	Инфекционный титр в Log LD ₅₀		Время хранения при T° 14°C (срок наблюдения в годах)	Инфекционный титр к концу хранения в Log LD ₅₀
		до сушки	после сушки		
1	2	3	4	5	6
Грипп А1 (Пай)	Аллантоисная жидкость	6,5	6,74	14	4,5
В (Кри С (1233)	-	6,74	6,5	12	5,0
А (Шкл)	-	7,24	7,74	5	2,24
А2-21	Тканевая культура	8,4	7,6	10	3,6
А (Шкл)	-	5,74	5,5	5	4,5
А1 (Пан)	-	6,0	5,5	10	5,5
Д (Sendai)	Аллантоисная жидкость	7,2	7,0	10	5,5
Клещевой энцефалит*	Мозговая культура	7,74	7,24	4	7,5
-	Тканевая культура	8,36	7,8	7	7,5
-	Аллантоисная жидкость	5,8	5,5	8	4,83
Японский энцефалит	Мозговая к-ра	5,59	5,59	7	5,74
EEE	-	7,4	7,4	6	7,33
WEE	Тканевая культура	7,11	7,49	6	6,77
Semliki	Мозговая культура	6,9	6,7	3	7,0
Oribosa	Мозговая культура	6,9	7,08	8	6,7
Bunyamwera	Тканевая культура	8,5	8,25	4	7,5
Spondweni	Мозговая культура	4,0	4,01	3	3,2
Uganda S	-	7,2	7,0	4	7,0
Aren	Мозговая культура	7,8	7,1	4	6,5
Корь	-	5,5	5,6	4	5,0
Коксаки	Аллантоисная жидкость	5,41	6,15	4	5,74
В-2	Тканевая культура	3,6	3,5	10	2,0
В-3	-	4,7	4,5	6	3,6
В-4	-	6,00	2,16		
ЕСНО 1	-	4,5	3,5		
2	-	6,0	4,0		
3	-	5,5	4,5		
1	-	5,5	3,66		
5	-	8,0	4,0		
6	-	4,0	3,5		
7	-	6,5	5,17	1	4,5
8	-	6,5	4,5	1	5,33
9	-	5,5	2,33		
11	-	6,66	4,0	6 мес.	4,5
12	-	5,33	2,32		
13	-	7,46	5,5		
	-	5,33	2,5	8 мес.	3,0
	-	7,5	6,5		

*) При лиофилизации и хранении аналогично ведут себя все штаммы этой группы

1
17
20
25
27
В полном
I
II
III
Виру
сущин
виру
Мозг
ка, при
вах пит
стаб
реды
еют
Алла
апли
вах до
транше
Ткан
без доба
не свн
культу
ста. С
ливан
Нами
стаблиз
шь при
по све
новой ср
культур
альной
онного т
положит
вирусам.
положени
Нами
полномне
вируса до
или саха
происходи
до 2,5. Хр
ратуре +
блюдения

после сушки	Время хранения при T +4°С (срок наблюдения в годах)	Инфекционный титр (по методу Мелникова)
4	5	6
6,77	11	1,7
6,5	12	1,7
7,74	3	2,24
7,6	17	3,6
7,5	5	4,5
7,3	19	5,5
7,0	19	5,5
7,24	4	7,5
7,8	7	7,5
5,5	8	4,85
5,59	7	5,74
7,3	6	7,31
7,19	6	6,77
7,7	3	7,6
7,08	8	6,7
7,25	4	7,7
7,01	3	8,2
7,0	4	7,6
7,1	4	6,5
7,6	4	5,0
7,0	4	5,0
7,15	4	5,74
7,5	10	2,6
7,3	6	3,0
16		
5		
0		
5		
66		
0		
5		
17	1	4,5
5	1	5,33
33		
0	6 мес.	4,5
32		
5		
5	8 мес.	3,0
5		

дуют себя все штаммы

Продолжение табл.

Тканевая культура	1	6
6,33	4,5	
4,43	1,66	
7,03	4,5	
6,5	4,5	
4,66	3,5	
5,33	3,66	4,0
5,33	5,67	

Вирусом незначительно переносят высушивание. Для успешного сушения вирусов необходимо подобрать благоприятную среду и оптимальный режим высушивания.

Мозговые суспензии вирусов можно сушить без наполнителей при этом происходит незначительное снижение инфекционного титра в пределах 1. Очевидно, сама мозговая ткань является стабилизатором. Однако, добавление сахарозо-желатиновой среды (10% + 1%) или снятого молока (20%) практически полностью сводит к нулю выживание вирусов.

Аналогичные культуры вирусов также можно сушить без стабилизаторов, инфекционный титр при этом снижается в пределах до 1. Добавление сахарозо-желатиновой среды уменьшает отмирание вируса.

Тканевые культуры вирусов плохо переносят высушивание без добавления стабилизаторов. Инфекционный титр в этом случае снижается до 3-4. Лучшим стабилизатором для тканевых культур вирусов является снятое молоко и сахарозо-желатиновая среда. Они резко снижают выживаемость вирусов во время высушивания.

Нами замечено, что не всегда можно применять в качестве стабилизатора нормальную сыворотку животных, например, бычью сыворотку. Так, бычью сыворотку можно успешно применять при высушивании тканевых культур вирусов энцефалитов, но по своему защитному действию она уступает сахарозо-желатиновой среде и снятому молоку. При высушивании же тканевых культур вирусов ЕСНО, Коксаки, полиомиелита добавление нормальной бычьей сыворотки ведет к резкому снижению инфекционного титра вплоть до полной гибели вируса. Можно было предположить, что применяемая сыворотка содержит антитела к этим вирусам. Однако, проверка сыворотки не подтвердила этого предположения.

Нами впервые отмечено, что вирусы ЕСНО, Коксаки тип В и полиомиелита можно успешно сушить, если к тканевой культуре вируса добавить в качестве стабилизатора снятое молоко (20%) или сахарозо-желатиновую среду (10% + 1%). В этом случае происходит снижение инфекционного титра в процессе сушки до 2,5. Хранение таких лиофилизированных суспензий при температуре +4°С не оказывает влияния на титр вируса (срок наблюдения один год).

52.

Нужно также отметить, что при равных условиях высушивания (режим высушивания и суспендирующая среда) тканевые культуры вирусов ЕСНО, Коксаки тип В и полиомиелита хуже переносят высушивание, чем тканевые культуры вирусов энцефалитов и миксовирусов.

В процессе хранения не было выявлено стабилизирующего влияния наполнителей на выживаемость сухих вирусов.

Министерство здравоохранения СССР придает большое значение пополнению государственной коллекции вирусов и с целью поощрения утверждает авторский диплом, который будет вручаться исследователю, выделившему штамм и после изучения сданного его в государственную коллекцию вирусов.

НОВЫЕ КРИТЕРИИ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ МИКСОВИРУСОВ

А. С. ГОРБУНОВА
(МОСКВА)

Расширение наших сведений о миксовирусах влечет за собой необходимость разработки последовательной их таксономической группировки (Эндрюс и Вортингтон, 1959; Уотерсон, 1962; А. С. Горбунова, Хоу Юнь-дэ, 1964 и другие). Так, на основании всестороннего изучения вируса Сендай сотрудник нашей лаборатории Хоу Юнь-дэ предложил вывести этот вирус из состава подгруппы парагриппозных вирусов и рассматривать его в качестве самостоятельного члена миксовирусов. По признаку высокой гемолитической активности вирус Сендай может быть объединен с вирусами болезни Ньюкасла и паротита. По данным Ченока с сотрудниками (1963) существенным критерием для дифференциации является отсутствие у вирусов гриппа цитоплазматических включений в клеточных культурах и наличие таковых у вирусов парагриппа. Однако С. Д. Иржановым и А. С. Горбуновой (1964) показано, что базофильные цитоплазматические включения легко обнаруживаются в клетках при условиях, способствующих накоплению неполного вируса гриппа в культуральной жидкости.

Новая группа миксовирусов (SA, DA, SV₅) была отнесена к подгруппе вирусов паротита — болезни Ньюкасла на основании выраженной способности вызывать специфическую сенсibilизацию эритроцитов в отличие от подгруппы гриппозных вирусов (Isacson et al, 1962). В то же время использование таннизированных эритроцитов позволило В. А. Исаченко, Л. И. Соковых (1963) и Р. И. Авроровой (1964) установить наличие сенсibilизирующего антигена у вирусов гриппа. Применение хроматографии открывает новые пути изучения критериев для подразделения миксовирусов на низшие разряды. Возникла необходимость пере-

смотреть
способе
для дл
бракци
изменя
различ
ство.

РЕПР

Вопр
(замин
ну обо
го и си
роорга
данные
возбуди
ной стр
будител
сов обр
намике
бракса
Рани
дню «пр
е. накоп
яют со
примун
ровых к
доказан
не сниж
Вопр
процессе
дается в
Оффисер
(Джейлс
По да
формы, т
вельза о
или рикк
ономоме
го, как
Электр
(1-2 μ).

х условиях высушива-
дая среда) тканевые
и люминисцентные
культуры вирусов энце-

о стабилизирующе-
х вирусов.
придает большое зна-
ни вирусов и с целью
который будет вручать
после изучения сла-
сов.

ИФИКАЦИИ

дусая влечет за со-
ной их таксономи-
и, 1959; Уотерсон,
другие). Так, на ос-
ай сотрудник нашей
этот вирус из со-
рассматривать его
усов. По признаку
ендай может быть
ротита. По данным
ам критерием для
усов гриппа цито-
турах и наличие
Д. Иржановым и
фильные цитоплаз-
в клетках при ус-
о вируса гриппа в

) была отнесена к
сла на основании
скую сенсibiliza-
ппозных вирусов
ние таннизирован-
А. Соковых (1963)
енсибилизирующе-
роматографии от-
дразделения мик-
обходимость пере-

считать ранее предложенные критерии и учесть вновь изученные
свойства миксовирусов с целью их прихвещения в качестве марке-
рской для внутригрупповой классификации. Рациональная класси-
фикация миксовирусов изнутри группел периодически возникающей
неоднозначности вирусов типа А, варианты которого резко
отличаются по биологической активности и химическому строе-

РЕ ПРОДУКЦИЯ И ПРИРОДА ВОЗБУДИТЕЛЯ ОРНИТОЗА (ХЛАМИДОЗОА)

И. И. ПЕРСКИН

(МОСКВА)

Вопрос о природе возбудителей группы орнитоза — трахомы
(хламидозов) остается пока не выясненным, а применяемый для
их обозначения термин вирусы считают условным. Не определе-
но и систематическое положение этих агентов среди других мик-
роорганизмов. Как известно, наиболее достоверно отличает ис-
точные вирусы от бактерий и риккетсий, механизм репродукции
и возбудителя. Элементарные тельца вируса орнитоза определен-
ной структуры и размера являются инфекционной единицей воз-
будителя, внедрение которых в клетку вызывает, через 12—14 ча-
сов образование в цитоплазме «ранних» включений (1—2 μ). В ди-
намике дальнейшего развития включений, изменяется их размер,
форма, структура и инфекциозность.

Ранние включения содержат РНК, затем они проходят ста-
дию промежуточного развития, когда выявляется РНК и ДНК
в тельце, достигнув конечной стадии развития они представ-
ляют собой колонии зрелых элементарных телец, содержащих
преимущественно ДНК. Наличие одного или двух типов нуклеи-
новых кислот в зрелых элементарных тельцах окончательно не
доказано. Известно, что отделение от элементарных телец РНК —
не снижает и их инфекциозность (Моулдер и др., 1963).

Вопрос о том, как возникают мелкие элементарные тельца в
процессе развития включений является дискуссионным. Обсуж-
дается возможность бинарного деления (Литвин и соавт., 1961;
Оффитер и Браун, 1960), эндоспоруляции или почкованием
(Джейлорд, Хигаши и др., 1959, Мисуи и др., 1962).

По данным этих авторов делятся крупные, т. е. не зрелые
формы, биосинтез которых не завершен. Деление таких частиц
нельзя отождествлять с простым, бинарным делением бактерий
или риккетсий. Всякое деление частиц пополам предполагает
одновременный и постоянный синтез всех компонентов частицы,
что, как будет показано ниже, опровергается фактами.

Электроноскопически крупные формы без четкой структуры
(1—2 μ), а также формы промежуточные (800—500 μm), не имеют

выраженной оболочки и нуклеоида и рассматривать их можно как частицы разной стадии организации и зрелости. Зрелые частицы (250—300 м μ в диаметре) или элементарные тельца имеют постоянную морфологию (двойную оболочку и электронноплотный нуклеонд спиралевидной структуры). Известно, что инфекционность культуры (зараженной вирусом менингопневмонии) возникает через 4 часа после достоверного увеличения содержания ДНК в инфицированной клетке (Хигаши и соавт., 1962). Раздельный во времени, синтез компонентов возбудителя орнитоза и трахомы был также доказан работами Полларда и Тамаи с соавт. (1961, 1962). Однако механизм репродукции хламидоза еще не сформулирован окончательно.

Изучая репродукцию вируса орнитоза, а в отдельных опытах и возбудителя трахомы, мы сопоставляли морфологические, физикохимические и автордиографические данные с данными инфекционности вируса в динамике его развития, (в клетках пересеваемых культур). В начальной стадии развития инфекции в клетках, примерно с 4 до 10 час., отмечено снижение синтеза ДНК хозяина. Во включениях синтез ДНК выявлен после 14 час. Синтезируемая РНК (в цитоплазме) была выявлена через 6—8 часов после заражения клеток, а в поздние часы отмечалась дивергенция синтеза РНК и ДНК (И. И. Терских, Я. В. Мамуль, О. М. Полова).

Подавление репродукции вируса антибиотиками проводили на ранней стадии инфекции и позже, в период не синхронного развития вируса в клетках. Через 10—24 часа, развитие в клетках «ранних» включений (РНК-содержащих) полностью подавлялось тетрациклином. В поздние часы включения, содержащие зрелые инфекционные элементарные тельца — не подавлялись тетрациклином. Таким образом тетрациклин не оказывал antiviralного действия не только на элементарные тельца вируса орнитоза (И. И. Терских, 1957, 1960), но и на те элементарные тельца, которые находились еще в клетке, (биосинтез которых уже завершен). Эти факты, наиболее четко показали, что механизм действия тетрациклина на возбудителя орнитоза и на бактериальные формы различный.

В результате собственных исследований и данных литературы, механизм репродукции хламидоза схематически можно представить следующим образом. После проникновения элементарного тельца в клетку (виropексис — Хигаши и др., 1962) и его дезинтеграции, высвободившаяся ДНК начинает редулицироваться (в геометрической прогрессии), подавляя вначале синтез ДНК хозяина. Уже с самого начала внедрившаяся частица ограничивается от окружающей цитоплазмы мембраной и окутывается матриксом, содержащим РНК. Завершение редуликации ДНК и композиция «новых» зрелых частиц — происходит не синхронно и во включении видны частицы, содержащие РНК только ДНК, и частицы, содержащие РНК и ДНК. Такие включения условно названы нами «промежуточные» (по степени зрелости).

ности).
де зав-
млютн
в орга-
уменьш
В соот-
между
витель
скаю
не д
клет
вест
риво:
телец
ает ко
Учи
дован
следук
не се
арует
Прису
оболо
ков, о
озоа,
антия,
ыми
Вс
ы о
рупу

Н

Че
то, Га
ружен
больш
ний вс
Од
рига
чему
пвири
Из
ратра:
1-1418

атривать их можно в эпитарные тельца (оболочку и электроны). Известно, что сом менингококкового увеличения (Хишаши и соавт.) и соавт. элементов возбудителя ботани Полларда и низм репродукции.

в отдельных опытах эрфологические, тельца с данными инт, (в клетках перестроения инфекции и снижение синтеза явлен после 14 часов выявлена через не часы отмечалась, Я. В. Мамуль.

тиками проводили не синхронного развития в клетках, остью подавлялось, держащие зрелые авлялись тетрацик, вал антивирусной вируса орнитоз арные тельца, которых уже завершено), низм действия тетрацик, альные формы

данных литературы эматически можно (и др., 1962) и его част редуцирование вначале синтезирующаяся частица от мембраной и окутывание редуликации — происходит не содержащие РНК ДНК. Такие включения» (по степени зрелости).

Конечная стадия организации частиц во включений, после завершения редуликации ДНК приводит к значительному увеличению оболочек и нуклеида, что в свою очередь приводит к организации определенной структуры элементарных частиц и уменьшению их размера, с содержанием преимущественно ДНК. В соответствии с этим, частицы более крупные (1-2 м) и «промежуточные» (800-500 м) являются еще не зрелыми и окончательно не сформированными, из которых мелкие формы возникают в результате «созревания» и организации структуры, после деления. В наших опытах культивирование вируса орнитоза в клетках, обработанных пенициллином, (действие которого, как известно, проявляется в нарушении формирования оболочки) приводит к задержке организации мелких форм элементарных частиц (микрофотографии), поэтому инфекционный титр достигает контроля, но с некоторым опозданием.

Учитывая известные данные и данные представленных исследований, в процессе репродукции хламидоза можно определить следующие этапы: стадию виропексенса, эклипсе — фазу, подавление синтеза ДНК хозяина в начальной стадии инфекции, синтез вирусной РНК и ДНК с разрывом во времени (дивергенция). Присутствие в частицах вируса элементов «бактериального» типа (оболочка) свидетельствует лишь о их происхождении от предков, общих с бактериями. С точки зрения эволюционной, хламидоза, можно считать организмами промежуточной ступени развития, которые, как и вирусы являются высокоспециализированными паразитами на уровне гена.

Все это разрешает нам характеризовать возбудителей группы орнитоза трахомы, как самостоятельную биологическую группу организмов с вирусным механизмом репродукции.

НЕКОТОРЫЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ РЕПРОДУКЦИИ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ТРАХОМЫ И ПАРАТРАХОМЫ

А. А. ШАГКИН, С. Р. БЕСКИНА

(МОСКВА)

Через 25 лет после бессмертного открытия Д. И. Ивановского, Гальбершtedтером и Провачеком (1907) впервые были обнаружены цитоплазматические включения в эпителии конъюнктивы больных трахомой, рассматриваемые авторами в качестве колоний возбудителя инфекции.

Однако потребовалось еще более полувека для установления ряда закономерностей развития агентов трахомы и паратрахомы, чему способствовала разработка методов их лабораторного культивирования.

Изучение этапов цикла развития возбудителей трахомы и паратрахомы на различных биологических моделях выявило тож-

дество морфологических превращений агентов в эпителии конъюнктивы инфицированных людей и обезьян и в эпителии оболочки желточного мешка куриных эмбрионов, зараженных лабораторными штаммами возбудителей. Эти исследования, проведенные с отечественными штаммами возбудителей трахомы («АВ»; «А₁В₁»; «Б») и паратрахомы («С») показали, что изученные агенты в клетке хозяина проходят сложный цикл развития. Использование гистохимических методов исследования в световом и люминесцентном микроскопе позволило установить, что проникающие в клетку ДНК-содержащие элементарные тельца дезинтегрируются в цитоплазме и вновь появляются в пораженной клетке после промежуточных этапов внутриклеточного развития по схеме: «предшественники» — инициальные тельца — элементарные тельца.

Биологическими опытами доказана неинфекциозность РНК-содержащего компонента «предшественников» и инициальных телес.

Характерной особенностью цитоплазматических включений, образуемых возбудителями трахомы и паратрахомы по сравнению с другими представителями так называемых атипичных вирусоз группы П.Т. является наличие углевод-содержащего компонента (гликогена), который имеет дифференциальное значение и может рассматриваться в качестве таксономического критерия.

ПРИМЕНЕНИЕ ТЕОРИИ ПУАССОНА ПРИ ИЗУЧЕНИИ ОБРАЗОВАНИЯ ИНФЕКЦИОННЫХ ЦЕНТРОВ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ФАГОВ НА БАКТЕРИИ

В. В. ЖЕЛТВАН
ДУЖГОРОД

В последнее время математические методы успешно применяются в биологических исследованиях (Г. Гамов, 1955, В. В. Чавчанидзе, 1958). Математическое моделирование может служить весьма важным средством более глубокого познания закономерностей биологических явлений.

Модель (математическая или физическая) должна быть проверена экспериментально. Исключения составляют вероятностные модели, на основании которых можно сделать выводы о реальном мире в терминах теории вероятностей (А. Эдвардс, 1963).

Распределение фаговых частиц на клетках после адсорбции строго подчиняется закону редких событий Пуассона (М. Адамс, 1961) и поэтому этот закон может служить моделью для изучения некоторых закономерностей взаимоотношения фага с клеткой.

Согласно закону Пуассона, распределение фагов на клетках зависит от их количественных соотношений, следовательно, количество образовавшихся инфекционных центров зависит от количества клеток, инфицированных фагами.

Если на 100 микробных клетках адсорбируется 10 фаговых

части
10 м
ток а
раже
центр
онны
цион
зова
колич
обри
ров
кона
опред
ессе.

П
бакте
ность
ванны
фагам
Пр
эмпи
цента
онном
работ
форму

множе
онных
 $P_t = P_0 - k$
 $P_0 - k$
Гра
сти от
экспон
На

ена
инфек
до 100.
Ис
личест
ессе
инфекци
фагов
венное
цпионо
происх
инфекц
иятен
щих в и

агентов в эпителии
безьян и в эпителии
рионов, зараженных
и исследования, про-
озбудителей трахомы
показали, что изучен-
ный цикл развития
следования в свето-
ило установить, что
элементарные тельца
влияются в поражен-
нутри клеточного раз-
ельные тельца — эле-
киозность РНК-со-
инициальных телец
ских включений, об-
хомы по сравнению
атипичных вирусом
ржающего компонен-
нальное значение и
ского критерия.

И ИЗУЧЕНИИ ЦЕНТРОВ АКТЕРИИ

успешно приме-
в, 1955, В. В. Чав-
е может служить
знания закономер-

должна быть про-
ляют вероятност-
ать выводы о ре-
А. Эдвардс, 1963).

после адсорбции
ссона (М. Адамс.
делью для изуче-
я фага с клеткой.
агов на клетках
тедовательно, ко-
з зависит от ко-

ется 10 фаговых

частиц, согласно закону Пуассона 9,5% клеток (т. е. около 10 микробов) будет заражено фагами. Если 10 микробных клеток адсорбируют 100 частиц фагов, все 10 микробов будут заражены фагами. В обоих случаях образуется 10 инфекционных центров. В первом случае количество образовавшихся инфекционных центров соответствует количеству участвующих в инфекционном процессе фагов, между тем как во втором случае образовавшиеся инфекционные центры составляют только 10% от количества адсорбированных фагов. Так как количество адсорбированных фагов и образовавшихся инфекционных центров можно легко определить экспериментально, применение закона Пуассона может быть использовано для количественного определения компонентов, участвующих в инфекционном процессе.

При помощи формулы Пуассона $P_n = \frac{n^r e^{-r}}{r^n}$ (где P_r — часть бактерий, адсорбирующих «г» фаговых частиц, «п» множественность инфекции составлены таблицы распределения инфицированных микробов в зависимости от множественности заражения фагами.

Применяя условные опыты (по Лапласу), мы составили эмпирические кривые образования инфекционных центров в процентах к исходному количеству фагов, участвующих в инфекционном процессе при данной множественности. На основании обработки этих показателей рассчитаны теоретические данные по формуле $a = \frac{P_r}{n}$; где P_r — доля инфицированных бактерий при множественности «п», «а» — процент образовавшихся инфекционных центров к исходному количеству адсорбированных фагов. $P_r = P_m - P_0$; где P_m — общее количество микробов в опыте, P_0 — количество незараженных клеток.

Графическое изображение показателей «а» при множественности от 0,1 до 100 представляет собой, как и следовало ожидать, экспоненциальную кривую.

На основании данных таблицы и полученной кривой составлена номограмма для определения процента образовавшихся инфекционных центров при множественности инфекции от 0,1 до 100.

Используя предложенную номограмму, можно рассчитать количество микробных клеток, участвующих в инфекционном процессе при различной множественности. Образование 94—63,2 инфекционных центров к исходному количеству адсорбированных фагов происходит при множественности от 0,1 до 1; соответственное уменьшение количества пятен, при исследовании адсорбционной смеси по Грациа, до и после адсорбции, от 63,2 до 10% происходит при множественности 1,0—10. При множественности инфекции от 10 до 100 фагов на клетку, уменьшение количества пятен по сравнению с исходным количеством фагов, участвующих в инфекционном процессе, составляет 10—1%.

**ОБ ИЗМЕНЕНИИ МИОЗИНА А И В В СКЕЛЕТНЫХ
МЫШЦАХ СОСУНКОВ БЕЛЫХ МЫШЕЙ, ЗАРАЖЕННЫХ
ВИРУСОМ КОКСАКИ АЗ**

**Ю. А. БАРИШТЕИН, Л. С. СМОЛНИЙ, А. М. ЗЫРИНА
(КНЕВ)**

Как показали наши предыдущие исследования (1963), в процессе перерождения мышечного волокна у сосунков, зараженных вирусом Коксаки А8, и у взрослых мышей, зараженных вирусом Коксаки А5, снижение содержания миозина А начинается уже через сутки после заражения. Этот процесс идет параллельно с морфологическими изменениями в мышечном волокне и выражается в потере им поперечной исчерченности, в изменении его тинкториальных свойств с появлением ранней базофилии саркоплазмы и в ее глянцевом превращении. Такие изменения тинкториальных свойств и нарушении структуры мышечного волокна связаны с деструкцией белковых комплексов мышечной клетки, в состав которой входит, как основные структурные белки, миозин А и В.

Так как основным морфологическим признаком экспериментальной Коксаки инфекции является поражение мышечного волокна скелетной мышцы, обусловленное, как считает большинство исследователей, митропностью вируса Коксаки, комплексное всестороннее исследование изменений в нем при помощи различных методов исследования, приобретает большое значение и будет способствовать правильному пониманию патогенеза таких повреждений и вызванных ими клинических проявлений инфекции.

Настоящее исследование было предпринято нами для изучения содержания миозина А и В в скелетных мышцах сосунков, зараженных вирусом Коксаки А3. Опыты ставились на 153 сосунках белых мышей, из которых 80 было заражено вирусом Коксаки А3 и 73 — служили в качестве контроля.

Животные заражались подкожно дозой в 0,03 мл прототипным штаммом вируса Коксаки А3, который в разведении 10^{-5} вызывал типичные параличи сосунков на 3-й день после заражения с летальным исходом.

Ежедневно в опыт брались две группы сосунков в возрасте до 24-х часов по девять в каждой. Животные первой группы заражались, второй — оставались в качестве контроля.

Из группы зараженных и контрольных сосунков ежедневно в течение трех дней, начиная с первого дня после заражения, брались по три сосунка; по одному для патоморфологического, и по два — для биохимического исследования. Сосунки забивались декапитацией, во время которой бралась кровь для исследования. У сосунков, предназначенных для биохимического исследования, после снятия кожи и выделения внутренних органов и передней лапки для гистологического исследования, препарировались на

...ду ск
...ни А
...мом 4,
...рН-9,0
...Кельда
...Туш
...ались
...створе
...ишнов
...ематов
...Сос
...клыми
...вторые
...интерес
...перкин
...аровов
...правил
...конечи
...было
...да вто
...количе
...нения
...четко
...Исс
...ное с
...на 32°
...ния у
...во сра
...на 32°
...вотных
...зараже
...снижае
...човног
...Най
...ных м
...саркоп
...кими
...логиче
...мы-в-т
...попере
...саркоп
...ки с р

В В СКЕЛЕТНЫХ ЦЕПЯХ, ЗАРАЖЕННЫХ И АЗ

А. М. ЗЫРИНА

исследования (1963), в про-
ду сосунков, зараженных
и, зараженных вирусом
на А начинается уже
еся идет параллельно с
ном волокне и выра-
юсти, в изменении ед-
ней базофилии сарко-
Такие изменения тинк-
ры мышечного волокна
ксов мышечной клетки
структурные белки, мо-

признаком эксперимен-
тажное мышечное во-
как считает большинст-
Коксаки, комплексно
м при помощи различ-
ольшое значение и бу-
ию патогенеза таких
: проявлений инфекции
нято нами для изуче-
ных мышцах сосунков.
тавились на 153 сосун-
ажено вирусом Кокса

в 0,03 мл прототипных
разведения 10^{-5} вызы-
шь после заражения с

т сосунков в возрасте
ые первой группы за-
контроля.

сосунков ежедневно в
после заражения, бра-
орфологического, и по-
осунки забивались де-
эвь для исследования.
ического исследования
х органов и передней
препарировались на

духу скелетные мышцы, из которых бралась одна навеска. Мио-
ин А и В выделялся повторной экстракцией шестикратным объе-
м 4,5% раствора хлористого калия на карбонатном буфере с
рН 9,0 и концентрация его определялась после сжигания по
мально с учетом белкового азота по Винклеру.

Тушки сосунков и органы животных, мышцы которых подвер-
лись биохимическому исследованию, фиксировались в 10% ра-
створе нейтрального формалина и опускались в парафин-целло-
люциновую проводку. Гистотопографические срезы окрашивались
азатоксилинэозином.

Сосунки через сутки после заражения становились несколько
слабее, у некоторых появлялись тремор и гиперкинезы. На
вторые сутки после заражения у сосунков появлялась атаксия,
неустойчивость и более выраженными становились тремор и ги-
перкинезы. К ним присоединялась сероватая окраска кожных по-
кровов. На третьи сутки после заражения у всех животных, как
правило, развивались парезы, у большинства — параличи задних
конечностей, уплощение заднего пояса, редко параличи передних
конечностей, иногда полная неподвижность животного. Диспное
стало более выраженным, как и цианоз кожных покровов. Уже
на вторые сутки после заражения у всех сосунков уменьшается
количество лейкоцитов, к концу третьих суток имеет место лейко-
пения. При гистологическом исследовании у всех сосунков был
четко выражен паренхиматозно-интерстициальный миоцит.

Исследование миозина показало, что содержание его через
вторые сутки после заражения у зараженных животных снижается
на 32%, у контрольных на 17%, на третьи сутки после зараже-
ния у зараженных животных — на 56% и у контрольных на 19%
по сравнению с содержанием его через сутки после заражения и
на 32% у зараженных сосунков и на 17% у контрольных жи-
вотных по сравнению с содержанием его на вторые сутки после
заражения. Общее количество миозина у зараженных сосунков
снижается больше за счет снижения миозина В-актомиозина, ос-
новного сократительного белка скелетной мышцы.

Найденное нами уменьшение содержания миозина в скелет-
ных мышцах говорит о структурных химических превращениях
саркоплазмы мышечного волокна, которые вместе с биохимичес-
кими методами исследования хорошо документируются и гисто-
логически. Эти структурные химические превращения саркоплаз-
мы в первые сутки после заражения выражаются в исчезновении
поперечной исчерченности и в нарушении тинкториальных свойств
саркоплазмы с появлением ее базофилии, а в более поздние сро-
ки с распадом мышечного волокна и превращением его в детрит.

МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ИНГИБИТОРОВ НА СИНТЕЗ ВИРУСА ОСПОВАКЦИНЫ И КЛЕТОЧНЫЙ МЕТАБОЛИЗМ

О. П. ПЕТЕРСОН, И. А. КОЗЛОВА, Л. А. МЕЛЬНИКОВА
(МОСКВА)

В настоящее время различные ингибиторы с успехом применяются для изучения обменных процессов в инфицированных клетках и установления взаимозаменяемости синтеза клеточных компонентов и ряда вирусов, а также фагов.

В данной работе изучалось действие актиномицина Д и интерферона на синтез вируса осповакцины (штамм дермовакцина) в культуре клеток куриных фибробластов и хорноналлантоисных оболочек куриных эмбрионов, а также на клеточный метаболизм. С помощью метода автордиографии, люминесцентной микроскопии и химического фракционирования изучалась динамика синтеза нуклеиновых кислот, белка, нуклеотидов в инфицированных и контрольных тканях. Проводились исследования по выяснению роли антиметаболитов в образовании неполных форм вируса.

В результате проведенных исследований было показано, что актиномицин Д даже в небольших концентрациях подавляет размножение вируса осповакцины в клетках куриных фибробластов.

В клетках, обработанных указанным ингибитором, синтез ДНК не задерживается по времени, но идет на более низком уровне по сравнению с контрольными необработанными культурами.

Заражение клеток вирусом вызывает стимуляцию синтеза клеточной ДНК на ранних сроках инфекции с последующим угнетением его.

В культуре, обработанной актиномицином, синтез специфического вирусного белка задержан и выражен менее интенсивно, чем в контроле.

Обработка клеток актиномицином Д не вызывает образования неполных форм вируса осповакцины.

В опытах с интерфероном было показано, что обработка клеток ингибитором до заражения также подавляет размножение вируса и угнетает синтез как вирусной ДНК и белка, так и клеточной ДНК.

Интерферон меняет обменные процессы клеток, подавляя включения радиоактивных изотопов во все исследуемые фракции (кислоторастворимую, нуклеиновые кислоты, белок), что особенно выражено в инфицированных клетках.

В культуре, зараженной вирусом осповакцины, но необработанной интерфероном, наблюдается увеличение захвата радиоактивного аденина С¹⁴ во все указанные выше фракции и, главным образом, в ДНК-фракцию, что отмечается уже с 6-и часов после заражения и увеличивается с удлинением срока инфекции.

и у
ген
воз
сте
пор
ант
чен
и а
соб
про
лиз

на
пас
ден
очи
фор
ные
роти
ням
Д

отно
ных
жит
ност
кро
анти
к а
порт
тка
сви
ляет
А
сывс
анти
кне
Е
твер
по о
там

IA СИНТЕЗ
.ЕТАБОЛИЗМ

ШКОВА

ВКЛЮЧЕНИЕ АНТИГЕНОВ ХОЗЯИНА В СТРУКТУРУ
ВИРУСНОЙ ЧАСТИЦЫ

П. Н. КОСЯКОВ, З. Н. РОВНОВА

(МОСКВА)

Различными методами исследования показано, что у вируса и у клеток, на которых развивается вирус, имеются общие антигенные компоненты. Однако, вопрос о том, входят ли антигены хозяина в саму структуру вирусной частицы или они являются следствием недостаточной очистки вирусных препаратов до сих пор остается спорным. Не решен также вопрос и о том, какие антигены хозяина включаются в состав вируса и каково их значение для биологической активности вируса, его иммуногенных и антигенных свойств. В настоящей работе мы поставили перед собой задачу подойти к решению некоторых из поставленных вопросов, применив методы сравнительного иммунологического анализа антигенной структуры вируса и клеток хозяина.

В работе были использованы две линии вируса гриппа типа А, штамм PR₈. Вирус куриного происхождения длительно пассажировался на куриных эмбрионах, вирус мышинного происхождения прошел 15 пассажей на легких мышей. Обе линии вируса очищали путем многократной (4-8 раз) адсорбции и элюции на формализированных эритроцитах человека группы О. Иммуны сыворотки получали от кроликов и морских свинок. Сыворотки адсорбировали эритроцитами барана и нормальными тканями куриного эмбриона, фиксированного формалином.

Проведенные нами исследования показали, что в антигенном отношении вирус гриппа состоит из двух принципиально отличных друг от друга антигенных веществ. Одно из них принадлежит собственно вирусу, второе — обладает антигенной специфичностью клеток хозяина. Опыты показали, что при иммунизации кроликов очищенным вирусом образуются антитела к различным антигенам: к поверхностным структурам вируса (антигену — V), к антигенам куриного эмбриона (хорионаллантоисной оболочке и нормальной аллантоисной жидкости) и к антигену, общему для тканей куриного эмбриона, эритроцитов барана и почки морской свинки. Этот последний антиген, как показали наши опыты, является гетерогенным антигеном Форсмана.

Методом последовательной адсорбции удается из иммунной сыворотки адсорбировать гетерофильные антитела Форсмана и антитела к антигенам куриного эмбриона, сохраняя специфические противовирусные антитела.

Наличие антигена Форсмана в составе вируса было подтверждено как обнаружением в иммунных кроличьих сыворотках по отношению к 4-му элюату вируса агглютининов к эритроцитам барана, так и положительной реакцией связывания компле-

уса
ти-
ны
тся
сих
не
на-
ых
ред
во-
на-

ги-
но
ж-
са
на
ли-
зо-
са-

ом
ич-
те-
ич-
ин
им
)
,
и
ля
ой
в-

ой
и
с-

д-
их
и-
е-
55

мента иммунной сыворотки к эритроцитам барана с V- антиге-
ном вируса, а также спиртовой вытяжкой из него.

Второй антигенный компонент хозяина, обнаруженный у ви-
руса, в отличие от антигена Форсмана, не переходил в липопи-
ные растворители и разрушался под действием трипсина. Этот
антиген вируса обладал видовой специфичностью того хозяина,
на котором вирус развивался. Видоспецифический антиген кури-
цы был обнаружен у вируса, культивированного на хорионаллан-
тоисной оболочке куриного эмбриона. В состав, вируса, пассиро-
ванного в легких мышей, входил антиген, специфичный для тка-
ни мышц. Опыты показали, что этот антиген хозяина легко
утрачивается вирусом. Даже однократный пассаж вируса мышеч-
ного происхождения на куриных эмбрионах сопровождался утра-
той специфического мышечного антигена и приобретением антиге-
на, специфичного для тканей куриного эмбриона.

Опыты показали, что антигенные вещества хозяина обнару-
живаются в поверхностных структурах вируса — антигена — V
вместе с гемагглютинином вируса, свидетельствуя о сложном
комплексном составе этой фракции антигена. Во внутреннем
антигене вируса S антигенные вещества хозяина не были обна-
ружены.

Наши исследования показали, что указанными выше антиге-
нами не ограничивается антигенный состав вируса. В вирусную
частицу включается антиген, подобный групповому антигену
A- человека. Источником происхождения этого антигена у виру-
са является, по-видимому, также хорионаллантоисная оболочка
куриного эмбриона, на которой размножался изученный нами
вирус и которая содержит большое количество этого антигена.

**ПОДАВЛЕНИЕ РЕПРОДУКЦИИ ВИРУСА ПУТЕМ
СПЕЦИФИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ НА КЛЕТКУ**

Т. А. ПОСЕВАЯ, П. Н. КОСЯКОВ, М. С. БЕРДИНСКИХ

(МОСКВА)

Работами ряда исследователей было установлено, что репродук-
ция вируса может быть значительно подавлена или даже полно-
стью приостановлена не только путем непосредственного воздей-
ствия на вирус, но и путем специфического воздействия на саму
чувствительную клетку, где происходит размножение вируса.
Этот феномен был осуществлен при помощи различных антицел-
люлярных сывороток. Ингибирующее действие антицеллюлярных

сыворо
в сате
их в
Во
вируса
чувств
ней. С
живот
ангны
емые
и
виде
Ен
механ
из ли
манот
менен
решен
иссле
решен
В
свор
аллан
вуса о
Пр
ицел
вируса
ка от
ангия
актив
100,00
Тот
лось н
ни ви
На
фрнко
воспри
облад
зведе
1-2-4
4-5 р
качев
Воз
ворото
ворети
получе
послед
и симу
видово

арана с V — антиге-
но.

обнаруженный у в-
переходил в липон-
ем трипсина. Этот
остью того хозяина,
ский антиген кури-
го на хорниоаллан-
ив, вируса, пасса-
цифичный для тка-
ен хозяина легко
саж вируса мыш-
провождался утра-
обращением антиге-
на.

а хозяина обнару-
са — антигена — V
ествуя о сложном
в. Во внутреннем
ина не были обна-

ыми выше антиге-
руса. В вирусную
повому антигену
антигена у виру-
тоисная оболочка
изученный нами
ю этого антигена.

СА ПУТЕМ А КЛЕТКУ

ИНСКИХ

но, что репродук-
или даже полно-
твенного воздей-
действия на саму
оужение вируса.
личных антицел-
нтицеллюлярных

ывороток было доказано впервые в отношении бактериофага,
а затем этот феномен удалось наблюдать и в отношении живот-
ных вирусов: саркомы Рауса, полиомелита, Кокеаки, ЭХО и др.

Возможность подавлять в той или иной степени репродукцию
вируса путем непосредственного специфического воздействия на
чувствительную клетку в настоящее время не вызывает сомне-
ний. Однако неясно, распространяется ли этот феномен на все
животные вирусы или он ограничивается лишь некоторыми изу-
ченными представителями их. Так же не изучены еще и необхо-
димые для реализации этого феномена условия, что, по-видимо-
му, и лежит в основе противоречивых результатов, получаемых
иногда даже в отношении одного и того же вируса.

Еще в меньшей степени представляется изученным вопрос о
механизме действия антицеллюлярных сывороток. Ограничивает-
ся ли их функция поверхностными рецепторами клетки, как ду-
мают одни исследователи, или они вызывают более глубокие из-
менения в их биосинтетических процессах, что и приводит к на-
рушению репродукции вируса, как предполагают другие
исследователи — этот вопрос также еще не получил своего раз-
решения.

В настоящей работе была поставлена задача изучить действие
ыворотки, специфичной в отношении тканей нормальной хорнио-
аллантоисной оболочки куриного эмбриона, на репродукцию ви-
руса осповакцины.

Проведенные нами исследования показали, что введение ан-
тицеллюлярной сыворотки в эмбрион за 1—3 часа до инокуляции
вируса приводило к резкому снижению числа бляшек на оболоч-
ках опытных эмбрионов, по сравнению с контрольными, обрабо-
танными нормальной кроличьей сывороткой. При этом профи-
тактическое действие сыворотки проявлялось в отношении
100.000—1.000.000 бляшкообразующих доз вируса.

Тормозящее действие антицеллюлярной сыворотки проявля-
лось и при введении ее в эмбрион через 2—3 часа после инокуля-
ции вируса (в отношении 1000 бл/обр. доз).

Нами были получены иммунные сыворотки с двойкой специ-
фичностью — как в отношении возбудителя, так и в отношении
восприимчивой клетки. Такие сыворотки, как показали опыты,
обладали наибольшей ингибирующей способностью. Так, при
введении этих сывороток (в разведении 1:10) в эмбрион через
1—2 часа после инокуляции вируса осповакцины они были в
4—5 раз более эффективны, чем цельная антивирусная или анти-
тканевая сыворотка в отдельности.

Возможность ингибирующего действия антицеллюлярных сы-
вороток на репродукцию вируса представляет не только большой
теоретический интерес. С этим фактом необходимо считаться при
получении специфических диагностических сывороток, поскольку
последние могут содержать антитела к клеткам культур тканей
и симулировать таким образом нейтрализацию вирусов другой
видовой специфичности.

ИЗУЧЕНИЕ СТРУКТУРЫ ГЕМАГГЛЮТИНИРУЮЩИХ АНТИГЕНОВ ВИРУСОВ ГРИППА ТИПОВ А и В

Ф. К. ГОНСОВСКИЙ

(МОСКВА)

В работе использовались эталонные штаммы вирусов гриппа типов А: (А, А1, А2), штаммы PR-8, Шклявер, Пан, Ned, 2292 1832 и В штаммы (Lee, Мнх).

Из аллантоисных культур этих штаммов получили V антиген по методу Лиф и Хейлль. Суспензии V — антигена с высокой концентрацией гемагглютиниана (10.000—20.000) подвергали обработке 2% дезоксихолатом натрия с целью дальнейшей дезинтеграции гемагглютиниана.

Ко всем трем видам препаратов (элюат, V- антиген, V- антиген, обработанный дезоксихолатом натрия) были приготовлены иммунные сыворотки на морских свинках.

В перекрестных реакциях (РЗГА, РСК, нейтрализация in ovo) со всеми сыворотками и антигенами проведен сравнительный анализ с целью изучения гемагглютинирующего антигена вирусом гриппа типа А, один из которых является общим у А, А1, А2.

СВОЙСТВА НУКЛЕИНОВОЙ КИСЛОТЫ ВИРУСА, ВЫДЕЛЕННОГО ОТ БОЛЬНЫХ РЕВМАТИЗМОМ

Л. Ф. БОЧАРОВ

(НОВОСИБИРСК)

Вирус, выделенный от больных ревматизмом, по своим культуральным свойствам, устойчивости к эфиру, признаку катионной стабилизации и по патогенности для сосунков белых мышей сходен с вирусами Коксаки группы А. В реакциях нейтрализации и связывания комплемента установлено антигенное родство с вирусом Коксаки А-13.

Изучаемый вирус является РНК-содержащим, что показано непрямыми методами (фотодинамическое действие самих красителей и опыты с 5-иоддезоксисуридином). Методом фенольной депротенинизации получена нуклеиновая кислота, обладающая инфекционностью в культуре ткани и при заражении сосунков белых мышей. Инфекционность нуклеиновой кислоты уничтожалась РНК-азой, что позволяет идентифицировать ее как РНК. Полученная РНК обладала ярко выраженной инфекционностью в гипертоническом растворе NaCl, инактивировалась прогреванием при высоких температурах, под влиянием ультрафиолетовых лучей и при контакте с нормальной и иммунной сыворотками. От-

НИРУЮЩИХ ОВ А и В

я вирусов гриппа
Пан. Ned, 2292

лучили V антиген
та с высокой кон-
двергали обработ-
тей дезинтеграции

антиген, V-анти-
гли приготовлены

ализация in ovo)
авикулярный ана-
птитгена вирусом
у А. А1, А2.

В ВИРУСА, АТИЗМОМ

по своим куль-
знаку катионной
злых мышей сло-
х нейтрализации
ое родство с ви-

м, что показано
не самих краси-
м фенольной де-
обладающая ин-
нии сосунков бе-
ты уничтожалась
как РНК. Полу-
ционностью в ги-
ль прогреванием
афиолетовых лу-
ыворотками. От-

мечено также повышение инфекционности нуклеиновой кислоты при ее разведении.

Обсуждаются механизм ингибирующего действия чужеродных и гомологичных нуклеиновых кислот на размножение вирусов.

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ИЗУЧЕНИЕ РЕПРОДУКЦИИ ПАРАГРИППОЗНЫХ ВИРУСОВ 1, 2 и 3 ТИПОВ В ТКАНЕВЫХ КУЛЬТУРАХ

А. В. ПИЧУШКОВ

(МОСКВА)

В данной работе сообщается о результатах изучения динамики накопления парагриппозных вирусов 1, 2, 3 типов на различных тканевых культурах. В большинстве работ, касающихся размножения вирусов в культуре ткани, применялся метод последовательных выемок проб на разных сроках размножения без замены среды. При этом естественно в жидкой фазе выявляли суммарное количество вируса накопленного от начала заражения. Поскольку суммарное количество вируса включало в себя репродуцированный клетками вирус плюс сохранившийся накопленный ранее вирус минус инактивированный вирус температурным воздействием термостата в жидкой среде, то применение этого метода не позволяло достаточно полно решить вопрос о степени активности клеток в репродукции вируса в те или иные сроки.

Нами был применен дифференциальный метод для изучения динамики репродукции вируса и его накопления, при котором после каждого взятия пробы проводилась полная смена среды и каждый раз учитывалось количество репродукции вируса за определенный срок. Проведенные опыты показали, что выход инфекционного активного вируса 1 типа (НА-2) в тканевую среду при заражении 0,8 Т. И. Д. (ткань инфицирующая доза) на клетку начинается через 4 часа от начала инфекции. В течение первых 24 часов клеточный пласт пробирки из 80000 клеток выделяет в жидкую среду только 10000 Т. И. Д. Максимальный выход инфекционного вируса из клеточного пласта осуществляется между 24-48-72 часами и при оптимальных условиях накопление за сутки в свежесменную среду может достигать 10000000 Т. И. Д. Через 120 часов от начала инфекции интенсивность размножения вируса несколько снижается. Оданко, в течение пяти суток клеточный пласт выделяет в среду до 100000 доз инфекционного вируса.

Свободные гемагглютинины появляются только через 24 часа от начала инфекции и в течение последующих двое суток интенсивность образования агглютинирующих частиц повышалась, начиная с 72 часов в последующие трое суток интенсивность выделения в среду гемагглютининов сохранялась на одном уровне.

ТЫ
ЫХ
ОВ.

ни-
ич-
аз-
до-
за-
м-
ия.
ро-
ый
оз-
го-
ак-

ня
ом
и
оп-
ин-
ду-
ет-
ер-
те-
од
ж-
не
Д.
ия
те-
зи-

иса
ен-
на-
де-
не.
59

Для парагриппозного вируса 2 типа (СА) исследование проводилось на клетках RES. При заражении 0,2 Т. И. Д. на клетку выход инфекционного активного вируса начинается через 4 часа от начала инфекции. В последующие сутки тканевой пласт репродуцирует 100000 Т.И. Д. и это количество постепенно увеличивается, на вторые сутки до 1 млн., на третьи сутки до 10 млн., затем вновь снижается и резко падает до 10000 Т.И. Д. Особенностью размножения вируса СА в клетках, было то, что, несмотря на активную репродукцию активного вируса, свободных гемагглютининов в среде выявить не удавалось.

Изучение гемадсорбирующего вируса 3 типа ЕА-106 проводилось на первичных почках обезьян. При заражении 0,2 Т.И. Д. на клетку начало выхода инфекционного вируса определялось через 4 часа после заражения. В первые сутки тканевой пласт репродуцировал всего 100000 Т.И. Д. Затем происходит резкое увеличение интенсивности репродукции и в течение четвертых суток клеточный пласт репродуцировал 10 млн. Т.И. Д. Затем наступило истощение и суточный выход снизился до 100 Т.И. Д. Продукция гемагглютининов начиналась также после 4 часов от начала инфекции и в течение последующих двух суток интенсивность образования агглютинирующих частиц повышалась, максимальное накопление агглютининов происходило к 72-96 часам, затем в результате истощения клеточного пласта количество агглютининов шло на убыль.

При сравнительном изучении динамики содержания парагриппозных вирусов в клеточном пласте и питательной среде тканевой культуры установлено, что в течение первых двух суток основное количество инфекционно-активного вируса и гемагглютининов находится в тканевом пласте, а в более поздние сроки 72-96-144 часа происходит постепенное перемещение вируса в среду. Особенностью парагриппозных вирусов является медленное освобождение вируса из пласта.

При сравнении кривых накопления вируса, полученных стандартным методом и методом учета ежесуточно образующего вируса, было установлено, что полное удаление выделенного в жидкую среду инфекционного вируса через 20 минут, через 2 и 4 часа и далее через каждые сутки не снижало интенсивности репродукции вируса в клеточном пласте и, наоборот, даже стимулировало освобождение повышенного количества инфекционно-активных и гемагглютинирующих частиц.

Метод ежедневного обновления среды в зараженных парагриппозными вируса культурах может быть использован не только для решения теоретических вопросов, но и для практических целей, особенно для получения материала для антигенов и вакцин.

Ф

Из
вет
обеты
де с
аны
обсто
стал
неско
ленно
пробл
Ср
ских
ное о
той з
атыс
его ко
В
ний
дым.
1: 16.
мател
ут.
П
засс
том
и тол
частн
В
ного
цент
целос
100 р
Д.
гельф
дны
куля
Б
шести
70x2
пред
сефа;
в кол
внутр
водо

ул

почти
нные о
шелко-
ами из
гусей-
ракци-
жание
поли-
ат обе

на су-

ЗАИКИ

я

уковых
актив-
iposa).
ановых
ой его

потеря
я ВТМ
ранже-

синим
вируса
ГМ об-
с об-
симула
способ-
вирус

59

предварительно подвергался такому озвучиванию, которое вызывало потерю инфекционности.

4. Снижение инфекционности ВТМ также наблюдали в результате взаимодействия вируса с полиэлектролитами (полифосфаты); своеобразно нарушалась метохроматическая реакция комплекса вирус — полифосфат.

5. Полученные результаты могут быть объяснены своеобразным строением ВТМ. Открываются новые возможности в выяснении особенностей пространственного расположения РНК в вирусе, определяющей его инфекционные свойства.

ИССЛЕДОВАНИЯ ПО МЕТАБОЛИЗМУ ФОСФОРА В РАСТЕНИЯХ ТАБАКА, ПОРАЖЕННЫХ ВТМ¹

В. Ешану

(Институт биологии, Бухарест)

_____ *Вит*

ОЧИСТКА ВИРУСА ПОЖЕЛТЕНИЯ СВЕКЛЫ ДЛЯ ЭЛЕКТРОННО-МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ¹

П. Плойэ

(Институт биологии, Бухарест)

_____ *Вит*

К ВОПРОСУ О ПРИРОДЕ РОЗЕТОЧНОСТИ ЯБЛОНИ

С. Н. Московец, Ю. М. Шелудько

(Институт микробиологии и вирусологии
им. Д. К. Заболотного АН УССР)

За последнее десятилетие розеточность яблони широко распространилась по территории СССР и Западной Европы. Эта болезнь ежегодно приносит большой вред садоводству. Поэтому естественно, что вопрос о ее природе привлекает внимание многих исследователей и является предметом оживленных дискуссий.

¹ Ко времени подписания «Тезисов докладов» в печать доклад не был получен.

60

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ВИРУСА КОРИ

Г. А. СМЕРГОВА, С. А. ДЕМИДОВА

Институт вирусологии им. Д. И. Ивановского АМН СССР

Изучение физико-химических свойств вируса кори представляет известные трудности, так как вирус отличается нестабильностью и малым выходом из тканевых культур, поэтому основные сведения о физических и химических свойствах вируса получены на неочищенном культуральном материале. Последнее обстоятельство в значительной степени может исказить представление о биологической активности и ее связи с физико-химической структурой вируса. А между тем изучение вируса, отделенного от его хозяина является одним из подходов к общим проблемам вирусологии.

Среди многочисленных методов очистки различных биологических материалов, нет ни одного, который бы мог обеспечить полное освобождение вируса от сопутствующих веществ культуральной жидкости. Поэтому, как правило, используют многоступенчатые процедуры, которые помимо очистки вируса способствуют его концентрации.

В наших опытах был использован вирус кори — адаптированный к клеточной культуре стабильной линии Her-2 с инфекционным титром культуральной жидкости 10^6 , гемагглютинации 1:16, полученную жидкость освобождали от взвеси клеточного материала центрифугированием при 1600 g в течение 15—20 минут.

При использовании большего ускорения до 22000 g основная масса вируса концентрируется в нижнем слое жидкости, но при этом удалить полностью сопутствующие вещества не удается, и только при большем ускорении до 100 000 g удается получить чистоты вируса кори в осадке.

В своих опытах мы после освобождения жидкости от клеточного детрита — центрифугированием на низких скоростях — концентрировали ее упариванием при комнатной температуре в целлофановых мешочках с помощью вентилятора (в 10—50—100 раз).

Дальнейшую очистку проводили с использованием метода гельфльтрации на сефадексе, разработанного Поратцем и Флашным в 1959 г. В основу этого метода положен принцип молекулярно-ситового эффекта.

Был использован сефадекс 7—25 с зоной исключения для веществ с молекулярным весом 40—50 тысяч. В колонку размером 10×2 помещали столб геля, не превышающего отношения 20:1, предварительно отмытого деконтацией водой от мелких частиц сефадекса, затрудняющих фильтрацию. После уплотнения геля в колонке наносили суспензию вируса в количестве 1/6—1/8 от внутренней фазы воды. Вирус элюировали дистиллированной водой. Фракции отбирали с помощью фракционного коллектора

по 4-5 мл. В каждой фракции измеряли интенсивность поглощения при 280 мμ в электрофотометре СФ-4. В отобранных фракциях определяли тип гематоглинина, К. С. А. и инфекционные свойства. Инфекционные свойства или полностью утрачивались, или частично сохранялись и выявлялись через 2-3 пассажа. Фракции, обнаруживавшие гематоглиниационные и комплемент-связывающие свойства просматривали в электронном микроскопе. Часть фракций, содержащих вирусные частицы подвергали лиофильному высушиванию. В сухом препарате вируса кори определяли содержание общего азота, белка, липидов, углеводов.

К другой части добавляли 0,05 м фосфата калия и натрия и использовали для изучения устойчивости вируса к воздействию трипсина, эфира формалина, УФ, ультразвука и различных температурных режимов.

На основании проведенных исследований можно сделать следующие выводы:

1. Для концентрирования и очистки вируса кори целесообразно использовать комбинацию методов дифференциального центрифугирования и гельфильтрации с использованием различных режимов сефадексов в зависимости от состава питательных сред, применяемых для выращивания клеточных культур.

2. Полученные препараты вируса характеризуются следующим химическим составом:

общий азот -- 10,36
 белок -- 66,4--67,0
 углеводы -- 24,4 25%
 Нейтрали. Липиды 9,0 9,3%
 Нейтральный жир 0
 и свободные жирные к-ты
 Фосфатиды -- 8,0 -8,5%
 Стерины и стериды -- 0,5--0,8%

3. Вирус кори относительно устойчив к воздействию протеолитических ферментов. Наблюдается лишь расшатывание внутренней структуры, в результате чего имеет место снижение интенсивности РГА.

4. Вирус чувствителен к воздействию эфира. Формалин полностью инактивирует вирус в концентрации 1:4000 в течение 5-6 дней при 37° С.

5. Вирус кори чувствителен к действию УФ и УЗ. Инактивация зависит от интенсивности света, длины волны, время воздействия. В лиофилизированном состоянии вирус кори более устойчив к воздействию различных температурных режимов, чем в жидком нативная вирусосодержащая жидкость.

Но
 (100)
 (100)
 В. Я.
 волны
 рин «
 ясная
 калки
 В
 нов
 после
 Не
 живая
 А и
 звах
 филлиз
 ного ч
 в усл
 нессе
 Об
 при 6
 авало
 Ви
 ста, а
 шлет
 разли
 та - С
 Сво
 и чум
 ные п
 менно
 дые П
 актив
 вости
 везне
 водей
 время
 +4-5
 в 60 (

Ли

ВЛИЯНИЕ «УМЕРЕННОГО» НАГРЕВАНИЯ НА ТЕРМОСТАБИЛЬНОСТЬ ВИРУСОВ

Л. НИКИТИН, В. П. СЮРИН

(МОСКВА)

Повышение теплоустойчивости в результате предварительного действия положительной температуры наблюдали Аллен (Allen, 1930) у термофильных микроорганизмов, Вудруф (Woodroffe, 1950) у вируса оспы, Д. Н. Насонов и В. Я. Александров (1940), В. Я. Александров (1956), Шляхтер (1959) у растительных и животных клеток. Цитологи рассматривают это явление с точки зрения «денатурационной теории повреждения и раздражения», объясняя повышенную резистентность клеток после тепловой «закалки» состоянием парабноза клетки.

В настоящей работе приводятся экспериментальные данные о повышении термоустойчивости вирусов ящура и чумы свиней после предварительного их прогревания.

Испытуемый материал (суспензии кроличьей ткани и перемываемой эпителиальной ткани, содержащей вирус ящура типа А и кровь, содержащую вирус чумы свиней) сохраняли в условиях $+4$ — -5° в течение 10—14 дней; высушивали методами лиофилизации и распыления при разных температурах. Образцы сухого вирусосодержащего материала прогревали при $+60^{\circ}$ в течение часа. Термоустойчивость их определяли путем прогревания в условиях 100° в течение часа, исследуя отдельные пробы в процессе прогревания через каждые 15 минут.

Образцы вирусосодержащего жидкого материала прогревали при 60° в течение часа, определяя их биологическую активность аналогичным методом через каждые 10 минут.

Вирус ящура титровали на мышьяк-сосунах недельного возраста, а вирус чумы свиней — на подсвинках весом 25—40 кг. Выяснение титра производили по Риду и Менчу, достоверность различия сопоставимых величин находили по таблице Стьюдента — Фишера.

Свежеприготовленные суспензии, содержащие вирусы ящура и чумы свиней, те же суспензии, но предварительно выдержанные при 4 — 5° и в замороженном при -30° состоянии, одновременно подвергали воздействию температурой $+60^{\circ}$ и через каждые 10 минут проверяли степень снижения их биологической активности. В результате установлено различие в терморезистентности образцов. Свежеприготовленные суспензии равно как и суспензии, хранившиеся в условиях -30° , уже через 20—30 минут воздействия температурой 60° полностью инактивировались, в то время как образцы, предварительно хранившиеся в условиях $+4$ — 5° , сохраняли частичную активность после 40 (вирус ящура) и 60 (вирус чумы) минут прогревания в тех же условиях.

Лиофилизированные с конечным подогревом $+37^{\circ}$ и высушен-

ные распылением при температуре подаваемого воздуха +120°. Вирусы подвергали действию температуры +100° С. Все образцы лиофилизированных вирусов как правило инактивировались в течение 40—50 минут, между тем как вирусосодержащий материал, высушенный распылением, сохранял частичную активность после 60 минут прогрева.

Вирусы, лиофилизированные с использованием температуры нагрева до +25 +37°, а также высушенные распылением с подогревом подаваемого воздуха до +100°, полностью инактивировались в течение 40—50 минут при 100°. Однако те же препараты, высушенные при более жестких режимах, сохраняли частично инфекционные свойства после 60 минут воздействия той же температурой.

Часть лиофилизированных с конечным подогревом до +37° образцов, содержащих вирусы чумы свиней и ящура, прогревали при 40, 50 и 60° в течение часа и затем прогретые и непрогретые сухие образцы одновременно подвергали действию температуры +100°. В результате прогретые при 40 и 50° и непрогретые образцы уже через 40—50 минут полностью инактивировались в условиях 100°, в то время как предварительно прогретые при 60° образцы, оказались частично активными после воздействия температурой 100°.

Приведенные данные свидетельствуют о наличии у вирусов термозащитных механизмов, которые способны включаться при предварительном действии «умеренного» нагревания.

ВЛИЯНИЕ ИОНОВ МАГНИЯ НА ТЕРМОИНАКТИВАЦИЮ МИКСОВИРУСОВ

Г. Л. РЯЗАНОВА
(МОСКВА)

Ионы двухвалентных металлов (магния, кальция) резко тормозят термоинактивацию РНК-содержащих вирусов с кубической симметрией (рео и энтеровирусов) и ускоряют инактивацию других групп вирусов (аденовирусы, герпес-вирусы, паповирусы и т. д.).

В опытах использовались хориоаллантоисные вирусосодержащие жидкости. Изучалось влияние 1-М хлористого магния на термоинактивацию миксовирусов: гриппа А, А2, В и вирусов болезни Ньюкастля (NDV). Было выявлено различие во влиянии ионов магния на термоинактивацию указанных вирусов.

Опыты показали, что имеется корреляция между инактивацией инфекционных и гемагглютинирующих свойств вирусов NDV и гриппа (А, А2) при 50° в течение 10—30 минут, а также вирусов NDV при 37° в течение 3—24 часов.

Минимальная концентрация хлористого магния, вызывающая

инактивированного
гемагглютинирующего
В
гриппа
хлорид
факции
дан с

От
метил
химический
В
растор
местности
в 1960
На

влияние
ультра
оболочка
личности
тканей
На
робла
активности
с вирусом
и за 3
Интер
чек эл
вирусы

Инактивация
лита (гомолог)
оказала
с клеточным
русом
са (10
жидкости
пера;
растает
5—1418

мого воздуха +120
100°С. Все образцы
активировались в те
держаний материал
в) активность после

анием температуры
распылением с подо
остью инактивирова
то те же препараты
сохраняли частичн
действия той же тем

догревом до +37
и ящура, прогрета
огреты и непрогр
действию темпера
+50° и непрогреты
инактивировали
тно прогреты при
после воздействия

галции у вирусос
ы включаться при
вания.

ИНАКТИВАЦИЮ

льция) резко тор
вирусов с кубичес
ряют инактивацию
усы, паповирусы и

ые вирусосодержа
стого магния на
, В и вирусос бо
ичие во влиянии
вирусов.

между инактивак
йств вирусос НД
ют, а также виру

ния, вызывающая

инактивацию НДВ равнялась 0,5М. После диализа вирусосодержа
щего материала, инактивированного в присутствии ионов магния,
геммагглютинирующая активность не восстанавливалась.

В отличие от НДВ гемагглютинирующая активность вируса
гриппа (А, А₂, В) полностью сохранялась в присутствии 1—М
хлористого магния при 37° в течение 24 часов, в то время как ин
фекционность резко падала до нуля. Процесс инактивации не свя
зан с разрушением фермента нейроминидазы.

ПОЛУЧЕНИЕ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ИНТЕРФЕРОНА

*З. В. ЕРМОЛЬЕВА, Н. М. ФУРЕР, Б. М. НЕВИРОВСКАЯ,
Л. К. ТОРИА, С. Л. ФАЙНШТЕЙН
(МОСКВА)*

Открытие интерферона Айзексом и Линденманом (1957 г.) на
стало новые перспективные направления в разработке проблемы
химиотерапии вирусных инфекций.

В Советском Союзе интерферон был впервые получен в лабо
ратории новых антибиотиков кафедры микробиологии ЦИУ сов
местно с сотрудниками Института вирусологии им. Ивановского
в 1960 году (З. В. Ермольева с соавторами).

Нами изучено образование интерферона на различных моде
лях вирус-клетка, как при воздействии инактивированного
ультрафиолетовыми лучами вируса гриппа на хориоаллантоисную
оболочку куриных эмбрионов, так и при заражении вирусами раз
личных первично трипсинизированных и перевиваемых культур
ткани.

Нами был получен интерферон в культуре ткани куриных фиб
робластов с различными дозами вирусов гриппа А и А₂. Изучение
активности полученного интерферона на куриных фибробластах
с вирусом осповакцины показало, что введение интерферона за 24
и за 3 часа до заражения задерживает развитие 100 ЦПД вируса.
Интерферон, полученный на клетках СП (перевиваемая линия поч
ек эмбриона человека) с вирусом гриппа А₂ (20 ГА доз на мл) и
вирусом осповакцины (100 ЦПД) был также активен.

Интерферон получался при взаимодействии вируса полиомие
лита с клетками КЭМ—2 (клетки эмбриона мыши). Изучение на
гомологичной ткани (КЭМ—2) показало, что наиболее активным
оказался интерферон, полученный при 72-часовом контакте вируса
с клетками. Введение интерферона за 24 часа до заражения ви
русом полиомиелита задерживало цитопатогенное действие виру
са (100 ЦПД) Активный интерферон был получен из аллантоисной
жидкости куриных эмбрионов модифицированным методом Ваг
нера; изучалась продукция интерферона в зависимости от воз
раста куриных эмбрионов, заражения различными штаммами ви

сержа-
агния,

вируса
М
к ин-
е свя-

) на-
лемы

лабо-
сов-
ского

моде-
чного
сую
раз-
тыур

фиб-
ение
стах
на 24
уса.
з по-
л) и

мие-
е на
ным
руса
и ви-
иру-
сной
Ваг-
воз-
и ви-

руса гриппа, в зависимости от дозы вводимого вируса и времени инкубации. Наиболее активным оказался интерферон, полученный при заражении 11-дневных куриных эмбрионов 1--10 инфекционными дозами вируса гриппа типа А штамм PR8 при 96-часовой инкубации, при 37°C.

Нами разработан метод титрования интерферона по задержке цитопатогенного действия вируса осповакцины (100 ЦПД) в мюстое куриных фибробластов, выращенных в пробирках. Интерфероны, полученные на различных тканях титровались также методом бляшек с вирусом осповакцины (100 бляшкообразующих единиц) в культуре ткани куриных фибробластов как классическим методом, а также без применения агара с окраской клеточного пласта кристалл-виолетом.

Изучение фармакологических свойств полученного нативного интерферона показало, что препарат не оказывает токсического действия как при внутримышечном, так и при внутривенном его введении белым мышам. Опыты, проведенные на морских свинках и на кроликах показали, что интерферон не антигенен и не обладает сенсибилизирующими свойствами.

Образование интерферона наблюдается и *in vivo* в легких белых мышей, зараженных интраназально сублетальными дозами вируса гриппа (на 2-ые, 3-ьи сутки после заражения).

Этот факт указывает на то, что интерферон несомненно играет большую роль в выздоровлении от вирусных инфекций, так как он образуется в организме значительно раньше, чем специфические антитела; поэтому перспективным является не только использование этого препарата при профилактике и лечении некоторых вирусных инфекций, но и изучение биологически активных препаратов, которые могут способствовать максимальному образованию интерферона в организме животных и людей. В связи с тем, что бактериальные полисахариды продигнозан и ацетоксан обладают способностью стимулировать защитные силы макроорганизма к бактериальным и вирусным инфекциям, нами изучается их влияние на образование интерферона в организме белых мышей.

Полученные интерфероны оказались активными не только в отношении различных вирусов человека и животных — вируса гриппа, аденовирусов, вируса осповакцины, вируса Ньюкасла, вируса полиомиелита и вируса коксаки, но также в отношении вируса мозаики табака. На листьях *Nicotiana Glutinosa*, обработанных интерфероном за 24 часа до заражения вирусом мозаики табака, наблюдалось значительное уменьшение количества nekрозoв (9—12) по сравнению с контролем (60—68).

Наши исследования, как и данные Айзекса с сотрудниками, позволяют считать интерферон перспективным противовирусным препаратом, так как он не токсичен, не антигенен, обладает широким спектром действия, и оказался активным не только *in vivo*, но и в опытах на животных.

Предварительные клинические испытания интерферона при лечении гриппа в период январской вспышки 1962 года (Е. С. Кети-

ла.
рот
сра

кот
гла
лез
Пр
вит

вог
рбо
его
тив
оре

рон
пол-
цен
тив
цен
отд-
дуц-
жен
I
лас
рас
I
раз-

В
совм
прот.
прир
20000

вируса и времени
ферон, полученный
1-10 инфекцион-
28 при 96-часовой

рона по задержке
(100 ЦПД) в мо-
пробирках. Интер-
овалось также ме-
тишкообразующих
ов как класиче-
краской клероид-

чного пативного
ает токсического
внутривеном ед-
морских свинок
генен и не обла-

viva в легких
гальными дозами
ния).

сомненно играет
кций, так как он
м специфические
лько использован-
и некоторых ви-
тивных препара-
ту образованию
связи с тем, что
оксан обладают
икроорганизма к
чается их влия-
их мышей.

ни не только в
отных -- вирусом
и Ньюкасла, ви-
тиошении виру-
и, обработанных
дозанки табака,
ства некрозов

грудниками, по-
овирусным пре-
адает широким
in viva, но и в

ферона при ле-
та (Е. С. Кети-

таже и А. А. Алексеева) показали, что при применении интерфе-
рофа средняя длительность катаральных явлений сокращается по
сравнению с контрольной группой почти на двое суток.

В настоящее время интерферон испытывается при лечении не-
которых кожных заболеваний, вызванных вирусами (ЦКВИ) и при
глазных заболеваниях вирусной этиологии (Институт глазных бо-
лезней им. Гельмгольца и кафедра глазных болезней ЦИУ (в)).
Препарат оказался эффективным при лечении керато-конъюнкти-
витов, вызванных аденовирусом типа 8.

Таким образом и как фактор неспецифического противовирус-
ного иммунитета, и как химиотерапевтическое средство интерфе-
роф представляет значительный интерес, и дальнейшее изучение
его свойств, механизма действия и способов получения высокоак-
тивных очищенных препаратов, имеет большое практическое и те-
оретическое значение.

ИЗУЧЕНИЕ НЕКОТОРЫХ СПОСОБОВ КОНЦЕНТРИРОВАНИЯ И ОТЧИСТКИ ИНТЕРФЕРОНА

Г. Я. ФЕЛДМАН, В. П. ЛОЖАВ, Г. Ф. ЗРЕДЕ

В результате предварительных опытов выяснено, что интерфе-
рон в тканевых культурах эмбрионов мышей зараженных вирусом
полностью образуется в очень низких, с трудом улавливаемых кон-
центрациях. Это выдвигает необходимость концентрирования на-
тивного материала. Для разработки оптимальных условий кон-
центрирования интерферона избрана модель интерферона, легко
отдающегося продуцированию и выявлению, т. е. интерферон, про-
дуцируемый клетками хорионаллантоисной оболочки после зара-
жения вирусом гриппа.

Концентрация и частичная очистка интерферона производи-
лась при помощи сульфата аммония и некоторых органических
растворителей, а также осаждением его уксусным цинком.

Изучено также поведение интерферона при хроматографии на
различных декстрановых гелях «Сэфадекс».

К ПРОБЛЕМЕ ИЗУЧЕНИЯ ОБРАЗОВАНИЯ И ОСОБЕННОСТЕЙ ДЕЙСТВИЯ ИНТЕРФЕРОНА

*В. М. ЖДАНОВ, З. В. СРМОЛЬЕВА, Л. Л. ФАДЕЕВА,
Т. И. БАЛЕЗИНА, Н. И. КОРАБЕЛЬНИКОВА, В. М. СТАХАНОВА,
Е. М. ЖАНТНЕНА*

В Институте вирусологии им. Д. И. Ивановского АМН СССР
совместно с кафедрой микробиологии ЦИУ (в) в 1960 г. получен
противовирусный препарат — интерферон. Это вещество белковой
природы, слабо основного характера с молекулярным весом —
20000—34000. Интерферон не инактивируется ультрафиолетовыми

лучами, рибонуклеазой и лиофилизацией; диализуется через полупроницаемые мембраны, не теряет своей активности при изменении рН среды от 2-10; при 4°C активность его сохраняется несколько месяцев. Интерферон инактивируется нагреванием при T° 56-60°C в течение часа, теряет активность при кипячении и разрушается трипсином.

Интерферон образуется при взаимодействии вируса с жизнеспособной клеткой и выделяется в окружающую среду. Он не угнетает внеклеточный вирус и не препятствует его адсорбции и проникновению в клетку, что подтверждено автордиографией с вирусом меченым по С 14 и гистологическими исследованиями, проведенными совместно с С. Р. Бескиной (на вирусах гриппа ХДУ, и возбудителе венерической лимфогрануломы).

Установлено, что интерферон прибавленный к культуре ткани стимулирует рост клеточного пласта, удлиняет срок жизни культуры и увеличивает размеры ядер. Изучение этого явления проводится гистологическими и гистохимическими методами.

Одновременно с помощью радиоактивных изотопов проводится исследование белкового, фосфорного, углеводного и нуклеинового обмена нормальных и инфицированных клеток, обработанных интерференом.

Фосфорный обмен изучался с помощью однозамещенного фосфата натрия, меченного по Р-32, при изучении белкового обмена был использован метионин - S-35, для изучения углеводного обмена применялась глюкоза - меченная по С-14. При этом существенных изменений в обмене клеток, обработанных предварительно интерференом, и контрольными отмечено не было.

Исследование синтеза интерферона в ткани при добавлении инактивированных вирусов, проведенное с помощью метионина - 35 выявило зависимость количества продуцируемого интерферона от интенсивности белкового обмена клеток; при предварительном добавлении к культуре клеток актиномицина D, усиления белкового обмена не наблюдалось.

Продукция интерферона в клетках могла быть установлена уже спустя 1 час после прибавления вирусов и достигала максимума к 24-72-м часам в зависимости от вида вируса.

Действие интерферона проявляется в том, что обработанные им клетки неспособны репродуцировать вирус. Окончательно выяснено, какую именно стадию репликации вируса подавляет интерферон: синтез вирусной нуклеиновой кислоты, синтез белка или процессы сборки вирусной частицы. На модели возбудителя венерической лимфогрануломы нами показано, что однократная предварительная обработка культуры ткани интерференом за 18-24 часа до заражения задерживала образование первичных РНК-содержащих форм и смешала цикл развития возбудителя на 6-10 часов.

Совместно с Г. А. Смирновой проведена частичная очистка и концентрация интерферона. Установлено, что его противовирусная активность связана с альбуминовыми фракциями, а молеку-

ляри
взаи
жидк
вания
всисл

По
генн
парат
ных
штам
части
ного
форм
ультр
пообр
могут
по гри

Сс
казан
поше
витие
обраб
ния в
взвеш
ных т
ных ф
кие к
в др.

По
посты
Подос
переж
па, ш
бридж

Су
ких бе
живог
ства
(NV -
вызыв
титра
к введ
что пр
ных ил

По.
против
животи
логии
риболь

зуется через под-
 зсти при изменен
 аняется несколко
 нем при T₅₀ 50
 нияции и разра-

вируса с жизне
 о среду. Он не уг
 го адсорбции в
 автордиографиче
 исследованиях
 вирусах гриппа
 (мы).

культуре ткан
 ок жизни культу
 явления прово
 дами.

гопов проводится
 и пуктенивоос
 работанных ин

амещенного фос
 елкового обмена
 на углеводног
 14. При этом су
 шных предвари
 е было.

ри добавлен
 ю метионина
 го интерферона
 редварительно
 усилена белко

ь установлена
 остигала макс
 уса.

обработанны
 ончательно не
 подавляет ин
 тез белка или
 будителя впе
 ократная пред
 ном за 18-
 не первичных
 я возбужделе

ная очистка и
 противовирус
 ми, а молеку-

ярный вес находится в пределах 20000 -30000. Изучались также
 взаимоотношения процессов накопления белка в аллантоисной
 жидкости, зараженных куриных эмбрионов, и интерферонообразо
 вания. Показан параллелизм этих процессов и количественная за
 висимость их от характера инфицирующего агента.

Помимо интерферонов, полученных с помощью вирусов, пато
 генных для человека, нами получены высокоактивные серии пре
 паратов из аллантоисной жидкости куриных эмбрионов, заражен
 ных вирусами животных и птиц: вирусом свиного гриппа,
 штамм 535, вирусом лошадиного гриппа, вирусом NDV, вирусом
 истинной чумы птиц - штаммы Вейбридж и Чиза и вирусом ути
 ного гриппа А, штамм Боркий и Кошице - 56. Вирусы лишенные
 ферментативной активности в результате глубокого облучения
 ультрафиолетовыми лучами, не теряли способности к интерферо
 нообразованию. Как наиболее активные интерферонообразователи
 могут быть рекомендован вирус NDV и вирусы утиного и свино
 го гриппа.

Совместной работой с А. П. Пыриковой и Л. С. Яковлевой по
 казана высокая противовирусная активность этих препаратов в от
 ношении арборвирусов (EEE и EE). Интерферон задерживал раз
 витие 100000--1000000 ЦПД₅₀ вирусов, как при предварительной
 обработке культуры ткани, так и при его добавлении после внесе
 ния вирусной нагрузки. Кроме того, получены интерфероны во
 взвешенных культурах клеток (глубинный метод) и в монослой
 ных тканевых культурах; при этом использовались клетки кури
 ных фибробластов, кожно-мышечные клетки человека, амниотиче
 ские клетки человека линии А и FZ, клетки Чанга, почки обезьян
 и др.

Полученные интерфероны обладали противовирусной актив
 ностью не только в гомологичных, но и в гетерогенных тканях.
 Подобраны тествирусы для титрования интерферона в культуре
 переживающих хорионаллантоисных оболочек: вирус утиного грип
 па, штамм Кошице - 56 и вирус истинной чумы птиц, штамм Вей
 бридж.

Существенным является факт образования интерферона в лег
 ких белых мышей не только в ответ на введение сублетальных доз
 живого вируса PR8, но и вируса, лишенного инфекционных свой
 ства в результате облучения его ультрафиолетовыми лучами
 (NV - вирус). Однократная обработка животных NV - вирусом
 вызвала длительную выработку интерферона (6 дней) в высоких
 титрах. В течение всего этого периода животные были устойчивы
 к введению больших доз (100--1000 ЛД₅₀) живого вируса PR8),
 что представляет значительный интерес для профилактики вирус
 ных инфекций.

Полное отсутствие таксических и антигенных свойств, а также
 противовирусное действие интерферона, показанное в опытах на
 животных, позволило применить его в клинике Института вирусоло
 гии (Е. С. Кетилдае, и А. А. Алексеева) для профилактики внут
 рибольничной инфекции в детских отделениях и лечения острых

кже
ной
азо-
за-

то-
ре-
ен-
па,
сом
ти-
ые
ня
ро-
ли
ю-

ю-
ст-
из-
ой
е-
во
й-
и-
с-
ан

в-
х.
се
п-
ї-

г-
из
ї-
и
м
х
ы
ї,
:-

е
а
ї-
ї-
х
ї9

респираторных заболеваний, а также в Центральной глазной больнице (Р. Г. Полякова) для лечения вирусных заболеваний глаз. Получены обнадеживающие результаты при лечении вирусных кератоконъюктивитов.

РАЗМНОЖЕНИЕ ВИРУСА ОМСКОЙ ГЕМОМРАГИЧЕСОЙ ЛИХОРАДКИ В КЛЕТКАХ ЗАРАЖЕННОЙ КУЛЬТУРЫ ТКАНЕЙ

Н. М. ШЕСТОПАЛОВА, В. П. РЕЙНГОЛЬД, И. Н. ГАВРИЛОВСКАЯ, А. П. БЕЛЯЕВА, М. П. ЧУМАКОВ (МОСКВА)

Вирус омской геморрагической лихорадки (ОГЛ) впервые был выделен М. П. Чумаковым, А. П. Беляковой и др. в 1947 г. из крови больных, а также из клещей *Dermacentor pictus* переносчиков этого заболевания. По антигенным свойствам вирус ОГЛ является близко родственным другим вирусам пксодовых клещей группы клещевого энцефалита.

Задачей настоящей работы было изучение субмикроскопических изменений в клетках культуры тканей после заражения вирусом ОГЛ, обнаружение локализации вируса и исследование его морфологии в ультратонких срезах зараженных клеток. С целью направленного отбора клеток, пораженных вирусом, для последующего изучения в электронном микроскопе предварительно было осуществлено светомикроскопическое изучение для выявления специфических признаков поражения. Детальное цитологическое и цитохимическое исследование с применением метода флуоресцирующих антител параллельно проводилось И. Н. Гавриловской, В. Я. Кармышевой, М. П. Чумаковым.

Для размножения вируса была использована перевиваемая культура тканей почки эмбриона свиньи, в которой проявляется отчетливое цитопатогенное действие вируса. Клетки суспендировали в среде 0,5% гидролизата лактальбумина, 10% бычьей сыворотки и раствора Эрла. Для поддержания культуры использовали 199 среду с 2% бычьей сыворотки. После формирования монослоя производили заражение вирусом ОГЛ (штамм Голошубина), прошедшим предварительно 15 внутримозговых пассажей на мышах. Заражали из расчета 3 ЛД/50 на клетку. Контролем служила незараженная культура. Материал фиксировали через разные интервалы времени после заражения в течение 5 дней в растворах: 1) четырехокиси осмия по Колфилду, 2) Буэна, 3) буферированного нейтрального формалина. Для электронномикроскопического исследования монослой клеток, выращенный на стеклах, обрабатывали по общепринятой схеме, заливали в предполимеризованную смесь метакрилатов по Рейнгольду. Ультратонкие срезы готовили на ультратоме ЛКБ, контрастировали уранилацетатом или солями свинца и изучали в электронном микроскопе ИЕМ -- 5 У при инструментальных увеличениях 4800х, 15700х и 47600х.

По
ление
рану
переп
щих
рости
контр
ся в
рыш
лено,
то ст
допл
част
ингра
лока
рах
факт
клеа
В пе
в уз
стра
части
мето
гласу
В от
цент
леон
до б
темн
В
кое
явле
нару
элек
виру
мерь

ИЗУ
КЛЕ

ї
клеп
изме

ной глазной болью, аболеваний глаз, а также вирусных фе-

**ОИ
КЛЕТКАХ
НЕИ**

Г. ГАВРИЛОВСКАЯ.

ОИ) впервые был
в 1947 г. из кро-
vus — переносчи-
вам вирус ОГЛ
ксодовых клещей

Субмикроскопичес-
заражения виру-
исследование его
клеток. С целью
м, для последующ-
арительно было
и выявления специ-
цитологическое и
ола флуоресцен-
И. Гавриловской.

а перевиваемая
ой проявляется
и суспендирован-
бычей сыворот-
использовали 199
я монослоя про-
убина), прошел
на мышах. За-
т служила неза-
разные интерва-
льствах: 1) че-
уферированного
ического иссле-
; обрабатывали
зованную смесь
и готовили на
и или солями
5 У при инст

Показано, что заражение вирусом ОГЛ сопровождается появлением в клетках цитоплазматических включений, занимающих парануклеарную область. Включения имеют неправильную форму переплетающихся плотных тяжей, в местах скопления образующих компактную массу с отходящими от нее источающимися отростками. Ядра зараженных клеток набухают, в них чаще чем в контролях наблюдается образование лопастей, отшнуровывающихся в цитоплазму; разрушается ядерная оболочка. Изменяется ядрышко. При электронномикроскопическом исследовании установлено, что включениям соответствуют зоны цитоплазмы сетевидного строения, представляющие собой участки хорошо развитой эндоплазматической сети (ЭС) и комплекса Гольджи (КГ). В этих участках обнаружены вирусные частицы округлой или слегка полигранной формы; диаметр их равен 37 ± 2 мкм. Вирусные частицы локализованы в резервуарах ЭС и в везикулах КГ. В резервуарах ЭС содержится также осмиофильное вещество гомогенного характера, имеющего отношение к формированию вируса. В парануклеарной области вирусные частицы локализованы изолированно. В периферических частях клетки вирус четкообразно расположен в узких гладкоконтурных канальцах. В узких межклеточных пространствах обнаружены ряды регулярно упакованных вирусных частиц. Наибольшее накопление вируса в культуральной жидкости методом титрования показано на 3 день после заражения, что согласуется с данными электронномикроскопического исследования. В отдельной вирусной частице в плоскости среза различается центральная плотная зона округлой или ограниченной формы, нуклеонид, диаметром около 25 мкм и периферическая оболочка около 6 мкм толщиной, состоящая из двух слоев, внутреннего — более темного.

В нашей работе впервые проведено электронномикроскопическое исследование строения клеток, зараженных вирусом ОГЛ, выявлена субмикроскопическая структура вирусных включений, обнаружена внутриклеточная локализация вируса. При высоких электронооптических увеличениях микроскопа показано строение вируса ОГЛ в ультратонких срезах, определены его форма и размеры.

**ИЗУЧЕНИЕ ОСТРОЙ ИНФЕКЦИИ, ВЫЗВАННОЙ ВИРУСОМ
КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА В КЛЕТКАХ ПЕРЕВИВАЕМОЙ
КУЛЬТУРЫ ПОЧЕК ЭМБРИОНА СВИНЬИ**

ТИХОМИРОВА Т. И., КАРМЫШЕВА В. Я., КАРПОВИЧ Л. Г.,
СЕРГЕЕВА Г. И.
(МОСКВА)

Целью исследования было выявить локализацию частиц вируса клещевого энцефалита в клетках изучаемой культуры, а так же изменения в морфологии клеток при вирусном заражении. Рабо-

появ-
х па-
орну
изую-
я от-
ем и
пша-
д яд-
пнов-
слю-
д ин-
этих
у по-
тисы
вуча-
о ха-
рану-
анно.
эжен
про-
сных
юсти
о со-
ния.
ется
нук-
око-
олее

ичес-
вы-
об-
оких
ение
раз-

СОМ
ЛОЙ

руса
же
рабо-
71

ту проводили комплексно с применением световой и электронной микроскопии в сочетании с вирусологическими методиками. Клетки культуры (линия PS 223) были инфицированы вирусом (штамм Хабаровск 17) в дозе $10^{7.5}$ на клетку.

Вирусологически показано, что в клетках и в культурной жидкости вирус выявляется через 12 часов после заражения. Максимальные его титры в клетках отмечали на 3—4 дни культивирования. В результате светооптических наблюдений выявлены изменения в клетках при вирусном заражении, возникающие первоначально в околоядерной зоне цитоплазмы. В этой области через 24 часа после инфекции отмечено повышение эозинофилии, усиление реакцией на РНК, белок и накопление вирусного антигена. Специфическая флуоресценция наблюдалась в 4% клеток, и постепенно усиливалась. К 48 часам флуоресцировало около 10% клеток. Свечение было более яркое и распространялось по цитоплазме. К 96 часам свечение наблюдалось в цитоплазме почти всех сохранившихся на стекле клеток.

Исходя из вирусологических и светооптических данных для электронномикроскопического изучения культуры были обработаны в сроки, когда накопление вируса в клетках было оптимальным, т. е. через 48—72 часа после заражения. Частицы вируса клещевого энцефалита выявлены в цитоплазме клеток. Они располагаются в виде небольших скоплений в вакуолях или резервуарах, ограниченных мембранами, с которыми связаны рибосомы. Частицы вируса имеют сферическую форму, электронномикроскопически плотный нуклеоид и менее плотную периферическую зону. Размер частиц 35—40 мк. Выявлены структуры подобные резервуарам, содержащим вирусные частицы. Эти образования заполнены тонкозернистым веществом, в непосредственной связи с ними наблюдались скопления рибосом. Наряду с такими структурами обнаружены цистоподобные образования, содержащие сферические тельца, совпадающие по размерам с вирусными частицами. В инфицированных клетках отмечено сильное развитие эндоплазматического ретикулума, гипертрофия зоны Гольджи, появление мощных тяжей фибриллей в цитоплазме.

При анализе полученных данных мы сталкиваемся, на первый взгляд, с некоторым несоответствием, которое существует между полученными нами картинками яркой специфической иммунофлуоресценции и количеством выявляющихся электронномикроскопически частиц вируса клещевого энцефалита. Это обстоятельство отмечено авторами, изучавшими западный штамм вируса клещевого энцефалита с применением методов электронной микроскопии и иммунофлуоресценции (Ковач, Кунс, Стокингер 1962). Указанные авторы предполагают, что в клетках продуцируется избыточное количество вирусного белка по сравнению с количеством вирусной нуклеиновой кислоты. Полученные нами гистохимические данные показали накопление в клетках инфицированных культур значительного количества РНК и белка. На электронномикроскопических картинах это находит отражение в концентрации рибо-

омно-
ни сс
1962,
экопи-
серву-
разов-
струк-
му, яв-
ленис

ГИБР
I

В :
черня-
ую р
годом
В
ить и
рипп-
Изуче-
одил-
риног-
ных ф
Эк-
случас-
такти-
ва (А
ванны
делен
холоди
вирус-
не св-
нами
ванной
РН
авони
ус вв
На
тонсно
курии
вили в
На

тем световой и электронной
ическими методиками. Клет-
цированы вирусом (штамм

етках и в культурной жи-
з после заражения. Макс-
на 3--4 дни культивирова-
блюдений выявлены изме-
нии, возникающие первонач-
я. В этой области через 24
не эозинофилии, усиление
вирусного антигена. Специ-
з 4% клеток, и постепенно
о около 10% клеток. Свело-
лось по цитоплазме. К 96
зме почти всех сохранив-

оптических данных для
культуры были обработа-
клетках было оптималь-
ражения. Частицы вируса
плазме клеток. Они распо-
з вакуолях или резервуа-
ами, с которыми связаны
ческую форму, электрона-
менее плотную перифери-
Выявлены структуры по-
ые частицы. Эти образо-
вом, в непосредственной
босом. Наряду с такими
образования, содержа-
размерам с вирусными
мечено сильное развитие
юфия зоны Гольджи, по-
плазме.

талкиваемся, на первый
орое существует между
ифической иммунофлюо-
электронномикроскопи-
та. Это обстоятельство
штамм вируса клещево-
лектронной микроскопии
гокингер 1962). Указан-
продуцируется избыточ-
енно с количеством ви-
нами гистохимические
ифицированных культур
а электронномикроско-
в концентрации рибо-

емного материала. Кроме того, можно предположить на основа-
нии собственных наблюдений и литературных данных (Ковач и др.
1962, Морган и др., 1961), что выявленные нами электронномикро-
скопически специфические цистоподобные структуры, а также ре-
зервуары с тонкозернистым содержимым, представляют собой об-
разования, в которых идет формирование вирусных частиц. Это
структуры часто локализируются в околоядерной зоне и по-видимо-
му, являются ответственными (также как и вирусные частицы) за
специфическую иммунофлуоресценцию.

ГИБРИДИЗАЦИЯ ВИРУСОВ ГРИППА ПРИ СОВМЕСТНОМ КУЛЬТИВИРОВАНИИ ИНФЕКЦИОННОГО ВИРУСА И РНК — СОДЕРЖАЩИХ ПРЕПАРАТОВ

М. И. СОКОЛОВ, Р. Я. ПОДЧЕРНЯЕВА
(МОСКВА)

В проведенных нами исследованиях (М. И. Соколов, Р. Я. Под-
черняева, А. Н. Слепушкин, Л. К. Меньших) выделить инфекцион-
ную рибонуклеиновую кислоту из вирусов гриппа типа А и А2, ме-
тодом Гирера и Шрамма, не удалось.

В настоящем исследовании была предпринята попытка выяс-
нить возможность передачи признаков с помощью РНК вируса
гриппа при совместном культивировании с инфекционным вирусом.
Изучение возможности передачи признаков с помощью РНК про-
водили на переживающей ткани хориоаллантоисной оболочки ку-
риного эмбриона и в культуре трипсицизированной ткани кури-
ных фибробластов.

Эксперименты были поставлены в двух вариантах. В одном
случае в культуру ткани вводили РНК вируса гриппа А и ин-
активный вирус гриппа А2; во втором — РНК обоих вирусов грип-
па (А и А2). Контролями служили культуры ткани, инокулиро-
ванные: 1) интактным вирусом, 2) РНК, 3) РНК+РНК-аза. Вы-
деление РНК производили по методике Гирера и Шрамма путем
холодной обработки фенолом 48-часовых аллантоисных культур
вируса А (WSN) и А2 (Ф3). Гибридизацию, селекцию и изуче-
ние свойств гибридных вариантов проводили по ранее описанным
нами методам, примененным в опытах скрещивания инактивиро-
ванного и инфекционного вируса.

РНК вводили в неразведенном виде в объеме 0,2 мл, а инфек-
ционный вирус — разведенный 1:1, в том же объеме. РНК и ви-
рус вводили или одновременно или с интервалом в один час.

Нами проведено шесть опытов гибридизации на хориоаллан-
тоисной оболочке куриного эмбриона и три опыта на культуре
куриных фибробластов. Каждый вариант опыта и контроля ста-
били в 4-х пробирках с тканевой культурой.

Наши исследования показали, что при совместном культиви-

снова-
и др.
икро-
ке ре-
эй об-
Это
димо-
ы) за

НОМ

Под-
цион-
), ме-

зьяс-
руса
усом.
про-
а ку-
сури-

дном
ин-
рип-
иро-
Вы-
утем
ьтур
зуче-
ным
иро-

фек-
и ви-

лап-
туре
ста-

иви-

ровании инфекционного вируса гриппа А2 с РНК вируса А инфек-
ционный вирус выявлялся в культуральной жидкости, как и при
культивировании на хориоаллантоисных оболочках, так и в культу-
ре ткани куриных фибробластов. При введении РНК обоих ви-
русов (А и А2) инфекционный вирус обнаруживали лишь после
одного пассажа на куриных эмбрионах. При введении в культуру
ткани только РНК и РНК вместе с РНК-азой (контроль) ин-
фекционный вирус не был выделен после 4-х пассажей на кури-
ных эмбрионах.

При совместном культивировании РНК вируса А с инфек-
ционным вирусом А2 были выделены варианты обладающие ап-
тигенными свойствами вируса гриппа А2. Только один из ва-
риантов по серологическим свойствам принадлежал к типу А.
У селекционированных гибридов был изучен ряд биологически-
х свойств.

Проведенные исследования показали возможность передачи
помощью РНК — содержащих препаратов ингибиторорезистент-
ности, терморезистентности, инфекционной и иммуногенной ак-
тивности. В ряде случаев наблюдалась передача патогенных
свойств.

Таким образом, нами впервые установлена возможность пере-
дачи генетических признаков в опытах совместного культивиро-
вания инфекционного вируса одного типа и РНК — другого типа
вируса гриппа.

ВАКЦИННЫЕ СВОЙСТВА НЕКОТОРЫХ ШТАММОВ ВИРУСА ГРИППА ТИПА А — 2, ПОЛУЧЕННЫХ ПУТЕМ АДАПТАЦИОННОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ И ГИБРИДИЗАЦИИ

СОКОЛОВ, М. И., СТЕПУШКИН, Л. К., ОБРОСОВА-СЕДОВА Н. П.,
ЛОЗИНСКАЯ Т. М., ПОДЧЕРНЯЕВА Р. Я., ДАВЫДОВА А. А.
(МОСКВА)

Получение стандартных, слабо реактогенных, высокоиммуно-
генных вакцинных штаммов вируса гриппа является одной из ак-
туальных задач, стоящих перед исследователями живых гриппоз-
ных вакцин.

Мы изучали вакцинные свойства штаммов вируса гриппа А-2,
полученных путем адаптации последнего к организму мышей
(Обросова-Серова), к размножению на куриных эмбрионах при
пониженных температурах 32—28° (Лозинская) и в опытах гиб-
ридации (Подчерняева).

Перед проведением опытов по адаптации и гибридизации, а
также перед наблюдениями на добровольцах штаммы трехкрат-
но клонировали методом предельных разведений. В ходе адапта-
ционной изменчивости и в результате гибридизации у штаммов
возникли стабильные изменения некоторых генетических призна-

ков
ные
ства
мног
32° —
штам
тиро
М30
да Е
ходит

Т
деки
ные
штам
Ориг
нась
Р

Ва

льво
льво
Фрун
1-26
1-10
Крас

База
исс
ный
боле
толь
реак

интр
ните
отме
ните

пост
ше
адап

вируса А инфек-
кости, как при
так и в куль-
РНК обеих ви-
ли лишь после
ни в культуре
(контроли) ин-
сажей на кури-

а А с инфек-
обладающие ан-
одни из ва-
ал к типу А
биологически

сть передачи с
торорезистент-
упоенной ак-
на патогенны

ожность пере-
го культивиру-
— другого типа

ТАММОВ ЯХ ПУТЕМ РИДИЗАЦИИ

ДОВА Н. П.
ДВА А. А.

высокоиммун-
одной из ак-
ивных гриппоз-

за гриппа А-2.
низму мышей
мбрионах при
в опытах гиб-

бридизации, а
имы трехкрат-
ходе адапта-
а у штаммов
еских призна-

ков и, в частности, все они приобрели более высокие инфекцион-
ные свойства для куриных эмбрионов, что важно для производ-
ства. Так, ИД-50 для куриных эмбрионов адаптированного к раз-
множению при температуре 32° вариант-штамма Львов — Я —
32° — 10 была на 3 логарифма выше, а у адаптированного к мы-
шам штамма Львов-М20 соответственно на 4 логарифма, у адап-
тированного к организму тех же животных штамма Фрунзе —
М30 на 4 логарифма, у гибрида Р-26 на 3 логарифма и у гибри-
да Р — 10 — 6 на 2 логарифма выше, чем у соответствующих ис-
ходных штаммов.

Таким образом, для изучения на добровольцах мы взяли се-
лекционированные генетически однородные штаммы. Приготовлен-
ные из них вакцины вводили интраназально добровольцам спе-
циальными распылителями, предложенными Шаховым А. К. и
Орловой Н. Н. В ряде опытов до введения вакцина разводилась
1 : 1 физиологическим раствором.

Результаты представлены в таблице.

Вакцинный штамм	Число обследо- ванных	Реактоген- ность тем- пература		Приживаемость	Иммунность по- вышение титра антител в 4 и более раза к		
		37,1— 37,4	выше 37,4		гомо- лог- штам- му	Львов- исх.	Фрун- исх.
Львов исходный	30	4	—	4 18	5 26	7 25	
Львов я32 10	16	6	—	9 37	19 41		4 11
Львов м20	46	11	2	12 35	16 45		8 27
Фрунзе м30	16	4	—	2 16	9 16	7 16	7 16
Г-26	21	5	1	7 11	9 20		
Г-10-6	10	1	—	5 10	3 8		6 8
Краснодар 101	31	5	—	18 31	10 27	8 24	

Изучение реактогенности, полученных вариант-штаммов по-
казало, что наряду с вариантами Львов — я32°10 и Г — 10 — 6 ме-
нее реактогенными, чем исходный штамм. Львов-исх. и эталон-
ный штамм Краснодар 1959/101, имелись варианты с несколько
более высокой реактогенностью — Львов — м20, Г — 26. Они не
только вызывали больше случаев незначительных температурных
реакций (37,1—37,4°), но и в единичных случаях у лиц с низкими
титрами антител в крови обуславливали более высокое повыше-
ние температуры — до 38°. Большинство температурных реакций
отмечалось у лиц с низкими титрами антител в крови. Следует
отметить, что реактогенность штамма Львов — м20 после допол-
нительных пассажей на куриных эмбрионах снизилась и в двух
последних опытах он уже не вызвал реакций с температурой вы-
ше 37,4°. Наименее реактогенным был штамм Львов — я32°10,
адаптированный к размножению при низкой температуре, что

свидетельствует о применимости этого приема для снижения реактогенности вируса гриппа.

В процессе адаптации к новым условиям удалось повысить приживаемость и иммуногенность изученных вариантов — штаммов. В особенности это относится к адаптированному к мышам штамму Львов — м20, который приживался в носоглотке привитых значительно чаще исходного и вызывал нарастание антител в 4 и более раза у $\frac{1}{3}$ привитых, в то время как исходный штамм обуславливал такие сдвиги антител лишь у $\frac{1}{3}$ вакцинированных. Вариант Львов — я32°10 также вызывал значительное нарастание антител почти у половины привитых.

Хотя приживаемость в носоглотке привитых у всех изученных штаммов, за исключением Г-26, была несколько ниже приживаемости эталонного вакцинного штамма Краснодар 1959/101, однако иммуногенность некоторых из них была более высокой. Так, если штамм Краснодар — 101 вызывал нарастание антител в крови в 4 и более раза лишь у $\frac{1}{3}$ привитых, то штаммы Львов я32°10 и Г-26 обуславливали такие сдвиги почти у половины привитых, а штамм Фрунзе — м30 более, чем у половины. Учитывая это и слабую реактогенность большинства изученных штаммов, мы рекомендовали их Свердловскому институту вирусных инфекций для более широкой апробации.

Совместно с эпидемиологическим отделом этого института (зав. Бурганский) мы провакцинировали каждым из вариантов, кроме исходного и Г-10-6, по 100 человек. Наблюдения показали, что реактогенность вариантов была незначительной и колебалась в зависимости от штамма в пределах 3-5% температурных реакций до 37,5°, при дозе 0,5 мл неразведенной вакцины. Изучение иммуногенности еще не закончено.

Эти результаты позволяют прийти к окончательному решению вопроса о том, какие из вариантов следует рекомендовать производству в качестве вакцинных штаммов вируса гриппа типа А2.

ПОЛУЧЕНИЕ И ИЗУЧЕНИЕ ШТАММОВ ВИРУСА ОРНИТОЗА С ИЗМЕНЕННЫМИ СВОЙСТВАМИ

В. И. ЧЕРВОИНСКИЙ

(МОСКВА)

За последние годы в области вирусологии и генетики сделаны важные открытия, позволяющие избирать новые пути изменения наследственных свойств вирусов и получения штаммов со стабильной наследственностью.

Возбудители группы хламидоза, в отличие от других вирусов, обладают чувствительностью к некоторым антибиотикам *in vivo*. В связи с этим представляет интерес получение штаммов, устой-

ивых
свор.

В

имы

штам:

Лорн

2000,

штам.

Те

фрбрс

сконт

своис

ослаб

вольк

некото

дальн

35 пас

Пр

танат

серий

сичес

КМ_нС

В

ана

исход

вании

день,

кова).

Ме

в белг

в нас

ду тог

ше ср

В

быть

вариа

вакци

измене

глобус

* Д

новостой

и полу

аратам

для снижения ре-

далось повысить
штаммов.
к мышам штам-
лотке привитых
тител в 4
сходный штамм
закцинированных
гельное нараста-

всех изученных
ниже приживае-
1959/101, одна-
е высокой. Так,
тител в кро-
гаммы Львов
половины при-
ины. Учитывая
ных штаммов,
русных инфек-

того института
из вариантов,
блюдения пока-
ельной и коле-
% температур
ной вакцины.

ному решению
идовать произ-
иппа типа А2.

А ОРНИТОЗА

этики сделаны
эти изменения
мов со ста-

ругих вирусов.
икам *in vivo*.
аммов, устой-

чивых к этим лекарственным формам, и соответствующих анти-
свороток к таким штаммам.

В настоящей работе был использован тетрациклин для внут-
мышечных инъекций, к которому чувствительны лабораторные
штаммы. Серийными пассажами на куриных эмбрионах штамм
«Тори» в присутствии повышающихся доз тетрациклина (1.000,
3.000, 3.000 ед.) был получен тетрациклиностойчивый вариант
штамма*.

Термоустойчивые варианты получали на клетках куриных
фибробластов пассажами при 42°C. После 37 пассажей при 37°C
(контроль) у штаммов не изменились патогенные и вирулентные
свойства. Культивирование при 42°C после 19 пассажа вызвало
ослабление патогенности вируса для белых мышей: отмечено не
только удлинение инкубационного периода, но и выздоровление
некоторых животных от обычно смертельной инфекции. При
дальнейших пассажах штамм приобрел исходные свойства (33 -
й пассаж).

При использовании в качестве мутагенного фактора перман-
ганата калия в опытах на белых мышах показано, что после 8
серийных пассажей (разведение препарата 1:1.000 — доза неток-
сическая для животных) и экспозиции 1, 2, 3 часа при 0°+4°C
KMnO₄ не оказывал действия на биологические свойства штаммов.

В опытах по клонированию штаммов методом «бляшек» пока-
зана прямая зависимость быстроты развития колоний вируса от
исходного материала для заражения. В частности, при использо-
вании желточной культуры вируса «бляшки» развиваются на 13-й
день, мозговой — на 7 день (В. И. Червонский и Л. Н. Решетни-
кова).

Метод предельных разведений в опытах на куриных эмбрионах
и белых мышей (интраназальное заражение), также применяемый
в настоящей работе, не дал еще существенных результатов в си-
лу того, что для экспериментов необходимы чрезвычайно длитель-
ные сроки.

В результате проводимых исследований практически смогут
быть использованы термоустойчивые и антибиотикоустойчивые
варианты штаммов для получения диагностических антигенов и
вакцин. Возможно также, что для лечения инфекции, вызванной
измененными штаммами, будет необходимо применение гамма-
глобулина в отношении таких штаммов.

* Дальнейшая работа проводится в направлении создания у тетрацикли-
нустойчивого варианта дополнительной устойчивости к другим антибиотикам
и получения нового варианта — устойчивого одновременно с нескольким пре-
паратам

ЕСТЕСТВЕННАЯ И ИНДУЦИРОВАННАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ ВИРУСА ЗАПАДНОГО ЛОШАДИНОГО ЭНЦЕФАЛОМИЕЛИТА

И. И. ПОНИКОВ, Г. Д. ЗАСАХИНА, Г. М. БРАГИЦА
(МОСКВА)

Популяция вируса Западного лошадиного энцефаломиелита состоит из вариантов, образующих под агаром бляшки различных размеров (Ghersin Fliry, 1961, Marschall, 1962). Мы изучали генетическую стабильность чистых линий вируса, образующего бляшки различных размеров. Оказалось, что чистые линии варианта, образующего мелкие бляшки сохраняют этот признак стабильным при пассировании через тканевые культуры и мозг белых мышей. Линии варианта, образующего крупные бляшки, диссоциировали в процессе пассажей через тканевые культуры на варианты, образующие крупные и мелкие бляшки. Пассажи таких вариантов через мозг белых мышей приводили к преимущественному образованию крупных бляшек.

Варианты, образующие крупные бляшки, пассировали в тканевых культурах, при клонировании выделяли только варианты, образующие крупные бляшки, после чего вновь заражали тканевые культуры с последующим клонированием таких же вариантов. В этом случае также имела место диссоциация этих вариантов.

Кроме признака размера бляшек под агаром, и стабильности его, изучали признак патогенности вируса для белых мышей при внутримозговом и внутрибрюшинном путях заражения, способность вируса размножаться при повышенной температуре и чувствительность к ингибиторам агарового покрытия.

На модели бактериофагов и некоторых вирусов животных было показано мутагенное действие ультрафиолетовых лучей (Krieg D., 1959, Doudney C., 1958, Abel, 1962). В наших опытах проводилось облучение ультрафиолетовыми лучами внутриклеточного, внеклеточного вируса и вирусной рибонуклеиновой кислоты (РНК). В дальнейшем изучались чистые линии вируса, выделенные методом бляшек из популяции облученного материала по признакам, описанным выше.

Изучалась кинетика выживаемости вируса. Оказалось, что кривая инактивации вируса УФ-лучами является сложной и на протяжении определенного интервала титры вируса остаются стабильными.

Возможно, этот феномен зависит от неодинаковой чувствительности вирусных частиц к УФ-лучам, либо объясняется множественной реактивацией облученных частиц, либо поражения в вирусных частицах восстанавливаются как-то клеткой-хозяином.

ИЗ
В л.
ных по
1959; I
варианто
в каче
клеточн
рые вз
терми
В на
которых с
детально
тид;
разоан
на вы
ших, д
Дейс
клетках
вирусу
рой). П
различ
клониро
на бляш
активно
вирус не
для мы
свойства
воздейст
стающе
важные
ли виру
тут зар
ностью т
рования,
ние при
ших мы
для взро
варианто
клеточному
бляшек.
При
варианто

ИЗМЕНЧИВОСТЬ ЕФАЛОМИЕЛИТА

М. БРАГИЦА

цефаломиелиита со-
ляшки различных
2). Мы изучали те-
уса, образующего
ые линии ва-
ют этот признак
культуры и мозг
крупные шляпки.
евые культуры на
шки. Пассажи та-
дили к преимуще-

иссировали в тка-
только варианты.
ь заражали тка-
ем таких же ва-
ошания этих ва-

4, и стабильности
белых мышей при
ажения, способ-
мпературе и чув-

ов животных бы-
летовых лучей
В наших опытах
ами внутрикле-
клинной кисло-
ии вируса, выде-
го материала по

Оказалось, что
сложной и на
руса остаются

ковой чувстви-
ьяняется мно-
бо поражения в
еткой-хозяином.

ИЗМЕНЧИВОСТЬ ВИРУСОВ ГРУППЫ КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА ПОД ВЛИЯНИЕМ ХИМИЧЕСКИХ МУТАГЕННЫХ ФАКТОРОВ

Г. Д. ЗАСУХИНА

(МОСКВА)

В литературе описана изменчивость некоторых вирусов живот-
ных под влиянием химических мутагенных факторов (А. Воеус
1959; I. Thiry, 1963). При этом наблюдали возникновение ва-
риантов с разнообразным сочетанием генетических признаков.
В качестве эффективных мутагенов использовались азотистая
кислота, гидроксилламин, 5 бромурацил и другие вещества, кото-
рые взаимодействуют с различными компонентами генетических
терминант.

В наших опытах изучались мутагенные факторы, действие ко-
торых описано на вирусах животных: 5бромурацил; вещества, му-
тагенное действие которых известно на бактериофагах: формаль-
дегид; мутагены, действие которых на вирусы не описано: 1,4 бис-
назоацетилбутан (совместно с И. А. Рапопортом), однако опи-
ан выраженный мутагенный эффект этого соединения на расте-
ниях, дрозофиле, актиномицетах.

Действие мутагенами проводилось на вирус, развивающийся в
клетках тканевой культуры, а также на бесклеточный вирус и
вирусную рибонуклеиновую кислоту (совместно с Т. М. Браги-
ца). После воздействий мутагенными веществами на вирус в
различных условиях проводилось изучение чистых линий вируса,
полученных из отдельных бляшек. Кроме определения разме-
ра бляшек, исследовалась периферическая и интрацеребральная
активность вирусов в опытах на белых мышах, и в случае, если
вирус не был патогенен для мышей, изучалась его патогенность
для мышей-сосунков и интерферирующие и цитопатогенные
свойства вируса. В результате изучения потомства вируса после
воздействия мутагенными факторами были получены вирусы, об-
ладающие свойствами, отличными от исходного штамма: I. Па-
тогенные как и исходный штамм при интрацеребральном введе-
нии вируса, но со сниженной патогенностью при периферическом
пути заражения в опытах на мышах. II. Со сниженной патоген-
ностью при интрацеребральном и периферическом путях инфици-
рования. III. Патогенные при интрацеребральном, но непатоге-
нные при периферическом заражении. IV. Непатогенные для взрос-
лых мышей, но патогенные для мышей-сосунков. V. Непатогенные
для взрослых мышей и мышей-сосунков. Вирусы последних двух
вариантов определялись в реакции интерференции, по цитопати-
ческому действию в культурах почек эмбриона свиньи и методом
бляшек.

При действии 5 бромурацилом наблюдалось возникновение
вариантов только 1 и 2-го типов, однако при пассировании через

0

кивот-
Воеус
ва-
аков.
истая
кото-
еских

е ко-
и, му-
маль-
бис-
опи-
асте-

ися в
с и
аги-
ус в
уса,
зная
если
ость
ные
сле
об-
Па-
еде-
ком
ген-
щи-
ен-
юс-
тые
вух
ти-
юм

ние
рез
79

тканевые культуры патогенные свойства вариантов не были ста-
бильны. Под влиянием формальдегида и 1,4 бисдиазоацетилбута-
на наблюдалось возникновение вариантов всех типов. При изуче-
нии стабильности признака апатогенности для мышей у ряда ва-
риантов это свойство оставалось неизменным на протяжении 5
пассажей через тканевые культуры.

Появление вариантов с описанными свойствами не наблюда-
лось при действии формальдегидом на вискеточный вирус. Не
удалось получить также варианты вируса при изучении потомства
вируса, выращенного на клетках, предварительно обработанных
формальдегидом. Действие формальдегидом на вирусную рибо-
нуклеиновую кислоту приводило к образованию большого числа
вариантов вируса.

МУТАНТЫ ВИРУСА ГРИППА, ПОЛУЧЕНИЕ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ НЕКОТОРЫХ ХИМИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ

М. И. СОКОЛОВ, Н. П. ОБРОСОВА СЕРОВА
(МОСКВА)

В работе дана характеристика мутантов вируса гриппа, полу-
ченных под воздействием химических веществ.

Исследования проводили с патогенным для мышей штаммом
вируса гриппа А2 (штамм ФМ 33). В качестве мутантов были
применены азотистая кислота и 5 метил-6 оксидиэтила-
миноэтилпиримидиндисульфатхлоргидрат (препарат № 4).

После обработки вируса гриппа *in vitro* 4 М раствором азотис-
той кислоты и последующей многократной селекции методом пре-
дельных разведений, были выделены мутанты, отличающиеся от
исходного штамма рядом генетических свойств. Мутанты, в отли-
чие от исходного штамма утратили патогенность и токсичность
для мышей, обладали низкими титрами гемагглютининов и менее
выраженной ферментативной способностью (медленная элюция
с эритроцитов) и слабой иммуногенностью. Наряду с этим му-
танты утратили ингибиторрезистентность к нормальной лошади-
ной сыворотки. У части выделенных штаммов сохранились исход-
ные свойства.

Мутанты были проверены на стабильность путем пяти последо-
вательных пассажей в куриных эмбрионах. В данных условиях у
мутантов сохранились указанные выше свойства.

Однократная обработка вируса гриппа *in vitro* препаратом
№ 4 (см. выше) в концентрации 0,1% вызвала утрату следующих
свойств:

- а) патогенность и токсичность для мышей; б) способность аг-
глютинировать эритроциты мышей. Наряду с этим мутанты менее
активно размножались в куриных эмбрионах.

После трехкратной последовательной обработки тем же пре-

пара
еще
генн
тини
знач
нов
рези
торс
лас
сох
ческ
рус
I
дейс
лас
ных
торс
I
что
ле
ся у
сыв
всег
рези
клю
тесн
агер
пор

В м
до с
ясне
мле
6-14

антов не были ста-
ндиазоацетилбута-
типов. При изуче-
мышей у ряда ва-
на протяжении 5

вами не наблюда-
еточный вирус. На
изучении потомства
льно обработанных
а вирусную рибо-
ю большого числа

ЕНИЕ ПОД ЖКИХ ВЕЩЕСТВ

РОВА

уса гриппа, полу-

мышей штаммом
мутантов. Были
6 оксидиэтила-
рат № 4).

раствором азотис-
ции методом пре-
отличающиеся от
Мутанты, в отли-
и токсичность
отнинов и менее
дленная элюция
ряду с этим ма-
мальной лошади-
хранились исход-

ем пяти последо-
нных условиях у

itro препаратом
трату следующих

способность аг-
м мутанты менее

рки тем же пре-

паратом, в указанной концентрации, были получены мутанты с еще более измененными свойствами. Наблюдалась утрата патогенности и токсичности для мышей, а также способности агглютинировать их эритроциты, изменчивость вируса сопровождалась значительным снижением инфекционности для куриных эмбрионов и иммуногенности. Мутанты обладали более высокой терморезистентностью и замедленной элюцией с эритроцитов. Ингибиторорезистентность к нормальной лошадиной сыворотке сохранялась. После пяти пассажей мутантов в куриных эмбрионах у них сохранились указанные выше свойства.

Таким образом, показана возможность получения путем химического мутагенеза непатогенных и не токсических штаммов вируса гриппа.

Представляет интерес, что у мутантов, полученных под воздействием азотистой кислоты, утрата патогенности сопровождается утратой ингибиторорезистентности, тогда как у непатогенных мутантов, полученных под влиянием препарата № 4, ингибиторорезистентность сохранялась.

В ранее проведенных нами исследованиях было установлено, что приобретение вирусом гриппа патогенности для мышей (после многократных пассажей через легкие мышей) сопровождается утратой резистентности к ингибиторам нормальной лошадиной сыворотки. Результаты данного наблюдения показывают, что не всегда утрата патогенности сопровождается утратой ингибиторорезистентности. В свете указанных данных можно прийти к заключению, что хотя патогенность и ингибиторорезистентность тесно связаны, однако, при воздействии на вирус химическим агентом возможна утрата патогенности, с сохранением ингибиторорезистентности.

ХРОМОСОМНЫЕ ПЕРЕСТРОЙКИ КЛЕТОК КУЛЬТУРЫ ТКАНИ ЧЕЛОВЕЧЕСКИХ ЭМБРИОНОВ, ИНФИЦИРОВАННОЙ МИКСОВИРУСАМИ

В. В. ВАШКОВА, В. М. СТАХАНОВА

(МОСКВА)

Несмотря на то, что проблеме роли хромосомных aberrаций в мутационном процессе посвящено большое количество работ, до сих пор, вопрос об индуцировании их вирусом остается невыясненным. Известно много агентов, вызывающих мутации клеток млекопитающих и индуцирующих хромосомные перестройки. Од-

ы с
гато-
глю-
ласть
риб-
рмо-
иби-
ания
них

имн-
ви-

воз-
гда-
ген-
иби-

сно,
пос-
ает-
ной

не
оро-
за-
ость
ким
ито-

ы

ций
бот,
вы-
ток
Од-

81

нако, до сих пор нет единого мнения, может ли инфицированная вирусом клетка пройти через митоз.

Нами была предпринята попытка проследить хромосомные перестройки клеток культуры ткани человеческих эмбрионов, инфицированной миксовирусами. Работа проведена была при использовании первично-трипсинизированных клеток, эмбриона человека и вирусов истинной и ложной чумы птиц (штамм «Вейбридж» и «Sato»). Клетки в количестве 2×10^6 мл питательной среды засеивали на покровные стекла 18×9 мм, помещенные в пенциллиновые флаконы. После экспозиции, равной 70 часам (что соответствует пику митозов), производили заражение вирусом в количестве 10^6 и 10^{10} и.к. на клетку. Препараты фиксировали в смеси спирт-ледяная уксусная кислота (3:1) через 5, 20, 22, 24, 48 часов после заражения вирусом. Окраску производили орсеином по общепринятой методике. Подсчет и изучение характера хромосомных перестроек культуры ткани (зараженных и незараженных) проводили на стадии анафазы. Показано, что процент хромосомных aberrаций возрастает при вирусной инфекции до 6—10%, по сравнению с 1,8—2% в контроле. Отмечено преобладание перестроек хроматидного типа. Показано, что вирус истинной чумы птиц индуцирует aberrации в большем проценте, чем вирус ложной чумы птиц.

**ИЗМЕНЧИВОСТЬ ПАТОГЕННОСТИ
И ИНГИБИТОРЕЗИСТЕНТНОСТИ МИКСОВИРУСОВ
ПРИ ПОНИЖЕННЫХ ТЕМПЕРАТУРАХ**

Т. М. ЛОЗИНСКАЯ
(МОСКВА)

Целью исследования являлось изучение изменчивости патогенного для мышей штамма вируса гриппа А2 в процессе культивирования его в аллантоисной полости куриного эмбриона при пониженной температуре (32°). Исходный патогенный для мышей штамм ЛМ 20 обладал способностью агглютинировать эритроциты мыши (1:320), был ингибиторорезистентный и размножался в куриных эмбрионах при 41°. После 10 последовательных пассажей при 32° был получен вариант, с резко пониженной патогенностью для мышей, а после дополнительной селекции вариант полностью утратил патогенные свойства, не агглютинировал эритроциты мыши и приобрел чувствительность к неспецифическим ингибиторам НЛС. Кроме этого, вариант утратил способность размножаться в курином эмбрионе при 41°. Контрольные пассажи исходного штамма при 36° не привели к изменению присущих ему свойств.

Результаты настоящего исследования представляют интерес в двух аспектах:

82

1.
вирус.
2.
резис-

И
руса
ткан
инфе
Блом
Н
грипп
В
лензи
ВСП
поль-
10° E
O
на 7
д.ли
репо
част
физи
конт
С

ку р
1
2
3
день
Г
руса
зара
зульт
том,
пояе
цып.
кул
С
шее
виде
лен
6*

1. Показана возможность быстрого изменения патогенности вируса гриппа при пониженных температурах;
2. Подтверждается наличие связи патогенности и ингибиторорезистентности к спороточным ингибиторам.

ИНТЕРФЕРЕНЦИЯ МЕЖДУ ВИРУСАМИ ГРИППА И САРКОМЫ РАУСА IN VIVO

А. Т. КРАВЧЕНКО, А. Д. АЛЬШТЕИН, Е. С. ВОРОНИН
(МОСКВА)

Имеются литературные данные о подавлении активности вируса саркомы Рауса (ВСР) вирусами лейкозов кур в культуре ткани (Рубин и сотрудники), а также об интерференции между инфекционными вирусами и ВСР в куриных эмбрионах (Окер-Блом и согр.).

Нами получены данные об интерференции между вирусом гриппа и ВСР в организме цыпленка.

В работе использовали ВСР, штамм Карр, в виде 30% суспензии опухоли цыпленка. Суспензию сохраняли при -50°C . Титр ВСР составлял $10^{6.0}\text{E.D}_{50}$ мл. Штамм вируса гриппа А PR8 использовали в виде аллантоисной жидкости с титром $10^{8.5}-10^9$ ЕД₅₀ мл.

Опыт интерференции между вирусом гриппа и ВСР ставили на 7-14-дневных цыплятах породы белой леггорн. Вирусы вводили в перепонку крыла в объеме 0,2 мл. Контролем служили перепонки крыльев, в которые вводили физиологический раствор; в части опытов вирусом гриппа инокулировали одну перепонку, а физиологическим раствором другую; (в большинстве опытов контроль ставили на цыплятах, не получавших вируса гриппа).

Срок наблюдения за цыплятами составлял 21—28 дней, оценку результатов проводили по 3 критериям:

1. Количество крыльев с развившимися опухолями.
2. Срок появления опухолей (средний латентный период).
3. Размер среднего поперечника опухолей на тот или иной день.

Нами была изучена возможность подавляющего влияния вируса гриппа на развитие опухолей в перепонке крыла цыпленка, зараженного ВСР через 48 час после введения вируса гриппа. Результаты многократно проведенных опытов свидетельствуют о том, что подавление выражалось в удлинении латентного периода появления опухолей, в полной задержке их развития у части цыплят, а также в меньшем размере опухолей в перепонках, инокулированных вирусом гриппа.

Описанный феномен носит местный характер, т. к. подавляющее действие вируса гриппа на развитие опухолей можно было видеть при постановке опыта и контроля на одном и том же цыпленке.

6*

83

инфицированная

хромосомные ле-
эмбрионов, ин-
на была при ис-
ок эмбриона че-
д (штамм «Вейб-
питательной сре-
ещенные в пени-
ой 70 часам (что
жение вирусом в
фиксировали в
рез 5, 20, 22, 24,
оизводили орспе-
енные характера
енных и неза-
авно, что процен-
ой инфекции до
гмечено преобла-
что вирус истин-
м проценте, чем

ГИ СОВИРУСОВ РАХ

енчивости пато-
з процессе куль-
го эмбриона при
ный для мышей
ювать эритроци-
размножался в
ательных пасса-
женной патоген-
лекции вариан-
ютинировал эри-
чеспецифическим
ил способность
юльные пассажи
ю присущих ему

влияют интерес в

Однако, при внутримышечном введении высокой дозы вируса гриппа (10^8 ЕД₅₀) отмечено статистически достоверное торможение развития опухолей при последующем введении ВСП в перепонку крыла.

Установлено, что ингибирующая активность вируса гриппа снимается иммунной сывороткой против него и интенсивным прогреванием (120 мин. при 60°). Однако, вирус гриппа полностью или частично инактивированный при 56°, сохраняет способность тормозить образование опухолей у цыплят.

Результаты опытов показывают, что подавляющее действие вируса находится в прямой зависимости от дозы ВСП: при дозе 10^4 ОД₅₀ это действие практически не проявляется; при меньших дозах наблюдается отчетливое торможение формирования опухоли, при небольших дозах (менее 100 ОД₅₀) отмечается полное подавление образования опухолей у части цыплят.

Было изучено влияние интервала между введением вируса гриппа и ВСП на развитие опухолей у цыплят. Вирус гриппа, введенный за 10 дней до заражения ВСП, не проявлял ингибирующей активности. Начиная с 6-дневного интервала такая активность выявлялась, причем максимум ее наблюдался при введении вируса гриппа за один день до ВСП, одновременно с ВСП, а также через 1-2 дня после ВСП.

Отчетливое торможение образования опухолей отмечено при введении вируса гриппа до 6 дней после ВСП.

В то же время введение вируса гриппа после первых макроскопических признаков появления опухоли не приводило к замедлению ее роста.

По-видимому, полученные данные свидетельствуют о том, что на ранних этапах развития прогрессия саркомы Рауса происходит за счет размножения вируса (этот процесс блокируется вирусом гриппа); на более поздних этапах увеличение опухоли происходит преимущественно за счет размножения клеток (на этот процесс вирус гриппа не влиял).

ИЗУЧЕНИЕ ВИРУСНОЙ ИНТЕРФЕРЕНЦИИ В ОПЫТАХ НА ЖИВОТНЫХ

Л. М. МЕНТКЕВИЧ

(МОСКВА)

В последнее время, в связи с открытием интерферона и приписываемой ему роли в процессе выздоровления от вирусных инфекций, изучение феномена интерференции приобрело снова важное значение. Среди многочисленных работ, посвященных вирусной интерференции и роли интерферона, только в некоторых рассматривается влияние различных факторов на этот феномен.

В опытах, проведенных нами на куриных эмбрионах и белых мышках, изучалось воздействие кортизона, самототропного гормо-

на, кол:
иммуни:
гриппа
повакци
штамм
их зара

Инт
жало г
от виру
сов чер
повакци
действи
мен ин
кардит:
са ввод
интрапе
Вве
(0,0125
11-13°
русом
между

Исс.
женной
зараже
значите
магг.лк
лучени
спнжал
ниже,
ры под
опытах
являетс
ференц
Пол
лирова
также:

В п
твержд
ра бак
даются

и дозы вируса
ное торможение
ВСР в пере-

руса гриппа
сивным про-
на полностью
г способность

шее действие
СР: при дозе
при меньшей
ования, опу-
ается полное

ием вируса
гриппа, вве-
ингибирую-
такая актив-
ри введения
ВСР, а так-

гмечено при

овых макро-
гло к замед-

том, что на
происходит
ся вирусом
происходит
тот процесс

ПЫТАХ

она и при-
русных ин-
снова важ-
ных вирус-
торых рас-
номен.
х и белых
ого гормо-

на, колхицина, содержания животных в разных температурах и иммунизации. В качестве интерферирующего использовали вирус гриппа А2 Краснодар/161, в качестве претендующих - вирус осповакцины штамм WR и вирус энцефаломиокардита мышей штамм MM, вызывающие гибель мышей при интрацеребральном их заражении.

Интрацеребральное введение мышам вируса гриппа А2 снижало гибель их от вируса энцефаломиокардита на 0,5-1,5 lg и от вируса осповакцины на 1,5-3,0 lg при введении данных вирусов через 2-3 суток после интерферирующего вируса. Вирус осповакцины оказался более чувствительным к интерферирующему действию вируса гриппа, чем вирус энцефаломиокардита. Феномен интерференции между вирусами гриппа А2 и энцефаломиокардита мышей наблюдался только в том случае, если оба вируса вводили одним и тем же путем, т. е. или интрацеребрально, или интраперитонеально.

Введение мышам кортизона (2,5-5,0 мг), колхицина (0,0125 мг-0,015) или содержание животных в температуре 11-13° снижало, или совсем снимало интерференцию между вирусом гриппа А2 и энцефаломиокардита мышей, так же как и между вирусом гриппа А2 и осповакцины.

Исследование воздействия колхицина, кортизона или пониженной температуры (30-32°) инкубации куриных эмбрионов, зараженных вирусом гриппа, показало, что все эти факторы в незначительной степени или совсем не влияли на образование геммагглютининов и титр инфекционности вируса гриппа А2, при получении материала через 48 часов после заражения, но заметно снижали образование интерферона, титр которого был в 4-8 раз ниже, чем в контроле. Таким образом, исследуемые нами факторы подавляли в опытах на мышах феномен интерференции, а в опытах на куриных эмбрионах - образование интерферона; что является еще одним доказательством роли интерферона в интерференции, обусловленной вирусами гриппа.

Полученные данные указывают также на возможность регулировать образование интерферона в организме, что может иметь также и практическое значение.

ИЗУЧЕНИЕ ИНТЕРФЕРЕНЦИИ СВОБОДНЫХ И ИНДИКАТОРНЫХ ФАГОВ ПРИ РЕАКЦИИ НАРАСТАНИЯ ТИТРА ФАГА (РНФ)

В. В. ЖЕЛТВАЯ
(УЖГОРОД)

В последние годы накопилась значительная литература подтверждающая высокую эффективность реакции нарастания титра бактериофага (РНФ) для диагностики дизентерии. Наблюдаются однако случаи, когда из-за большого титра, имеющегося

в исследуемом субстрате свободного фага, РНФ не может быть учтена. Нередко при исследовании субстратов, содержащих свободный фаг, наблюдается значительное снижение количества фаговых пятен в опытной чашке по сравнению с контрольными. Одной из причин этого может явиться интерференция между серологически неродственными фагами. С целью выяснения возможного значения интерференции в подобных случаях был поставлен ряд опытов с индикаторными и свободным фагом, выделенным из проб воды.

В приведенном опыте показано, что исходное количество индикаторного фага составляло 45 частиц, после нарастания титра отмечено увеличение до 930. Таким образом урожайность индикаторного фага на одну фаговую частицу составила 20,6 частиц, при смешанной инфекции соответственно 19,6 частиц. Следовательно, урожайность фаговой частицы индикаторного фага при одиночной инфекции не отличалась от таковой при смешанной инфекции.

Количество свободного фага до опыта в среднем было 375 частиц. При одиночной инфекции урожай составил 58% частиц, при смешанной только 37,7%, т. е. при одиночной инфекции урожай был равен 15,5, при смешанной инфекции 10,4. Урожайность свободного фага при смешанной инфекции снизилась в 1,5 раза. Таким образом экспериментально доказана возможность возникновения интерференции при постановке РНФ.

Для выяснения частоты интерференции при постановке РНФ исследовано 641 проба, причем из этих проб в 257 было установлено наличие свободного фага. Из 257 проб, содержащих свободный фаг, в 134 РНФ была отрицательная, в 65 пробах можно было установить нарастание титра фага и в 58 пробах вместо нарастания титра в опытной пробирке отмечено уменьшение количества фаговых частиц.

Изучались данные о количественных соотношениях негативных колоний свободных и индикаторных фагов при постановке РНФ. Отмечена различная степень уменьшения количества фаговых пятен при постановке РНФ.

Наличие возбудителя дизентерии при интерференции фагов Флекснер в постановке РНФ в некоторых случаях удавалось доказать выделением дизентерийной культуры. В других случаях наличие в пробе дизентерийного возбудителя показывали положительные результаты РНФ из тех же проб с фагом Ньюкестль. Установлено, что интерференция между свободными и индикаторными фагами происходит только в тех случаях, когда в исследуемом РНФ субстрате имеется гомологичный микроб. Следовательно, все пробы, при исследовании которых наблюдается явление интерференции, следует считать положительными.

Приведенные данные свидетельствуют о том, что наличие свободного фага может в ряде случаев снизить диагностическую ценность РНФ, так как случаи интерференции, подобные описанным выше не учитываются. Настоящие исследования в значительной

86

степени расширили и дополнены. В связи с является разлитного перию.

ИЗУЧЕНИЕ ГРИППА А2 БОЛЕЗН

В литературу между вирусом сведений об и обще не имеет вирующей акт энзиматическ (Коп и Бар) по нитам «Т»), счета блюшек варительных рован методом же была усов овки блюшек компонента и агаровое покр ни блюшек в блюдения инт ражение моно обонх вирусов ВВН до титра до 300 в разл при 37°. Пров ванной дозе н ВВН при прог имельсь четко не снижало и разведения уж . Такого род разновидности ляло то, что п цированном см 120—144 часа, замедленным тончатая, выт

РНФ не может быть
эв, содержащих сво-
инженные количества
по с контрольными.
ференция между се-
ью выяснения воз-
случаях был по-
одным фагом, выде-

ное количество ин-
ле нарастания тит-
м урожайность ин-
составила 20,6 час-
19,6 частей. Следо-
каторного фага при
ой при смешанной

однем было 375 ча-
вил 5880 частиц,
ной инфекции уро-
10,4. Урожайность
изился в 1,5 раза.
зможность возник-

п постановке РНФ
257 было установ-
держанных свобод-
5 пробах можно
8 пробах вместо
о уменьшение ко-

ошениях негатив-
в при постанов-
ения количества

оференции фагов
ях удавалось до-
в других случаях
токазывали поло-
фагом Ньюкестль-
ыми и индикат-
их, когда в иссле-
микроб. Следова-
аблюдается явле-
ными.

что наличие сво-
ностическую цен-
зные описанным
в значительной

степени расширяют возможность практического применения РНФ,
и дополнительного выявления источников дизентерийной инфек-
ции. В связи с тем, что причиной интерференции между фагами
является различие латентных периодов, предпринято изучение ла-
тентного периода индикаторного и свободного фагов.

ИЗУЧЕНИЕ ИНТЕРФЕРИРУЮЩИХ СВОЙСТВ ВИРУСА ГРИППА А2 ПО ОТНОШЕНИЮ К ВИРУСУ НЬЮКАСЛСКОЙ БОЛЕЗНИ В КУЛЬТУРЕ ТКАНИ ФИБРОБЛАСТОВ КУРИНОГО ЭМБРИОНА

М. А. ЛИПКИНД, Л. Я. ЗАКСТЕЛЬСКАЯ
(МОСКВА)

В литературе имеются скудные данные по интерференции
между вирусом гриппа и другими вирусами в культуре ткани.
Сведений об интерферирующей активности вируса гриппа А2 во-
обще не имеется. В данной работе проведено изучение интерфе-
рирующей активности двух разновидностей вируса гриппа А2
(энзиматически активный и энзиматически неактивный штаммы
Коп и Бар) по отношению к вирусу Ньюкаслской болезни (ВБН,
штамм «Т»), учет активности которого проводился методом под-
счета бляшек в культуре ткани куриного эмбриона. В ходе пред-
варительных исследований штамм «Т» ВБН был трижды клони-
рован методом выделения чистых линий из одной бляшки, а так-
же была усовершенствована и модифицирована методика поста-
новки бляшек. Использование среды 199, в качестве основного
компонента и введение нейтрального красного непосредственно в
агаровое покрытие позволяли наблюдать изменения в морфоло-
гии бляшек в течение 7—11 дней, что было необходимо для на-
блюдения интерферирующего действия в отдаленные сроки. За-
ражение монослоя проводилось смесью атлантоисных суспензий
обоих вирусов, в которой вирус гриппа был разведен до 10^{-2} , а
ВБН до титра, дающего удобное для счета число бляшек (от 50
до 300 в различных опытах). Матрасы содержались в темноте
при 37° . Проведенные исследования показали, что при использо-
ванной дозе наблюдалось полное подавление бляшкообразования
ВБН при проверке через 72 часа, когда в контрольных матрасах
имелись четко выраженные бляшки. Разведение вируса до 10^{-2}
не снижало интерферирующего действия, однако более высокие
разведения уже не препятствовали образованию бляшек.

Такого рода интерферирующей активностью обладали обе
разновидности вируса гриппа А2. Наибольший интерес представ-
ляло то, что при более длительном наблюдении в монослое, инфи-
цированном смесью вирусов, бляшки все же появлялись через
120—144 часа, но отличались от контрольных меньшим размером,
замедленным ростом и неправильной формой (звездчатая, фес-
тончатая, вытянутая в отличие от правильной круглой формы

стандартных бляшек). Кроме того, было обнаружено, что в условиях интерференции бляшки ВБН проходят своеобразную стадию, при которой клетки накапливают избыточное количество нейтральности, в силу чего появляющиеся бляшки вначале более интенсивно окрашены по сравнению с фоном и лишь при последующем развитии светлеют, начиная от центра к периферии. В области просветления клетки находятся в состоянии цитопатической дегенерации, типичной для области обычно бляшки ВБН, тогда как морфология клеток с избыточным количеством красной окраски внешне не изменена. Образование такого рода «позитивных» колоний («красные» бляшки) было описано Тири (1963 г.) у мутанта ВБН, индуцированного путем воздействия азотной кислоты на «дикий» штамм. Появление «красных» бляшек, образованных природным вирулентным штаммом ВБН в условиях интерференции с вирусом гриппа, описывается нами впервые.

Резко выраженных различий в интерферирующей активности двух разновидностей вируса гриппа А2 не было обнаружено.

Наши данные, дополняя результаты Завады (1963), показывают, что интерферирующей активностью по отношению к ВБН обладают не только штамм PR -- 8, но и обе разновидности вируса гриппа А2.

КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ И КАЧЕСТВЕННЫЕ ОСНОВЫ ИНТЕРФЕРЕНЦИИ В ГРУППЕ АРБОВИРУСОВ

Е. И. ЛЕВКОВИЧ, И. В. ШАЛУНОВА
(МОСКВА)

Явление интерференции вирусов привлекает все большее внимание исследователей как в плане изучения таких общетеоретических задач, как взаимодействие вирусов между собой и с клеткой хозяина, но также при решении конкретных задач, связанных с проблемой применения живых вакцин, взаимодействия между собой различных типов вакцинных штаммов, вакцинных и уличных вирусов в организме и в плане выявления изучения возможных вирусостатических веществ типа интерферона.

Установлен широкий спектр вирусных пар и их соответствующих хозяев, на которых демонстрируется тот или другой вид интерференции.

Для анализа механизма феномена интерференции и его эффективного использования в практических целях является совершенно необходимым качественный и количественный анализ этого явления. Решение этих вопросов было предпринято нами на модели арбовирусов — группы клещевого, а также японского энцефалитов, с использованием различных систем тканевых культур, модификаций сочетаний интерферирующего и блокируемого вирусов при различной их дозировке и интервалах времени между введениями.

Была (шт
К -- 2:
внем
века и
го эмбр
Инт
ми доз:
на быт
центра
Инт
ду вве:
вс 72
ным, ес
увелич
Вья
реници
дом с
риона с
шадино
бластов
Титр
мышях
ультат
инфекц
Дли
русы за
е инте
длилась
ингибир
до 1—2
В пр
веществ
Для
фериру
сорбции
Акти
разведе
и WEE.
бластов
биции с
в культу
ответств
и 1 : 2.
Инте
перимму
резко сн
Инте
Так, инт

жено, что в усло-
виеобразную ста-
льное количество
ка вначале более
длин при после-
а к периферии
тоянии цитопати-
но бляшки ВБИ
тчеством краск
«положительных» ко-
1963 г.) у мутан-
ютной кислоты
к, образований
нях интерферен-

цей активности
обнаружено.

(1963), показы-
ошению к ВБИ
видности виру-

ОСНОВЫ ВИРУСОВ

большее вни-
х общетеорети-
обой и с клет-
задач, связан-
заимодействия
вакцинных и
изучения воз-
она.

соответствующий
другой вид ин-

ни и его эф-
ляется совер-
й анализ это-
это нами на
японского эн-
цевых куль-
блокируемого
времени меж-

Было показано, что вирусы клещевого и японского энцефали-
та (шт. Софьин, «Наг», «Хаб 17» вир. КЭ; «Р 1» и
«К - 2» вир. ЯЭ) обладают выраженным ингибирующим дей-
ствием на вирус полиомиелита в культурах фибробластов чело-
века и на вирусы ND и WEE в культурах фибробластов курино-
го эмбриона.

Интерференция отмечалась при заражении культур массивны-
ми дозами вируса КЭ и ЯЭ (10000-100000 LD - 50 м.л), но мог-
ла быть выявлена также в культурах, зараженных малыми кон-
центрациями вируса (до 10-100 LD - 50 м.л).

Интерферирующее действие проявлялось при интервале меж-
ду введением интерферирующего и блокируемого вирусов не ме-
нее 72 часов. Феномен ингибции был более отчетливо выражен-
ным, если интервал между введением в культуры двух вирусов
увеличивался до 96 часов.

Выявление малых доз вирусов КЭ и ЯЭ по феномену интерфе-
ренции дало возможность проводить титрование их этим мето-
дом с вирусами полиомиелита в культурах фибробластов эм-
бриона человека и с вирусами болезни Ньюкаста и западного ло-
дидного энцефаломиелиита (ND) и (WEE) в культурах фибро-
бластов куриного эмбриона.

Титрование этих вирусов по феномену интерференции и на
мышях при внутримозговом их заражении давало сравнимые ре-
зультаты. Титры вируса по интерференции отличались от титров
инфекциозности для мышей в пределах 0,5 - 1,0 lg.

Длительность ингибирующего действия на цитопатические ви-
русы зависела от дозы вирусов взятых в опыт. При большой до-
зе интерферирующего вируса резистентность тканевых культур
стала 2-3 суток. При увеличении дозы блокируемого вируса
ингибирующее действие интерферирующего вируса уменьшалось
до 1-2 суток.

В процессе исследования было выделено вирусингибирующее
вещество интерферон.

Для того, чтобы интерферон полностью проявил свою интер-
ферирующую активность, требовался интервал времени для ад-
сорбции на тканевой культуре не менее 3 часов.

Активность интерферона определяли титрование 2-кратных его
разведений в тканевых культурах с вирусами полиомиелита, ND
и WEE. Титры интерферона, индуцированные в культуре фибро-
бластов эмбриона человека штаммами Софьин и Р-1, по инги-
бции с вирусом полио равнялись соответственно 1:16 и 1:4;
в культуре фибробластов куриного эмбриона с вирусом WEE со-
ответственно 1:32 и 1:16; с вирусом ND соответственно 1:8
и 1:2.

Интерферон не разрушался при 60°, не нейтрализовался ги-
периммунными специфическими сыворотками, но его активность
резко снижалась при обработке 0,25% раствором трипсина.

Интерферон обладал выраженной тканевой специфичностью.
Так, интерферон, полученный под влиянием шт. «Софьин» или

«Р — I» в культурах кожно-мышечной ткани эмбриона человека и активный в этой культуре в отношении вирусов полио. и WEE, оказался неактивным в культуре фибробластов куриного эмбриона в отношении вируса WEE, наоборот, интерферон из культур куриных фибробластов не вызывал интерференции в эмбриональной ткани человека.

МЕХАНИЗМЫ ЕСТЕСТВЕННОГО ПРОТИВОВИРУСНОГО ИММУНИТЕТА

В. Д. СОЛОВЬЕВ, Т. Г. ОРЛОВА
(МОСКВА)

Естественный противовирусный иммунитет животных и человека определяется главным образом наследственно закрепленной невосприимчивостью тканей. Основным проявлением тканевой невосприимчивости является отсутствие размножения данного вида вируса в данной ткани.

Однако работами Мак Дарен, Холланд, Купни и др. было показано, что уже первый этап взаимодействия кишечных вирусов с тканями — адсорбция, определяет невосприимчивость тканей. Так, вирусы полиомиелита, коаксакки В и А9 не адсорбируются тканями неprimатов. Ткани и клетки приматов (обезьяны и человека) адсорбируют 90% вируса и, что наиболее важно, способны переводить его в состояние эклипсы. В конечном итоге наблюдается как бы «исчезновение» вируса из смеси вирус — ткань. Такая «антивирусная активность» свойственна только тканям, чувствительным к кишечным вирусам.

Рецепторы, способные взаимодействовать с кишечными вирусами расположены внутри клетки, т. е. разрушение клетки или ткани (гомогенизация) не ликвидирует ее способности взаимодействовать с вирусом. Наоборот при этом ткань энергичнее связывает вирус.

Эти рецепторы являются термолабильными липопротеинами, т. е. обработка ткани эфиром, хлороформом, трипсином и температурой 56° уничтожала ее «антивирусную активность».

Однако это положение, доказанное в отношении кишечных вирусов, остается неподтвержденным для крупных вирусов, например, миксовирусов.

Работами Аллисон и Валентин было показано, что вирусы болезни Ньюкасла (ВБН), чумы и кур и осповакцины могут адсорбироваться как на биологических, так и на небологических агентах. Кроме того вирус чумы кур способен адсорбироваться клетками Цела, на которых этот вирус не размножается.

Таким образом представляло интерес изучить первые фазы взаимодействия (адсорбцию и эклипсу) одного из представителей миксовирусов — вируса болезни Ньюкасла как с чувствительными, так и с нечувствительными тканями.

В начале работы было определено, что высокопатогенный для

щипля
0,025
разми
дозе I
лакап.

Ил
культу
гельн
воспри
не В1

В i
жаест:

По
тенать
ткани

Пр
наковс
макро

ных. Г
са. Од

рез 10
1,5—10

тивире
наблю,
танном

примч
Пр
возга i

ностью
сорбир
няла д.

ВБН т:
табильн

Пол
имчивос
низмам:

адсорби
взаимод
ляется

рус, пер
другие

Поэт
развити

Опыт
имчивых
вирусом
за РНК
после за
клеток.

эмбриона человека
усов полио и WEE,
в куриного эмбрио-
ферон из культур
нии в эмбриональ-

ОГО ИТЕТА

4

животных и чело-
вечно закреплен-
оявлением ткане-
измножения данно-

ин и др. было по-
кишечных вирусов
имчивость тканей.
е адсорбируются
(обезьяны и чело-
важно, способны
итоге наблюдает-
ус — ткань. Такая
тканям, чувстви-

кишечными виру-
ные клетки или
ности взаимодей-
энергичнее связы-

липопротеинами,
псином и темпе-
ность».
ии кишечных ви-
вирусов, напри-

, что вирусы бо-
ны могут адсор-
небиологических
адсорбироваться
ется.

первые фазы
представителей
увствительными,
патогенный для

цыплят штамм ВБН — VAR, взятый в дозе 100.000 ID_{50} в объеме 0,025 мл, не вызывает заболеваний ни у крыс, ни у мышей и не размножается в мозгу этих животных. Этот же вирус, взятый в дозе 1.000 ID_{50} , вызывает гибель всех взятых в опыт цыплят и накапливается в мозгу.

Имея в виду работы Копровского, Канточ и др. о том, что культура макрофагов отдельных видов животных является носительницей генетических свойств и по — сути дела определяет невосприимчивость данного вида животного, мы изучали размножение ВБН в культурах макрофагов крыс и мышей.

В сравнительных опытах было показано, что ВБН не размножается в культуре макрофагов ни крыс, ни мышей.

Поэтому в дальнейшей работе мы использовали ткани и гомогенаты тканей крыс и мышей — как невосприимчивые, а такие же ткани куриного эмбриона и цыпленка — как восприимчивые.

При изучении адсорбции удалось установить, что ВБН в одинаковой степени адсорбируется на гомогенатах легких, мозга и макрофагах как чувствительных, так и нечувствительных животных. Причем в первые 10 минут адсорбируется до 70—90% вируса. Однако этот вирус не удается обнаружить в осадке. Так через 10 минут определяется 10—30% вируса, а через 2 часа — 1,5—10%. Создается впечатление, что вирус «исчезает» или инактивируется. Это соответствует «эклипс — фазе». Такое же явление наблюдал и Holland в отношении кишечных вирусов. Однако в данном случае «антивирусной активностью» обладали и невосприимчивые ткани.

При изучении свойств рецепторов, находящихся в гомогенатах мозга крыс и цыплят было показано, что обработка эфиром полностью а спиртом и трипсином частично, снимала способность адсорбировать ВБН. Обработка KSO_4 и температурой 56° не изменяла данного свойства рецептора. Таким образом, рецептор к ВБН также, по видимому, является липопротеином, но не термостабильным, а термостабильным.

Полученные данные указывают на то, что тканевая невосприимчивость к разным вирусам обуславливается различными механизмами. Если в случае кишечных вирусов — это неспособность адсорбировать вирус, то в случае миксовирусов этот первый этап взаимодействия вируса с нечувствительными клетками осуществляется полностью. Если эти ткани способны адсорбировать вирус, переводить его в состояние эклипс, то по видимому, какие-то другие механизмы лежат в основе невосприимчивости.

Поэтому представляло интерес изучить дальнейшие фазы развития вируса в клетке.

Опытами по ауторадиографии было показано, что в невосприимчивых культурах (культура макрофагов мышей) зараженных вирусом болезни Ньюкасл наблюдается резкое увеличение синтеза РНК в клетках по сравнению с нормой. При этом через 3 часа после заражения автографы располагаются по всей цитоплазме клеток.

ьеме
г не
ий в
г и

что
эси-
не-
же-

но-

мо-
же

ди-
г и
от-
ду-
ие-
--
ик-
ие
в
с-

их
л-
д-
э-
к
)-

г-
-
ь
т
-
-
)-
г

этот
годс
ревс
соци
инф
(
кони
дую
Е
ных
дипл
Е
фраг
тем
чени
виру
дом
вой
III -
инем
К
при
чени
посл
нион
К
гидр
М
3 не:
адсор
1 не:
доста
ментс
адсор
титр
антиг
Кс
вакци
расте
кратк
после
из ва
Ад
орев:
эпиде:
(проф
наш
В
корев

Таким образом, на основании полученных результатов можно сказать, что первые три фазы взаимодействия вируса болезни Ньюкаст с клетками (адсорбция, эклипс и синтез РНК) протекает в одинаковой степени как в чувствительных так и нечувствительных тканях. Повидимому, способность ткани поддерживать размножение вируса в данном случае обуславливается отсутствием механизмов, участвующих в формировании зрелых форм вируса.

ИЗУЧЕНИЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ ТОЛЕРАНТНОСТИ, ОБУСЛОВЛЕННОЙ ВИРУСАМИ

В. Д. СОЛОВЬЕВ, Н. Р. ГУТМАН
(МОСКВА)

Введение вируса Кокаси ВЗ мышам, в разные сроки беременности, позволило установить внутриутробную передачу вируса. При этом от введения больших доз вируса у новорожденных мышей развивался типичный инфекционный процесс, заканчивавшийся гибелью животных. У части выживших мышей отмечались врожденные уродства, вызванные вирусом Кокаси. При введении самкам малых доз у новорожденных мышей развивалось состояние иммунологической толерантности к гомологичному вирусу.

Трансплацентарная передача вируса и внутриутробное заражение мышей позволяют иметь модель для изучения врожденных уродств, вызванных вирусом Кокаси.

Дальнейшие исследования показали, что мыши, родившиеся от инфицированных самок, приобретают неспособность к выработке антител, устойчиво сохраняющуюся во время возрастного развития и не являющуюся следствием сохранения живого вируса Кокаси ВЗ в организме животных.

Состояние иммунологической толерантности не сообщало повышенной резистентности новорожденным мышам к вирусу Кокаси ВЗ.

В докладе будут представлены результаты изучения состояния иммунологической толерантности обусловленной вирусами.

ИЗУЧЕНИЕ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ ИММУНОГЕННЫХ СВОЙСТВ ИНАКТИВИРОВАННОЙ, КОНЦЕНТРИРОВАННОЙ И АДСОРБИРОВАННОЙ НА ГИДРООКСИ АЛЮМИНИЯ КОРОВОЙ ВАКЦИНЫ

В. М. ЖДАНОВ, С. А. ДЕМИДОВА, Л. Л. ФАДЕЕВА
(МОСКВА)

Так как создание инактивированной, достаточно иммуногенной коревой вакцины может найти применение в профилактике кори у детей первого года жизни в целях получения гумидимунитета с последующим введением реактогенных вакцин, которые закрепят

результатов можно
ия вируса болезни
тез РНК) протекает
ак и нечувствитель-
поддерживать раз-
застся отсутствием
ых форм вируса.

ПЕРАНТНОСТИ, МИ

ые сроки беремен-
передачу вируса.
оворожденных мы-
с, заканчивавшийся
отмечались врож-
Три введения сам-
валось состояние
му вирусу.
дуптробно зараже-
ния врожденных

и, родившиеся от
ость к выработке
частного развития
о вируса Коксаки

е сообщало по-
г к вирусу Кокса-

учения состояния
ирусами.

ОГЕННЫХ ГРИРОВАННОЙ КИСИ Ы

ДЕЕВА

ю иммуногенной
илактике кори у
ндиммунитета с
горы закрепят

этот иммунитет, мы предприняли исследование по разработке ме-
тодов получения высокоактивного концентрированного убитого ко-
ревого антигена. Этот антиген может войти составной частью в ас-
социированные вакцины, применяемые для профилактики детских
инфекций.

С целью увеличения массы коревого антигена была проведена
концентрация вирусодержащей культуральной жидкости с после-
дующей адсорбцией антигена на гидроокиси алюминия.

Были использованы штаммы вируса кори, выделенные от боль-
ных корью детей и адаптированные к почкам эмбриона-теленка и
диплоидным клеткам.

Вирусодержащая жидкость обрабатывалась I. — методом
фракционного центрифугирования при 2000 об/мин 20 минут, за-
тем при 12000 об/мин 20 минут и, наконец, при 30000 об/мин, в те-
чение 2-х часов. II. — в некоторых опытах очистку и концентрацию
вируса из культуральной жидкости проводили Меклер Л. Б. мето-
дом фильтрации через агаровые фильтры. Этими методами коре-
вой антиген можно было сконцентрировать в 10—50 и более раз.
III. — высаливанием сернокислым аммонием. IV. — выморажива-
нием.

Концентрированный вирус кори инактивировался нагреванием
при 56°C в течение 1 часа или формалином 1 : 4000 при +4°C в те-
чение 4-х дней. Степень инаktivации вируса проверялась тремя
последовательными пассажами в перевиваемой линии клеток ам-
ниона человека.

К концентрированной инактивированной вакцине добавлялась
гидроокись алюминия в концентрации 2,3 мг/мл.

Морские свинки иммунизировались двукратно с интервалом
3 недели неконцентрированными, а также концентрированными и
адсорбированными антигенами и живым вирусом кори. Спустя
1 недели в сыворотках вакцинированных животных наблюдалось
достаточно высокое увеличение вируснейтрализующих и компле-
ментсвязывающих антител после введения концентрированного и
адсорбированного антигена. Титры последних превышали в 3 раза
титры, полученные после вакцинации обычным инактивированным
антигеном или живым вирусом кори.

Концентрированная адсорбированная на гидроокиси алюминия
вакцина против кори (КАКВ) была введена группе детей в воз-
расте от 8 мес. до 1 года. Только у двух детей из 40 наблюдалось
кратковременное повышение температуры до 37,3° на другой день
после введения. Местные явления не были отмечены ни у одного
из вакцинированных детей.

Адсорбированная коклюшно-дифтерийно-столбнячно-гриппозно
корева вакцина (АКДСГК) изучалась совместно с институтом
эпидемиологии и микробиологии им. Гамалея АМН СССР
(проф. Захарова М. С.), гриппозный компонент был приготовлен
в нашем институте Н. Н. Соколовой.

В опытах на морских свинках иммунологическая активность
коревого компонента в ассоциированном препарате не снижалась

отке ме-
того ко-
ью в ас-
детских

оведена
: после-

т боль-
ленка и

методом
ут, за-
и, в те-
грацию

мето-
корее раз-
ажива-

занием
С в те-
ремя
ж ам-

ялась

валом
ями и
пустя
алось
мпле-
ого и
раза
нным

иния
воз-
илось
день
иного

этно
утом
ССР
влен

юсть
лась

93

по сравнению с иммунологической активностью контрольной моно-
вакцины КАКВ.

Клинико-эпидемиологические изучения АКДСГК вакцины на
группе детей от 6 мес. до 1 года показало, что все 16 детей дали
температурные реакции, причем 5 из них дали температуру вы-
ше 38,5°, 8 детей — от 37,5° до 38° и 3 ребенка — до 37,5°. Темпера-
тура держалась от нескольких часов до 1 суток и отмечалась на
первый — второй день после введения. Местные реакции у боль-
шинства привитых отсутствовали.

Таким образом, реактогенность АКДСГК не превышала реак-
тогенности, допускаемой в действующей инструкции, а коревой
компонент не усилила эту реактогенность.

Полученные результаты дают основание для расширения кли-
нико-эпидемиологического изучения КАКВ на детских континген-
тах.

НЕКОТОРЫЕ ПОДХОДЫ К РАЗРАБОТКЕ ПАРАГРИППОЗНЫХ ВАКЦИН

Л. Я. ЗАКСТЕЛЬСКАЯ, М. А. ЯХНО, А. В. ПИЧУШКОВ

(МОСКВА)

Широкое распространение парагриппозных инфекций диктует
необходимость разработки профилактических мер, и в частности
разработки парагриппозных вакцин. В свою очередь для решения
этого вопроса необходимы три основных пункта.

1. Изыскание ткани, на которой размножались бы все 4 типа
парагриппозных вирусов и которая была бы свободна от спонтан-
ных вирусов и малигнизирующих факторов.

2. Разработка метода очистки и концентрации антигена.

3. Учитывая полиэтиологичность острых респираторных инфек-
ций необходимо предусмотреть возможность ассоциации парагрип-
позных антигенов с уже применяющимися в детской практике пре-
паратами, а также с антигенами других респираторных вирусных
инфекций.

В результате специального исследования чувствительности ряда
культур тканей к парагриппозным вирусам было установлено, что
в качестве источника вируса для вакцин из парагриппозных виру-
сов могут быть использованы первичные культуры почек новорож-
денных морских свинок. При этом парагриппозные вирусы 2 и 3
типов накапливают 1000—10000 тканей инфицирующих доз, а пара-
гриппозный вирус 1 типа (НА—2) до 1000000 тканей инфицирую-
щих доз (ТИД).

Из перевиваемых линий наиболее ценной для разработки вак-
цин является линия RES, которая по данным В. И. Гаврилова

94

и
по
ли
че
те
10

ти
па
ди
ко
ли
кр
оч
мс
ли
ка

об
геи
(А
геи
ны
ка
ти
кв
гр
ми
ан
те)

сои
му

Э

явл
Боу
тов

ю контрольной моно-

ДСГК вакцины на
го все 16 детей дали
ли температуру вы-
— до 37,5°. Темпера-
нок и отмечалась на
ые реакции у боль-

не превышала реак-
трукции, а коревой

тя расширения кли-
детских континген-

АБОТКЕ

ИН

ПИЧУШКОВ

инфекций диктуе-
ер, и в частности
ередь для решения

ись бы все 4 типа
ободна от спонтан-

ии антигена.
пираторных инфек-
оциации парагрипп-
ской практике пре-
аторных вирусных

твительности ряда
о установлено, что
агриппозных виру-
ы почек новорож-
ные вирусы 2 и 3
ющих доз, а пара-
гкань инфицирую-

я разработки вак-
В. И. Гаврилова

и В. Н. Блюмкина имеют диплоидное число хромосом. Установле-
но, что три парагриппозных вируса типа 1, 2, 3 активно размножа-
лись на клетках RES, вызывая слабый цитопатический феномен и
четкий феномен гемадсорбции. Вирусы свободно перевивались в
течение 6 пассажей и к 5 пассажу накапливались от 100000 до
1000000 ТИД в 0,2 мл.

Изучение методов очистки парагриппозных вакцинирующих ан-
тигенов, показало, что применение метода очистки и концентрации
парагриппозного антигена пригодно не только для получения
диагностических препаратов, но также и для получения очищенных
концентрированных стабильных препаратов, обладающих иммуни-
зирующей активностью. В опытах на кроликах, морских свинках,
крысах и мышях было показано, что парагриппозные антигены,
очищенные путем адсорбции на формализированные эритроциты
морской свинки и элюции в гипертонический раствор NaCl стиму-
лируют быстрое образование антител и могут быть использованы
как для основной иммунизации, так и для бустер-дозы.

При решении вопроса о разработке парагриппозных вакцин не-
обходимо было изучить возможность адсорбции очищенного анти-
гена на депонирующие препараты типа алюминиевых квасцов
(Al_2O_3), а также возможность ассоциации парагриппозных анти-
генов с антигенами других респираторных вирусов и бактериаль-
ных возбудителей детских инфекций. Предварительные опыты по-
казали, что парагриппозные очищенные и концентрированные ан-
тигены могут быть адсорбированы на чистые алюминиевые
квасцы, на квасцы, на которых уже адсорбирован антиген вируса
гриппа или аденовирусный антиген, а также оба эти антигена. По-
мимо этого, оказалось возможным адсорбировать парагриппозные
антигены на алюминиевые квасцы с адсорбированным на них диф-
терийно-столбнячным анатоксином.

Адсорбированные на квасцах антигены парагриппозных виру-
сов вызывали образование антител при использовании их для им-
мунизации животных.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ РАЗРАБОТКА БЕЗАЛЛЕРГЕННОЙ УЛЬТРАФИОЛЕТОВОЙ АНТИРАБИЧЕСКОЙ ВАКЦИНЫ

С. С. МАКСУМОВ

(МОСКВА)

Усовершенствование вакцинопрофилактики бешенства все еще
является весьма актуальной задачей органов здравоохранения.
Большое внимание уделяется получению ареактогенных препара-
тов, гладким образом, лишенных энцефалитогенных свойств. В ис-

ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ГАММА-ГЛОБУЛИНОВ СЫВОРОТКИ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА

М. И. ВАСЕНОВИЧ
(МОСКВА)

За последние годы в медицинской практике большое значение приобрели сывороточные препараты, а среди них особое место принадлежит гамма-глобулинам.

Применение гамма-глобулина показано в отношении ряда вирусных заболеваний: инфекционного гепатита, полиомиелита, гриппа, паротита и др. Имеются также достаточно обоснованные данные о благоприятном действии гамма-глобулина при некоторых бактериальных инфекциях, например, при коклюше, стафилококковых и стрептококковых септических процессах, а также при скарлатине.

Целью данного исследования было изучение специфической активности гамма-глобулинов, выпускаемых в Советском Союзе. Наличие антител в гамма-глобулинах определяли к вирусу полиомиелита I, II, III типов, вирусам кори и гриппа.

Содержание антител к вирусу полиомиелита I, II, III типов определяли в реакции нейтрализации цитопатического действия вируса на клетки почек обезьян и в цветной пробе. При этом было установлено наличие антител в препарате:

к I типу от 1 : 1600 до 1 : 640

к II типу от 1 : 320 до 1 : 1280

к III типу от 1 : 40 до 1 : 160

Содержание антител к вирусу кори определяли в реакции нейтрализации цитопатического действия вируса кори на перевиваемые линии клеток почек эмбриона человека и амниона человека и в реакции задержки гемагглютинации с коревым гемагглютинином. Титры антител в реакции нейтрализации со 100 ТСД₅₀ вируса кори колебались от 1 : 32 до 1 : 128, в реакции гемагглютинации с эритроцитами обезьян от 1 : 128 до 1 : 512.

В реакции торможения гемагглютинации с вирусом гриппа типов А, А1, А2 и В были исследованы гамма-глобулины, изготовленные в период с 1961 по 1964 гг. Все исследованные препараты содержали антитела ко всем типам вируса гриппа, причем самый низкий уровень антител к типу А2 был обнаружен в гамма-глобулинах, изготовленных в 1961 году. Гамма-глобулины, изготовленные в 1962 году имели самый высокий уровень антител к типу А2, а гамма-глобулины, изготовленные в 1963—1964 гг. имели самый высокий уровень антител к типу В.

При исследовании одних и тех же образцов в течение 2 лет установлена стабильность антител к вирусам полиомиелита I, II III типов и кори.

ИЗУЧЕНИЕ ДЛИТЕЛЬНОСТИ СОХРАНЕНИЯ АНТИТЕЛ К ВИРУСУ ГРИППА В ПРОИЗВОДСТВЕННЫХ СЕРИЯХ ДОНОРСКОЙ СЫВОРОТКИ И ПЛАЦЕНТАРНОГО ГАММАГЛОБУЛИНА

В. Г. КРАСНОВА, И. М. ЯРЦЕВА, Ц. Б. БОРИСНИК, О. П. МОРОЗ,
А. Д. ХОДОС, Р. А. СЕВЕРИНА
(ДНЕПРОПЕТРОВСК)

За последние годы наибольшее распространение в практике здравоохранения, как лечебно-профилактический препарат против детских инфекций, получил плацентарный гамма-глобулин и донорская сыворотка. Часто эти препараты применяются для профилактики вирусных инфекций: гриппа, эпидемического гепатита, полиомиелита, кори, аденовирусов и других. Предполагается, что ко всем этим возбудителям имеется достаточное количество антител в указанных препаратах. Однако не все серии гаммаглобулина или донорской сыворотки имеют одинаковую иммунологическую специфическую ценность не только ко всем указанным возбудителям, но и к одному из них. Поэтому вопросы дозировки гамма-глобулина не получили полного развития из-за отсутствия титрованного препарата. Это особенно важно по отношению к вирусу гриппа, эпидемии которого носят сезонный характер и повторяются не каждый год.

В данной работе обобщены материалы по изучению длительности сохранения антител к вирусам гриппа в производственных сериях гамма-глобулина и донорской сыворотке, выпускаемых Днепропетровским ИЭМГ.

За 1961—1963 гг. было исследовано в реакции торможения геммагглютинации (РТГА) 102 серии гамма-глобулина и 150 серий нативных донорских сывороток, изготовленных в эпидемические и межэпидемические периоды.

РТГА ставили в объеме 1 мл с 1% взвесью эритроцитов куины. В качестве антигенов использовали диагностикумы из эталонных штаммов вируса гриппа: А (Шклявер), А — 1 (Пан), А — 2 (Сингапур — авидный вариант), местный штамм А — 2 (2059), В — 7, Д (Сендай) и С.

Реакцию ставили по общепринятой методике. Термолабильные ингибиторы в сыворотках разрушали путем прогревания при 56°—30 минут, а термостабильные — путем обрабатывания фильтратом бульонной культуры холерного вибриона в течение 18 часов при температуре 37°.

Средний уровень антител в исследуемых сыворотках и гамма-глобулине изучался в динамике через каждые 6 месяцев на протяжении 2—2,5 лет.

Препараты были разделены на две группы: I — группа изготовленные в эпидемическом (декабрь — 1961, январь — март — 1962, январь — апрель 1963 гг.) и II — в межэпидемическом (апрель —

ноябрь
риодах.
Сер
казали,
период
в плаце
период
(А — 1
межэпи
Ант
ре — м
послед
степен
обейх г
в преп
1,5 раз
Нес
донорс
лись к
таточно
(А2 —
тельно
лее ни:
В — 14
роток с
да при
При
ния в т
довани
сообра
ним ре
рых он
высоки
фектив
Уро:
специф
ротке э
В п
ратах э
титрах
и к ост
годы от
процесс
антител
демичес
уровне

ЭНИА АНТИТЕЛ ННЫХ СЕРИЯХ ЕНТАРНОГО

ЧИК, О. П. МОРОЗ.

нение в практике
ий проперат против
ма-глобулин и до-
няются для профи-
ского гепатита, по-
полагается, что ко-
личество антител в
ммаглобулина или
нологическую спе-
ным возбудителям.
овки гамма-глобу-
твия титрованного
к вирусу гриппа.
повторяются не

учению длитель-
производственных
ке, выпускаемых

и торможения ге-
ина и 150 серий
эпидемические и

итроцитов куины.
мы из эталонных
(ан), А — 2 (Син-
2 (2059), В — 7.

Термолабильные
евания при 56°—
ания фильтратом
ие 18 часов при

ротках и гамма-
месяцев на про-

- группа изготов-
ь — март — 1962,
еском (апрель —

июль 1961, апрель — декабрь 1962, май — декабрь 1963 гг) пе-
риодах.

Серологические исследования сывороток и гаммаглобулина по-
казали, что средний уровень антител к вирусам гриппа в разные
периоды времени является различным. Через 6 месяцев хранения
в плацентарном гаммаглобулине, изготовленном в эпидемическом
периоде, средний уровень антител был выше к вирусам гриппа А
(А — 148, А2 — 139), чем в аналогичных сериях, изготовленных в
межэпидемическом периоде (А — 79, А2 — 71,1).

Антитела к вирусу В были выше после вспышки гриппа в янва-
ре — марте 1963 г. (127, 2), чем в момент вспышки (93,3). При
последующем наблюдении уровень антител в гаммаглобулине по-
степенно снижался и через 2 года был на низких показателях в
обеих группах (I гр. А2 — 28, II гр. — 18,9, а в В — 50 и 40,8), хотя
в препарате эпидемического периода уровень антител был выше в
1,5 раза к вирусу А — 2 и 1,2 раза к вирусу В.

Несколько иные результаты получены при изучении нативных
донорских сывороток, которые в эпидемический период выпуска-
лись как противогриппозные. Их титр антител сохранялся на дос-
аточно высоком уровне в течение года к циркулирующим вирусам
(А2 — 27,8, к В — 89). Сыворотки, выпускаемые в период относи-
тельного благополучия по гриппу, как противокоревые, имели бо-
лее низкий титр антител к группе А и высокий к В (А2 — 18,4,
В — 144). Через 6 месяцев средний уровень антител данных сыво-
роток соответствовал уровню в сыворотках эпидемического перио-
да при хранении в течение 1,5 лет.

При анализе индивидуальных сывороток наблюдались колеба-
ния в титре антител к вирусам гриппа А2 и В. Проведенные иссле-
дования позволяют сделать заключение, что гаммаглобулин целе-
сообразно титровать на наличие антител к вирусам гриппа и дру-
гим респираторным и кишечным вирусам при заболеваниях кото-
рых он чаще всего применяется. Применение гамма-глобулина с
высоким титром антител может способствовать более высокой эф-
фективности препарата.

Уровень антител, при котором гаммаглобулин можно считать
специфическим, сохраняется в течение 1,5 лет, а в донорской сыво-
ротке эпидемического периода — в течение одного года.

В процессе изучения было замечено, что в исследуемых препа-
ратах эпидемического периода выявляются антитела в высоких
титрах не только к циркулирующим вирусам гриппа (А2 и В), но
и к остальным типам вирусов, циркуляция которых за последние
годы отрицается (А, А1, С, Д). Титр антител в гамма-глобулине в
процессе хранения закономерно снизился и через 2 года уровень
антител был одинаковым как в препарате, приготовленном в эпи-
демический, так и в межэпидемический период, хотя разница в их
уровне была 1,5—2 раза.

К ВОПРОСУ ОБ АВИДИТЕТЕ ПРОТИВОГРИППОЗНЫХ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ СЫВОРОТОК

И. А. КРАСОВСКАЯ
(МОСКВА)

Использование в реакции задержки гемагглютинации (РЗГА) нечувствительного к ингибиторам и невидного к антителам варианта вируса гриппа типа А2 позволило выявить различную степень авидности иммунных сывороток.

Б. Стык и А. А. Смородинцев связывают низкую авидность сывороток с несовершенством антител, полученных в результате однократной иммунизации.

С другой стороны, нами установлено, что при одном и том же цикле иммунизации, с целью получения диагностических противогриппозных сывороток, последние показали различные по своей авидности. Мы получили невидные сыворотки при использовании в качестве антигена определенной группы штаммов А2, выделенных в постпандемический период 1960—1962 гг.

Эти штаммы характеризовались высокой чувствительностью к неспецифическим ингибиторам, авидностью к антителам, высокой иммуногенностью и низкой ферментативной активностью. В противоположность этому, авидные сыворотки всегда получались при использовании нечувствительных к ингибиторам штаммов, обладающих высокой ферментативной активностью. Высокая и низкая авидность этих сывороток является свойством антител, что было доказано в опытах с γ — глобулином из соответствующих сывороток.

В поисках причины образования сывороток с низкой авидностью мы остановились на различии ферментативной активности штаммов, используемых для иммунизации, предполагая, что фермент у нечувствительных к ингибиторам штаммов А2 может являться дополнительным антигеном, стимулирующим формирование высокоавидных, полноценных сывороток.

Для исключения роли фермента были поставлены опыты с его инактивацией трипсином или периодатом. Инактивация фермента не привела к изменению высокоавидных свойств иммунной сыворотки, полученной при иммунизации инактивированным вирусом. Это можно объяснить тем, что, повидимому, несмотря на инактивацию фермента он мог сохранить свои антигенные свойства.

Учитывая эффективность кофактора — нормального компонента нативной сыворотки животных для установления антигенного родства между ингибиторорезистентным невидным штаммом вируса гриппа типа А2 и низкоавидной сывороткой против ингибиторочувствительного варианта вируса гриппа типа А2, следует признать, что причиной отсутствия реакции не является антигенное различие, а скорее непрочность взаимодействия антитела с антигеном, которая укрепляется с помощью кофактора.

пе-
по-
ные
ния
ком
а А
ix в

ива-
Три
по-
в
отя
е в

ных
ка-
ос-
сам
си-
бо-
8,4,
во-
но-

ба-
ле-
ле-
ру-
то-
с
ф-

ить
зо-

та-
их
но
не
в
нь
и-
их

у
при
но и
ре ти
С
рабс

ГГ

Г
вого
«Со
4
ных
нии
тивс
энце
Е
тод
прот
га д
Г
тивс
1 : 1
ном
(
у-гл
в ку
зуль
ческ
рус
разв
маг
3-й)
Г
вого
на б
Г
кое
с це

РИПОЗНЫХ ГОК

отинации (РЗГА)
к антителам ва-
ь различную сте-

ую авидность сы-
в результате од-

одном и том же
ических противо-
ичными по своей
и использовании
ов А2, выделен-

твительностью к
ителам, высокой
ностью. В проти-
получались при
штаммов, обла-
ысокая и низкая
тител, что было
вующих сыворо-

низкой авид-
вной активности
лагая, что фер-
А2 может явить-
ормирование вы-

ны опыты с его
вация фермента
ммунной сыво-
анным вирусом.
отря на инакти-
свойства.

юго компонента
нтигенного род-
штаммом виру-
тив ингибиторо-
; следует при-
гся антигенное
титела с анти-

Усиление нейтрализующей активности низкоавидных сывороток при добавлении кофактора наблюдалась нами не только в РЗГА, но и в реакции нейтрализации на куриных эмбрионах и в культуре ткани.

Обсуждается механизм действия кофактора в свете последних работ Лафферти (1963) об авидных и неавидных антителах.

ВИРУСНЕЙТРАЛИЗУЮЩЕЕ И ТОРМОЗЯЩЕЕ ГЕМАГГЛЮТИНАЦИЮ ДЕЙСТВИЕ ПРОТИВОКОРЕВОВОГО ГАММА-ГЛОБУЛИНА НА ВИРУС КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА

М. А. БАЖЕДОМОВА, З. Н. КОНДРАШОВА

(МОСКВА)

Представлены результаты исследования действия противокоревового γ -глобулина на вирус клещевого энцефалита (штамм «Софьин»).

4 серии γ -глобулина, выпущенного Свердловским НИИ вирусных инфекций, были проверены в реакции нейтрализации и в реакции погашения гемагглютинации. Параллельно с испытанием противокоревового γ -глобулина исследовался специфический противоэнцефалитный γ -глобулин ТОМНИИВСа.

В реакции нейтрализации, поставленной по общепринятой методике, противокоревой γ -глобулин так же, как и специфический противоэнцефалитный, нейтрализовал вирус клещевого энцефалита до разведения 10^{-1} (при титре вируса 5,0).

В реакции погашения гемагглютинации различные серии противокоревового γ -глобулина тормозили гемагглютинацию до титра 1 : 160—1 : 2560. Титр антигемагглютининов в противоэнцефалитном γ -глобулине был выше (до 1 : 5120).

Одновременно испытывалось влияние различных концентраций γ -глобулина на образование гемагглютининов и накопление вируса в культуре ткани Нер-2. При этом были получены следующие результаты: цельный и разведенный 1 : 10 противокоревой и специфический противоэнцефалитный γ -глобулин подавляли развитие вируса и накопление гемагглютининов в культуре ткани, γ -глобулин, разведенный 1 : 100, задерживал появление гемагглютининов. Гемагглютинины появлялись только к 6-ому дню (в контроле — на 3-й день).

Проверка превентивных свойств нескольких серий противокоревового γ -глобулина показала его высокую эффективность в опытах на белых мышах.

Полученные результаты могут иметь определенное практическое значение в плане использования противокоревового γ -глобулина с целью профилактики клещевого энцефалита.

**ВИРУСОЛОГИЧЕСКАЯ И СЕРОЛОГИЧЕСКАЯ
ХАРАКТЕРИСТИКА ГРИППА В ЗАПАДНЫХ ОБЛАСТЯХ
УКРАИНЫ В 1959—1963 гг. И ОПЫТ ПРОФИЛАКТИКИ ЕГО
ДОНОРСКОЙ ПРОТИВОГРИППОЗНОЙ СЫВОРОТКОЙ
И ГАММА-ГЛОБУЛИНОМ**

И. А. ВИНЮРАЦ

(Львов)

Эпидемиологическая ситуация по гриппу в западных областях Украины в 1959—1963 гг. характеризовалась развитием трех эпидемических вспышек в январе — феврале 1959, 1962 и 1963 гг. и сезонными подъемами заболеваемости в осенне-зимний и весенний периоды. Вирусологические и серологические обследования, проведенные в период эпидемии гриппа 1959 г., позволили установить этнологическую связь ее с вирусами А2 и В. При исследовании 39 носоглоточных смывов от больных гриппом и секционного материала умерших от геморрагических пневмоний, выделено 15 штаммов вируса гриппа, в том числе 10 штаммов вируса типа А2, два штамма — типа В и три штамма — типа Д. Из 224 исследованных парных сывороток в 172 (76,8%) выявлено диагностическое нарастание титра противогриппозных антител: к вирусу типа А2 в 115 сыворотках, типа В — в 41, типа С — в 10, типов А и А1 — в 4 и типа Д — в двух сыворотках. Эпидемия гриппа в январе — феврале 1962 г. была вызвана вирусом типа А2, этиологическая роль которого установлена серологическими исследованиями. Из 158 парных сывороток, собранных в период эпидемии, в 69 случаях выявлено диагностическое нарастание титра антител, в том числе к вирусу типа А2 — в 60 сыворотках (86,9%), А — в 6 (8,7%) и В — в трех сыворотках (4,4%).

После вспышки удельный вес вируса типа В в этиологии заболеваний гриппом возрос. Из 47 парных сывороток, взятых от больных в апреле — мае 1962 г., в 12 выявлено диагностическое нарастание антител к вирусу типа В, в двух — к А2 и в одной сыворотке — к вирусу типа А.

Эпидемическая вспышка гриппа в январе — феврале 1963 г. по интенсивности уступала эпидемиям 1959 и 1962 гг. и наблюдалась не во всех областях. Во Львове вспышка началась во второй декаде января, достигла максимума в третьей декаде и пошла на спад в феврале. В марте заболеваемости снизилась до уровня обычного сезонного подъема. Этиологически вспышка была связана с вирусом типа В. Из носоглоточных смывов, взятых от больных гриппом, выделено 8 штаммов вируса типа В. При исследовании 109 парных сывороток переболевших в 63 (57,8%) выявлено диагностическое нарастание титра антител к вирусам гриппа: в 53 сыворотках к вирусу типа В, в 6 — А2, в двух — А и по одной сыворотке к вирусам А1 и Д. В ряде случаев имело место диаг-

102

ност
одн
I
чен
тей
отде
след
лие
на:
трап
лю
I
в.8.
к ви
(
здор
1963
тивс
несс
кое
эпид
знач
нск
неме
к ви
посл
кую
шек.
тель
I
А2
(
бран
сам
виру
кое
руса
гапу
титр
шир
грип
возр
В
лась
грип
Львс
анти
по 0,
лом
вачен

ток
ГА,
ту-

них

)

ре-
мм

ус-
ак-
ро-
во-

ие-
ий
ин-

ю-
ра
ит-

ий
са
е-
ин-
ин,
е-
на

е-
ах

ес-
на

101

ГИЧЕСКАЯ ВЫХ ОБЛАСТЯХ ФИЛАКТИКИ ЕГО СЫВОРОТКОЙ

западных областях
азвитием трех эпи-
1962 и 1963 гг. и
зимний и весенний
следования, прове-
волили установить
исследовании 39
ционного материа-
делено 15 штаммов
типа А2, два штам-
исследованных пар-
тическое нараста-
типа А2 в 115 сы-
А и А1 — в 4 и ти-
январе — феврале
ическая роль кото-
ни. Из 158 парных
случаях выявлено
м числе к вирусу
7%) и В -- в трех

в этиологии забо-
к, взятых от боль-
ностическое нара-
в одной сыворот-

еврале 1963 г. по
г. и наблюдалась
ь во второой де-
де и пошла на
лась до уровня
шка была связа-
взятых от боль-
При исследова-
57,8%) выявлено
русам гриппа: в
— А и по одной
мело место диаг-

ностическое нарастание титра антител к вирусам В и А2, В и А одновременно.

В межэпидемический период 1960—1961 гг. единичные ограниченные вспышки заболеваний гриппом регистрировались среди детей младшего возраста в организованных коллективах, в детских отделениях соматических больниц и среди новорожденных. При исследовании 494 смывов из носоглотки больных гриппом, пневмонией и секционного материала выделено 32 штамма вируса гриппа: 10 штаммов типа А, 13 — типа А2. Один штамм одинаково нейтрализовался сывороткой А и А2 и 8 штаммов из-за слабой гемагглютинирующей активности не типированы.

При исследовании 32 парных сывороток переболевших гриппом в 8 случаях выявлено диагностическое нарастание титра антител к вирусу типа А, в 10 — к А2 и в двух сыворотках к вирусу В.

Систематические ежемесячные исследования сывороток крови здорового населения (5920 образцов) на протяжении 1959—1963 гг. показали, что динамика серологических показателей противогриппозного иммунитета отражала ход эпидемического процесса при гриппе. Эпидемическим вспышкам предшествовало резкое снижение уровня антител у населения к вирусу, вызвавшему эпидемию. После эпидемии титры антител к этому возбудителю значительно повышались, оставаясь на высоком уровне в течение нескольких месяцев (до полугода). Резкое повышение титров антигемагглютининов к вирусам А2 и В после эпидемии гриппа 1959 г., к вирусу типа А2 после эпидемии гриппа 1962 г. и к вирусу типа В после вспышки 1963 г. ретроспективно подтверждает этиологическую роль этих возбудителей в возникновении упомянутых вспышек. Сезонные подъемы заболеваемости сопровождались незначительным повышением уровня противогриппозных антител.

Исследованиями в РТГА антигенами гриппа А (PR8), А1 (пан), А2 (сингапур), В (кри), В — 62 и Сендай сывороток крови, собранных от здоровых лиц различных возрастов, установлено, что самые низкие показатели гуморального иммунитета ко всем типам вируса были у детей в возрасте до трех лет. При этом очень низкое содержание антител в этой возрастной группе выявлено к вирусам А (PR8) А1 (пан) и В (кри). Антитела к вирусам А2 (сингапур) и В — 62 выявлялись значительно чаще и в более высоких титрах. С увеличением возраста обследованных наблюдалось расширение комплекса активно приобретенных антител к вирусам гриппа и увеличение их титров. Наибольшие титры антител во всех возрастных группах выявлены к вирусам А2 (сингапур) и В — 62.

В период эпидемических вспышек 1959, 1962 и 1963 гг. изучалась эффективность серопротекции гриппа донорской противогриппозной сывороткой и гамма-глобулином, изготовленным Львовским ИЭМГ. В эпидемию гриппа 1959 г. сыворотка с титром антител 1 : 160—1 : 80 к вирусам А2 и В вводилась интраназально по 0,25 мл с помощью пульверизатора в носовые ходы с интервалом в 3—5 дней на протяжении вспышки. Серопротекцией охвачено 5520 детей. Среди иммунизированных отмечено снижение

заболеваемости в 2 раза. В эпидемию 1962 г. донорскую сыворотку с титром антител 1 : 80 — 1 : 40 к вирусам А2 и В вводили пипетками по 4—5 капель в каждую ноздрю четырехкратно с интервалом в 5 дней. Иммунизировано 922 ребенка. Снижение заболеваемости было незначительным (коэффициент эффективности 1,2). В период вспышки гриппа 1963 г. серопротекция донорской сывороткой с титром антител 1 : 80 и 1 : 40 к вирусу В проводилась среди рабочих швейных и трикотажных фабрик (3628 человек). Сыворотку вводили интраназально пульверизатором по 0,25 мл четырехкратно с интервалом в 4—5 дней. Снижение заболеваемости было небольшое (коэффициент эффективности 1,5).

Для профилактики гриппа у детей использовали гамма-глобулин с титром антител 1 : 160—1 : 320 к вирусам А2 и В. Охвачено иммунизацией 7165 детей. Одной группе (4020 детей) гамма-глобулин вводили внутримышечно по 1,5 мл двукратно с интервалом в 9—11 дней, другой (3145 детей) — интраназально по 4 капли в каждую ноздрю с интервалом в 3—5 дней на протяжении вспышки. Заболеваемость среди иммунизированных детей снизилась в 2—2,5 раза. Эффективность серопротекции при внутримышечной и при интраназальной иммунизации была почти одинаковой (коэффициент эффективности равнялся 2,5—2,2 соответственно).

К ВОПРОСУ О ГЕТЕРОЛОГИЧНЫХ СЕРОЛОГИЧЕСКИХ РЕАКЦИЯХ У ЛЮДЕЙ ПРИ ЕСТЕСТВЕННОЙ ИНФЕКЦИИ НЕКОТОРЫМИ МИКСОВИРУСАМИ

ЯТЕЛЬ Т. П., ЛИХТОРОВИЧ С. А.
(КИЕВ)

Выявление особенностей и закономерностей гетерологических серологических реакций при заболеваниях, вызванных миксовирусами, имеет большое значение для диагностики.

Целью настоящей работы являлось изучение характера гетерологических реакций при некоторых случаях острых респираторных заболеваний не гриппозной этиологии, а также при паротите у детей и взрослых в течение 1963—1964 гг.

В качестве антигенов для серологического исследования были использованы парагриппозные вирусы: Сендай (японский и восточный варианты), НА — 1, НА — 2, СА, а также вирусы паротита (штамм Эндерс и киевские штаммы) и вирус болезни Ньюкасла. Результаты, полученные при разных методах серологического исследования и в ряде случаев подтвержденные положительными вирусологическими находками, характеризовались значительным разнообразием и сложностью. Представлены результаты изучения 35 случаев заболеваний дыхательных путей или паротита, которые сопровождались выраженным нарастанием количества гетерологических антител.

104

К I
ГАН

И. Н. ОРЛ

В пос
изучени
ных гам
ство их
гриппа т
лакова,
вороток
лабильн
рее α₂ г
ками по
иновый
Савицко
шнтным
В работ
с вирус
специфи
ваются
чебных

Для
роко ра
ратах. I
нативны
динных,
Каждый
обычно
прводи
качества
сыворот
А1); тит
А2 — И
ингибит
ри» — в
Актив
нейтрал
хорион
изменен
В качес
бумина,
клонен
стракции
NaCl (э

донорскую сыворотку А2 и В вводили периодически с интервалом. Снижение заболеваемости (3628 человек) в экспериментальной группе по 0,25 мл сыворотки в день (3628 человек) по сравнению с контролем (3628 человек) было статистически достоверно (р < 0,05).

Исследовали гамма-глобулины А2 и В. Охвачено 100 детей (гамма-глобулины в сыворотке в среднем по 4 капли в день). У детей с интервалом в 4 дня снизилась в сыворотке концентрация гамма-глобулинов почти одинаково (соответственно).

БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ИНФЕКЦИИ

1.

гетерологических свойств миксовирусов.

характера гетерологических респираторных вирусов при паротите у детей.

Исследования были проведены в Японии и владивостокские вирусы паротита. В исследованиях Ньютона и др. (1957) описаны положительные результаты при паротите. В исследованиях Ньютона и др. (1957) описаны положительные результаты при паротите. В исследованиях Ньютона и др. (1957) описаны положительные результаты при паротите.

К ВОПРОСУ ИЗУЧЕНИЯ ТЕРМОСТАБИЛЬНОГО ГАММА-ИНГИБИТОРА В ПРОТИВОГРИППОЗНЫХ СЫВОРОТКАХ

И. Н. ОРЛОВА, Т. С. СИРОТКИНА, М. А. СМЕТАНИН И Т. КАМЕНСКИЙ
(МОСКВА)

В последние годы в вирусологии уделяется большое внимание изучению термостабильных неспецифических ингибиторов названных гамма-ингибиторами (ГИ). Установлено ингибирующее свойство их в отношении ингибиторо-чувствительных штаммов вируса гриппа типа А2 «Сингапур» и других, выделенных в 1957 году (Волкова, Яндашек). Электрофоретическое изучение нормальных сывороток показало, что ГИ белковой природы отличается от термостабильных ингибиторов гриппа А1 и продвигается несколько быстрее α_2 глобулинов (Поляк, Смородинцев). Кризанова с сотрудниками получили из нормальной лошадиной сыворотки гликопротеиновый препарат ГИ. Далее в работах Косякова, Пшесмыцкого, Савицкого, Линк с сотрудниками показано, что ГИ обладает защитным действием в опытах на мышах и куриных эмбрионах. В работе Санто и др. обнаружено, что гамма-ингибитор реагирует с вирусом гриппа А2 (ингибиторо-чувствительная линия) подобно специфическому антителу. Некоторыми исследователями высказываются предположения о возможности использования ГИ для лечебных и профилактических целей в практических условиях.

Для нас представляло интерес исследовать наличие ГИ в широко распространенных сывороточных противогриппозных препаратах. В нашей работе проводилось сравнение активности ГИ в нативных нормальных и гипериммунных противогриппозных лошадиных, донорских сыворотках и препаратах, изготовленных из них. Каждый из указанных вариантов испытывался в кипяченом и обычном виде при кипячении в течение 3—5 минут. Испытание проводилось в отношении всех штаммов вируса гриппа идуших в качестве антигенов для приготовления гипериммунных лошадиных сывороток: тип А представлен штаммом 13/16 (смешанный А и А1); тип А1 — штаммом 183; ингибиторорезистентные штаммы А2 — Икша 1957, Кот — 1961 — выделенный в нашей лаборатории, ингибиторо-чувствительные штаммы А2 — Сингапур-57 и «Кори» — выделенный нами в 1962 г.

Активность ГИ изучалась по показателям торможения ГА и по нейтрализации биологической активности на тканевых культурах хорион-аллантоисных болочек 15 дневных куриных эмбрионов по измененному нами методу (Хорват, 1954, Закстельская, 1957). В качестве питательной среды использовали гидролизат лактальбумина, культуры выращивались в стационарных пробирках, наклоненных под углом в 20—25° в течение 48 часов. Для полной экстракции вируса из ткани применялась повышенная концентрация NaCl (за 3 часа до добавления эритроцитов). На каждое разведе-

ние вируса использовалось по 2—3 пробирки с тканью. Реакция учитывалась через 1 час после добавления эритроцитов при комнатной температуре и после энергичного встряхивания через 18 часов стояния в холодильной камере. Отдельные опыты контролировались параллельной постановкой реакции бионейтрализации на целых куриных эмбрионах.

В работе исследовались отдельно сыворотки от 4 нормальных (не иммунизированных) лошадей:

- 5 серий гипериммунной лошадиной сыворотки;
- 2 серии антирабического лошадиного гамма-глобулина (в качестве контроля);
- 2 серии противогриппозного Диаферма — 3;
- 3 серии человеческого гамма-глобулина;
- 3 серии человеческой сыворотки.

Перед постановкой РЗГА сыворотки прогревались 30 минут при 56° и обрабатывались куриными эритроцитами. Испытывались сыворотки с разведением 1 : 10 до 1 : 20480. Каждый опыт повторялся 6—8 раз, результаты подвергались статистической обработке.

В процессе проведенной работы удалось установить следующее: нормальная нативная лошадиная сыворотка, как в обычном, так и кипяченом виде вызывает торможение гемагглютинации ингибиторочувствительных штаммов типа А2 (сингапур — 57 и Кори — 62). В кипяченом виде эффект торможения увеличивается в 2—4 раза. ГИ не вызывает торможения всех остальных испытанных штаммов, в том числе и А2 ингибиторорезистентных Икша — 1957 и Кот — 1961. В сыворотках 4 лошадей индивидуально испытанных отмечаются колебания показателей активности ГИ. ГИ тормозит развитие вируса в культуре ткани хорион-алантоисных оболочек, не кипяченые нативные гипериммунные сыворотки, проявляют высокое содержание ГИ при высоких показателях специфических антител. Нативные гипериммунные сыворотки кипяченые сохраняют ГИ, но полностью теряют защитные свойства антител. По показателям обоих способов контроля сывороточные препараты как гамма-глобулина, так и Диаферм-3 освобождаются от альбуминов и альфа-фракции глобулинов в «обычном» так и в кипяченом виде не проявляют ГИ при сохранении очень высоких показателей специфических антител в некипяченых препаратах.

Человеческие нативные сыворотки имеют слабо выраженную активность ГИ, которая больше проявляется в кипяченых вариантах. Специфические антитела в отношении всех испытуемых вирусов после кипячения исчезают. Человеческие гамма-глобулины, имеющие очень невысокие показатели специфических антител в 40—80 раз уступающие титрам антител в гипериммунных лошадиных сыворотках совершенно не имеют ГИ. Показатели РЗГА соответствуют показателям бионейтрализации.

Метод изучения биологической нейтрализации тканевых культур на хорионалантоисных оболочках, в нашей модификации, хотя вполне пригоден для указанных целей и чрезвычайно экономичен.

чен, по
ринных
лизаци
занима
трализ

По:
кой ак
сыворс
только
простр
числе 1

Отс
шихся
ные По
фракти
ботки с

В и
ния ГА
туры т
тител,

Пол
высоку
сов гри
широк
ко тре
возмо
диных
сыворо
дальней

ЗНАЧ

Суш
постав
ния ант.

Одна
факта,
них рав

Изве
введен
чувстви
антигенс

тканью. Реакция эритроцитов при комбинировании через 18 часов опыты контролируются нейтрализацией на

от 4 нормальных

глобулина (в ка-

лись 30 минут и. Испытывались опыт повторительской обра-

вить следующее: обычно, так и пации ингибитора 7 и Кори -- 62). тся в 2—4 раза. танных штам- Икша — 1957 и но испытанных 1. ГИ тормозит оисных оболочек, прояв- оротки, прояв- телях специфич- тки кипяченые йства антител. ые препараты ются от альбу- ак и в кипяче- ьсоких показа- затах.

выраженную ченых вариан- ытуемых виру- ма-глобулины, ких антител в тунных лоша- затели РЗГА

аневых куль- ификации, хо- айно экономи-

чен, но по сравнению с результатами, полученными на целых куриных эмбрионах менее чувствителен как при показателях нейтрализации специфическими антителами, так и ГИ. Этот метод может занимать промежуточное место между РЗГА и биологической нейтрализацией.

Полученные материалы дают основание сделать вывод о высокой активности ГИ лошадиных нормальных и иммунных нативных сывороток, однако, это свойство имеет узкое распространение только для ингибиторо-чувствительных штаммов типа А2 и не распространяется ни на какие другие штаммы вируса гриппа, в том числе и на А2 ингибиторо-резистентные.

Отсутствие ГИ во всех сывороточных препаратах, подвергавшихся очистке и концентрации, по-видимому, подтверждает данные Поляна и Смородинцева о том, что ГИ находится в альфа-фракции, которая убирается как балластный белок во время обработки сыворотки.

В исследовании отмечена корреляция показателя торможения ГА куриных эритроцитов и биологической нейтрализации культуры ткани куриного эмбриона в присутствии специфических антител, а также и ГИ.

Получение гипериммунных поливалентных сывороток, имеющих высокую специфическую активность против всех изученных вирусов гриппа, безусловно более перспективно и может иметь более широкое применение в целях обеспечения борьбы с гриппом. Однако требуются специальные дополнительные исследования о возможности использования гликопротеинового препарата из лошадиных сывороток совместно с очищенными и концентрированными сывороточными препаратами, что будет предпринято в наших дальнейших работах.

ЗНАЧЕНИЕ ПРЕДВАРИТЕЛЬНОЙ СЕНСИБИЛИЗАЦИИ В ВОЗНИКНОВЕНИИ ПОСТВАКЦИНАЛЬНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ

Т. Н. РОМАНОВА
(МОСКВА)

Существует несколько точек зрения на этиологию и патогенез поствакцинальных осложнений, возникающих в результате введения антирабической вакцины.

Однако, ни одна из существующих теорий не объясняет того факта, что осложнения возникают в единичных случаях при прочих равных условиях.

Известны экспериментальные данные, которые показывают, что введение различных бактериальных вакцин и сывороток изменяют чувствительность животных к последующему введению различных антигенов.

Можно предположить, что вакцины и лечебные сыворотки, вводимые человеку, могут создать определенный аллергический фон, на котором последующее введение антирабической вакцины может дать осложнения.

С целью выяснения роли предварительной сенсибилизации в этиологии поствакцинальных осложнений были поставлены следующие опыты.

Отдельные группы морских свинок получали однократно различные аллергены с последующим введением ежедневно антирабической вакцины в количестве 20-ти инъекций.

Клинические явления в виде парезов и параличей отмечались во всех группах, за исключением контрольной, получавшей только антирабическую вакцину.

Процент поражения животных был следующим: на фоне введения коклюшной вакцины — 80%, стрептококкового фиброаллергена — 66,6%, БЦЖ — 66%, нормальной бычьей сыворотки — 60%, кишечной поливакцины — 30%.

Отмечено, что предварительное введение аллергенов, при прочих равных условиях, не влияло на развитие характерного заболевания при многократном введении фиксированного вируса бешенства, как в виде эмульсии ткани мозга кролика, так и в виде вируса, очищенного от белков ткани мозга.

Не было отмечено также клинических явлений при введении эмульсии ткани нормального мозга.

Установлено, что оптимальные сроки сенсибилизации морских свинок аллергеном к последующему введению антирабической вакцины наступают на 21 день.

Гистологические исследования: в мягких мозговых оболочках резкое полнокровие, небольшие кровоизлияния, повышенная инфильтрация полнбластами; в веществе мозга полнокровие, периваскулярный и перещеллюлярный отек, набухание эндотелия сосудов, дистрофия нейронов преимущественно в поясничном отделе. У отдельных животных небольшие локусы клеточной инфильтрации.

Полученные данные дают основания предположить, что введение различных аллергенов изменяет функциональное состояние организма, тем самым меняя результаты ответной реакции на введение последующего антигена.

О МЕХАНИЗМАХ ЕСТЕСТВЕННОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ К ВИРУСУ КОРИ И ГРИППА

*М. А. ЛЕВЕНШТАМ, Е. Е. ЕФИМОВ, И. Г. ШРОЙТ
(ОДЕССА)*

Изучение интимных механизмов естественной невосприимчивости лабораторных животных к различным вирусам расширяет представление о противовирусном иммунитете и привлекает в последние годы все большее внимание.

чит
дед
моз
вид
не)
Сра
тит
сви
имм
жер
сма
рус
кро
логи
нен
пар
рон
ана
кле
но)
] бел
сыв
] полу
терм
(лег
нару
о вс
ленн
Г
вых
кори
Г
воро
ских
ност
В
прин
имчи

ные сыворотки, вво-
аллергический фон,
кой вакцины может

сенсбилизации в
поставлены сле-

ти однократно раз-
кедневно антираби-

аличей отмечались
получавшей только

им: на фоне введе-
ого фиброаллерге-
сыворотки — 60%.

тергенов, при про-
актериного заболе-
го вируса бешен-
так и в виде ви-

й при введении

тизации морских
ирабической вак-

овых оболочках
повышенная ин-
нокровие, пере-
эндотелия сосу-
зничном отделе.
чной инфильтра-

жить, что введе-
ое состояние ор-
акции на введе-

ЕНТНОСТИ РИ И ГРИППА

ПРОИТ

восприимчивос-
асширяет пред-
екает в послед-

Полноценную экспериментальную модель кори удалось полу-
чить на обезьянах и поросятах (Anderson J., 1911 и др., Л. Л. Фа-
леева, 1963). Репродукция вируса возможна при адаптации его к
мозговой ткани мышей-сосунков (Aragava и сотр. 1960). У других
видов лабораторных животных, как показали наши наблюдения,
не удается получить экспериментальную модель коревой инфекции.
Сравнительное изучение динамики нарастания противокоревых ан-
тител при заражении вирусом кори щенков, кроликов, морских
свинок, белых мышей, сосунков морских свинок показывает, что
иммунологические сдвиги у этих животных при однократном зара-
жении слабо выражены или отсутствуют. Эти данные можно рас-
сматривать как результат отсутствия выраженной репродукции ви-
руса. Иммунологические сдвиги наиболее выражены у щенков и
кроликов. Отмечается четкая корреляция между степенью иммуно-
логического ответа и проявлением патологоанатомических изме-
нений, выражающихся в умеренной гиперплазии лимфоидного ап-
парата, образовании центров размножения и нарастании числа пи-
ронинфильных клеток. Однако специфические для кори патолого-
анатомические изменения с образованием гранулем и гигантских
клеток отсутствуют у всех исследованных видов животных.

Для анализа механизмов естественной резистентности проведе-
но изучение сывороточных и тканевых ингибиторов.

Результаты исследований показали, что у обезьян (павианы) и
белых мышей, у которых установлена репродукция вируса кори,
сывороточные термолабильные ингибиторы отсутствуют.

У щенков, кроликов и морских свинок, на которых не удается
получить экспериментальную модель коревой инфекции, имеются
термолабильные ингибиторы вируса кори, в то время как в тканях
(легкие, печень, почти, селезенка) ингибиторы вируса кори не об-
наруживаются. Эти наблюдения объясняют литературные данные
о возможности культивирования вируса кори на тканях перечис-
ленных животных.

Параллельное изучение термолабильных сывороточных и ткане-
вых ингибиторов кроликов и морских свинок в отношении вируса
кори и вируса гриппа выявило различные особенности их действия.

Проведенные исследования позволяют предположить, что сы-
вороточные термолабильные ингибиторы щенков, кроликов и мор-
ских свинок являются ведущим фактором естественной резистент-
ности организма этих животных к коревой инфекции.

В защите от гриппозного вируса морских свинок и кроликов
принимают, по-видимому, участие и факторы тканевой невоспри-
имчивости.

ТКАНЕВЫЕ ИНГИБИТОРЫ ВИРУСОВ ГРУППЫ КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА (КЭ)

В. В. ПОГОДИНА
(МОСКВА)

Казале и Олитский (1948), Андонов (1959), Альбрехт (1962) и мы (1961, 1962) наблюдали инактивацию вируса КЭ экстрактами органов незараженных животных. В настоящей работе представлены сведения о влиянии гомогенатов тканей различных видов животных на инфекциозность и интерферирующую активность вирусов группы КЭ и некоторые материалы по механизму действия этих тканевых ингибиторов (ТИ), описываются их свойства и обсуждается вопрос о нейровирулентности вирусов группы КЭ в связи с проблемой тканевых ингибиторов.

Гомогенаты различных тканей незараженных мышей подавляли инфекциозность и интерферирующую активность вирусов группы КЭ. Наиболее выраженное ингибирующее действие оказывали гомогенаты лимфатических узлов, кишечника и подкожной клетчатки, которые снижали инфекционный титр вируса после 1—2 часов взаимодействия при 37° в среднем на 4,4 (лимфоузлы), 3,0 (кишечник) и 2,8 (клетчатка) знака $\log LD_{50}/0,03$ мл. Гомогенаты селезенки, печени и легких снижали титр вируса на 1,4—1,2 знака $\log LD_{50}$, а гомогенаты ткани головного и спинного мозга и почек — лишь на 0,6—0,3 знака $\log LD_{50}/0,03$ мл.

Такой же степени, как указано выше, гомогенаты исследованных органов подавляли интерферирующую активность вирусов группы КЭ, что было проверено в культуре фибробластов куриного эмбриона с индикаторным вирусом WEE. Гомогенаты лимфатических узлов и кишечника подавляли размножение вируса КЭ в культуре ткани.

Действие ТИ было направлено непосредственно на вирус (мозговой или культуральный). Предварительная обработка культуры ткани гомогенатами не снижала чувствительность клеток к вирусу.

Свойства ТИ изучали в основном в опытах с 5% гомогенатами лимфатических узлов и кишечника. Реакция протекала в широком диапазоне температур (4,20 и 37°). Ингибиторной активностью обладали гомогенаты, приготовленные сразу после извлечения органов, а также хранившиеся в течение 2—9 мес. при 4° или 1 мес. при —20°. Клеточный детрит, полученный после 3—10 циклов замораживания (—70°) и оттаивания (37°), также сохранял антивирусную активность. Разведение гомогената до 0,01—0,005% снижало его ингибирующее действие.

ТИ не разрушались трипсином, были мало чувствительны к периодату натрия, значительно разрушались эфиром и полностью утрачивали свою активность после обработки каолином или фильтрации через пластины Зейтца S — 1.

Прогревание частично разрушало ТИ, однако, гомогенаты тканевой или клеточный детрит, прогретые 1 час при 60 или 95° или

10 м
цион
зыва
ный

Б
штам
ребр
киш
высо
виру

И
чивы
этом
мом.

моген
шийс
ном

цеду
тев
ный

10^{4,7}
3 обр
после
10^{0,27}

В
линии
после
прош
своис
менил

Ф
сов гр
двойк
ры чу

антиви
резист
вали

различ
обезъ
ности

штамм
не на
и мал

полиме
штамм
ности,
вирусо

так и
стабили

толу-
Фа-
го к
угих
ения,
ции.
ан-
ских
что
ара-
рас-
ви-
в и
уно-
зме-
ап-
пи-
ого-
ких

де-

) и
ри,

гся
гся
ях
об-
ые
ис-

не-
са
я.
ы-
р-
ит-

ов
и-

09

СОВ ГРУППЫ ГА (КЭ)

9), Альбрехт (1962) и вируса КЭ экстрактами этой работе представлены различные виды живую активность вирусу механизму действия их свойства и об-сов группы КЭ в свя-

ых мышей подавляли активность вирусов групп: действие оказывали и подкожной клет-вируса после 1—2 ча-лимфоузлы), 3,0 (кп-0,03 мл. Гомогенаты уса на 1,4—1,2 зна-пленного мозга и по-

огенаты исследован-активность вирусов иробластов курино-гогенаты лимфати-женне вируса КЭ в

енно на вирус (моз-обработка культуры-ть клеток к вирусу-с 5% гомогенатами отекала в широком-ой активностью об-е извлечения орга-при 4° или 1 мес.-е 3—10 циклов за-е сохранял антиви-0,01—0,005% сни-

чувствительны к иром и полностью олюином или филь-

), гомогенаты тка-и 60 или 95° или

10 мин. при 100° все еще обладали способностью снижать инфекционный титр вируса КЭ на 3—4 знака ЛД₅₀ 0,03 мл. Это показывает, что в состав ТИ входят термолабильный и термостабильный компоненты.

Было проведено сравнительное изучение действия ТИ на 9 штаммов вирусов группы КЭ, различающихся по показателям церебральной и периферической нейровирулентности. Гомогенаты кишки и подкожной клетчатки сильнее инактивировали штаммы с высокой периферической патогенностью и слабее — штам мало-вирулентный при периферическом введении.

Из штамма Фатеев было селекционировано несколько устойчивых к действию ингибиторов вариантов, которые изменили при этом свои патогенные свойства, по сравнению с исходным штаммом. Для получения вариантов штамм Фатеев обрабатывали гомогенатом лимфоузлов или кишечника, затем пассировали оставшийся активным вирус через мозг мышей 1 раз при одновременном клонировании материала методом конечных разведений. Процедуру повторяли 7 раз. После 3 обработок варианты штамма Фатеев резко повысили периферическую вирулентность: если исходный штамм имел титр 10^{8,75} ЛД₅₀ 0,03 мл при заражении в мозг и 10^{9,17} ЛД₅₀ 0,25 мл при заражении под кожу, то материал после 3 обработок имел соответствующие титры 10^{9,26} и 10⁷, материал после 4 обработок 10^{9,75} и 10^{8,5}, а материал после 6 обработок — 10^{9,27} и 10^{8,27}.

Высокой периферической патогенностью обладали различные линии, ответвлявшиеся нами от основных вариантов в процессе 7 последовательных обработок гомогенатами, в том числе линии, прошедшие затем 5—6 пассажей через мозг мышей. Антигенные свойства вариантов и их отношение к дезоксихолату натрия не изменились.

Функция описанных выше ТИ в организме в отношении вирусов группы КЭ не вполне ясна в настоящее время. У нас имеются двоякого рода наблюдения: а) характеризующие ТИ как рецепторы чувствительных к вирусу клеток и б) характеризующие ТИ как антивирусные вещества, по-видимому, факторы неспецифической резистентности. В целом проведенные опыты, в которых использовали различные штаммы вируса, а также гомогенаты органов от различных видов животных (мышей, хомяков, хлопковых крыс, обезьян и морских свинок), показали, что проблема ТИ, в частности их функция в организме и связь с нейровирулентностью штаммов, для вирусов группы КЭ является весьма сложной. Здесь не наблюдается столь четких различий в поведении вирулентных и малопатогенных штаммов, как, например, в опытах с вирусом полимиелита. Не отмечено строго избирательного взаимодействия штаммов с гомогенатами каких-либо одних органов. Эти особенности, по-видимому, обусловлены широким спектром патогенности вирусов группы КЭ как в отношении различных видов животных, так и различных тканей. Возможно, что термолабильный и термостабильный компоненты ТИ выполняют в организме различную

фек-
юка-
иль-

ча 9
це-
таты
ы с
ало-

гой-
при
ам-
го-
ав-
тен-
ро-
фа-
од-
г и
эле
гал
—

ые
: 7
ти,
ые
из-

у-
ся
о-
ак
ий
от
с,
г-
ю
ь
х
м
я
н
с,
н
о
1

роль. В то же время опыты получения ингибиторорезистентных вариантов штамма Фатеев показывают, что ТИ содержат компонент, чувствительность или резистентность к которому влияет на степень вирулентности штамма при периферическом введении.

ИЗУЧЕНИЕ ПРЕЦИПИТИНОГЕННЫХ СВОЙСТВ КУЛЬТУРАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ РАЗЛИЧНЫХ ТКАНЕВЫХ КУЛЬТУР, ЗАРАЖЕННЫХ ВИРУСОМ КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА

С. Ф. ЗАКИРОВА
(СВЕРДЛОВСК)

В качестве антигенов в реакции диффузной преципитации испытывалась культуральная жидкость зараженных клеточных культур, как перевиваемых (Нер-2, Hela, СОЦ), так и первичных (эмбриональные клетки куриных и человеческих фибробластов).

Перевиваемые культуры ткани выращивались на среде 199 с 5% НБС, первичные на среде 0,5% гидролизатлактальбумина с 5—7% НБС. На 4—5 день культуру ткани, заражали мозговой суспензией вируса клещевого энцефалита. Концентрация вируса в среде равнялась 10^3 ИД₅₀/10⁶. После заражения использовалась среда 199 без сыворотки.

Контролем служила культуральная жидкость, содержащая суспензию мозга незараженных мышей.

Реакция диффузной преципитации в агаре ставилась по модифицированной методике Аухтерлони.

Четкие полосы преципитации давали культуральные антигены, полученные на клетках Нер-2, Hela, СОЦ и фибробластах человеческого эмбриона. На клетках куриных фибробластов накопления преципитиногенов обнаружить не удалось.

Появление преципитиногенов обнаруживалось со 2 дня заражения культуры ткани вирусом. Преципитиногены сохранялись в культуральной жидкости при температуре термостата или комнаты до 45 дня (срок наблюдения), при хранении в холодильнике (4°C) преципитиногены исчезали к 3—5 дня. Разведение культуральной жидкости в 2 и более раза также вызывало исчезновение полос преципитации.

С целью повышения титра преципитиногенов и инактивации антигена было применено высушивание зараженных вирусом культуральных антигенов.

Высушивание проводилось открытым способом в чашках Петри при 37°C.

Высушенные антигены разводились боратным буфером или физиологическим раствором 1:10—1:40 по отношению к первоначальному объему. При этом достигалось повышение титра преципитиногенов до 1:16—1:32 и полная потеря инфекционных

112

свойс-
ны в Г
Не
нов, а
ывал
Пр
сяцев
Полу-
культ
энцеф

О I

Пр
клини
всегда

По
ных о
могут
ные за
эти об
ности
обрета

Пр
важны
пользу

Ка:
вирусн
шения
стояла
ги тит
к. э. в
болева

удалос
сдвиго
больше
ных кл
собран
Пермс

фекцио
гом и
Пер
8—1418

резистентных ва-
ржат компонент,
лияет на степень
енин.

СВОЙСТВ К ТКАНЕВЫХ ЛЕЩЕВОГО

еципитации не-
леточных куль-
к и первичных
фибробластов).
на среде 199 с
альбумина с
жали мозговой
трация вируса
использовалась

держания сус-
лась по моди-

ные антигены,
дестах челове-
ов накопления

2 дня зара-
сохранялись в
та или комна-
олодильнике
денные культу-
исчезновение

инактивации
ных вирусом

ташках Петри

буфером или
нию к перво-
е титра пре-
нфекционных

свойств. Наиболее высокие титры преципитиногенов были получе-
ны в пробах, взятых на 4 - 5 сутки после заражения.

Неоднократное (3-4 раза) разведение и высушивание антиге-
нов, а также прогревание их при 40° и 60° в водяной бане не вы-
зывало снижения титра преципитиногенов.

При хранении концентрированных антигенов в течение 5-6 ме-
сяцев (срок наблюдения) титры преципитиногенов не изменяются.
Полученные данные свидетельствуют о том, что на различных
культурах ткани могут быть получены антигены вируса клещевого
энцефалита для реакции диффузной преципитации.

О НЕСПЕЦИФИЧЕСКИХ СДВИГАХ ТИТРОВ АНТИТЕЛ (по РПГА) ПРИ ОБСЛЕДОВАНИИ В ОЧАГАХ КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА

Г. И. МЕДВЕДЕВА, Ф. А. БЕЛКИНА, Л. И. ДАВЫДОВА
(МОСКВА)

Правильность диагностики клещевого энцефалита (к. э.) по
клиническим показателям является нередко трудной задачей и не
всегда носит достоверный характер.

По наблюдениям ряда исследователей известно, что в природ-
ных очагах к. э. в эпидемический период наряду с энцефалитом
могут встречаться и другие нейроинфекции, различные лихорадоч-
ные заболевания, а также обострение хронических инфекций. Все
эти обстоятельства могут привести в какой-то степени к гипердиаг-
ностике к. э. В этой связи в распознавании к. э. особую роль при-
обретают данные лабораторных исследований.

При интерпретации результатов серологических исследований
важным является достоверность показателей того или иного ис-
пользуемого серологического теста.

Как известно, за последние годы при изучении трансмиссивных
вирусных инфекций широкое применение получила реакция пога-
шения гемагглютинации (РПГА). Цель нашего исследования со-
стояла в том, чтобы выявить, возможны ли неспецифические сдви-
ги титров антител (по РПГА) у людей, проживающих в очагах
к. э. в случае перенесения ими того или иного инфекционного за-
болевания (вирусной или бактериальной этиологии). Нам впервые
удалось провести сравнительное исследование иммунологических
сдвигов у больных различными инфекционными заболеваниями,
больных клещевым энцефалитом и у здоровых лиц очага, покусан-
ных клещом, но не заболевших. Материал для исследований был
собран в эпидемический сезон 1963 г. в Лысьвенском районе,
Пермской области. Всего было обследовано 556 проб от 228 ин-
фекционных больных, 129 проб от 43 больных клещевым энцефали-
том и 176 проб от 88 покусанных клещами, но и не заболевших.

Первую кровь собирали в течение первых 5-7 дней от начала

покуса клещом при бессимптомной форме. II сыворотки брали че-
рез 15 и более дней от дня взятия первых проб.

Для обнаружения антител использовали реакцию подавления
гемагглютинации (РПГА), реакцию биологической нейтрализации
(РБН) и реакцию связывания компонента (РСК).

Исходное иммунологическое состояние обследуемых 3-х групп
людей было примерно сходным. У инфекционных больных и боль-
ных к. э. процент положительных результатов был соответственно
46,8 и 51,41, у здоровых людей — 58,1%.

Анализ полученных результатов показал, что в группах боль-
ных с клинически выраженным заболеванием к. э. и перенесших
бессимптомную форму к. э. сдвиги титров антигемагглютининов
были в 66 и 74% случаев. В группе инфекционных больных 2-
8-кратные нарастания титров ГА антител отмечались у 34 из 228
больных (14,8%); при этом двукратные нарастания титров были
у 3,4%, а четырехкратные и более — у 11,4% больных, у всех 34
больных по анамнестическим данным не было свежего инфициро-
вания вирусом к. э. (через укус клеща или молоко). В группе ин-
фекционных больных с положительными сдвигами антител (в
РПГА) в крови инфекционных больных может быть объяснен
очевидно, анамнестическим нарастающим ГА антител или инфици-
рованным вирусом к. э., незаметным для больного путем.

По-видимому, более четкие объяснения можно будет получить
при заборе сывороток в межэпидемический период, когда будет
полностью исключен фактор свежего инфицирования вирусом к. э.

Предварительные данные при обследовании ограниченного ко-
личества трех обследуемых групп сывороток позволяют выразить
мнение, что встречающийся небольшой процент неспецифических
сдвигов антител по РПГА требует в некоторых случаях комплекс-
ной проверки путем использования трех реакций — РПГА, РБН и
РСК.

К МЕХАНИЗМАМ СЕРОПРОФИЛАКТИКИ БЕШЕНСТВА

*Л. И. ГОРШУЙОВА, И. Г. СЕРЕБРЯКОВ, Э. М. ГОЛОВКИНА
И Е. В. РЫБАСОВА
(МОСКВА)*

Широкое практическое применение специфических антираби-
ческих сывороток и гамма-глобулина настоятельно диктует необ-
ходимость всестороннего изучения вопросов, касающихся механиз-
мов их действия, путей циркуляции в организме.

Целью настоящего исследования было сравнительное изучение
распределения в различных системах и органах организма антира-
бического гамма-глобулина. В работе использовался серийный ан-
тирабический гамма-глобулин меченый J^{131} (удельная активность
20 $\mu\text{с}$ мл). Метка производилась коллоидно-химическим методом.

114

разработанный
свободного и

Эксперимен-
тамма-глобул

после введен

кровь, лимфа

В первые
обнаруживал

ние их здесь

в мышце, в о

незначительн

сов в мышеч

тела фактиче

В почках

сов после вв

показателем

ка. К концу

и в дальнейш

В лимфа

во все после

дельно превь

ИММ:

ПРИВИТЫХ

Нами бы

ны — драже,

энцефалитов

Впервые

1 месяц и ре

на). Во II гр

и в III груп

в 1962 г., с и:

Антитела

вируса поли

1 — штамм 1

10^{-5,5}) и тип

В резуль

представлен

Исследов

и 2 дозы (II

саяцев (II гру

К типу I

1:8) опреде

8*

сыворотки брали че
5. реакцию подавления
ической нейтрализации
ДСК).

следующих 3-х групп
ных больных и боль
з был соответственно

что в группах боль
к. э. и перенесших
антигемагглютининов
ионных больных 2
счались у 34 из 228
истания титров были
больных, у всех 34
свежего инфициро
локо). В группе ин
игами антител
т быть объяснен
нтител или инфици
ого путем.

жно будет получить
риод, когда будет
вания вирусом к. э.
ограниченного ко
озволяют выразить
ит неспецифическим
случаях комплекс
ий РИГА, РБН и

I БЕШЕНСТВА

ГОЛОВКИНА

ческих антираби
чно диктует необ
ающихся механиз

ительное изучение
организма антира
ался серийный ан
ельная активность
ическим методом,

разработанным Н. Г. Серебряковым. Для очистки препарата от свободного изотопа применялась ионно-обменная смола.

Эксперименты проводились на белых крысах. Антирабический гамма-глобулин вводился в мышцу бедра, через 1 час — 9 суток после введения препарата животные забивались. Исследовалась кровь, лимфатические узлы, селезенка, почки и скелетные мышцы.

В первые же часы после введения гамма-глобулина антитела обнаруживались во всех исследованных органах, однако содержание их здесь было различным. Высокий уровень антител отмечался в мышце, в области введения препарата, более низкий — в крови и незначительный — в других скелетных мышцах. Через 24—48 часов в мышечной ткани в области введения гамма-глобулина антитела фактически уже не обнаруживались.

В почках наблюдался высокий уровень антител в течение 5 часов после введения гамма-глобулина, что, по-видимому, является показателем интенсивной эвакуации организмом чужеродного белка. К концу первых суток уровень антител здесь резко снизился и в дальнейшем не превышал их содержания в крови.

В лимфатических узлах и селезенке к концу первых суток и во все последующие сроки исследования уровень антител значительно превышал таковой в крови.

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ДЕТЕЙ, ПРИВЫТЫХ ПРОТИВ ПОЛИОМИЕЛИТА ВАКЦИНОЙ-ДРАЖЕ

И. Н. ГАЙЛОНСКАЯ, В. И. ВАСИЛЬЕВА

(МОСКВА)

Нами были обследованы дети, привитые 4 и 2 дозами вакцины — драже, изготовленной в институте полиомиелита и вирусных энцефалитов АМН СССР.

Впервые дети были привиты в 1961 г. зимой с интервалом в 1 месяц и ревакцинированы в 1962 г. в феврале и марте. (I группа). Во II группу вошли дети, вакцинированные дважды в 1961 г., и в III группу были включены дети, получившие 2 дозы вакцины в 1962 г., с интервалом в 1 месяц.

Антитела определялись методом цветной пробы к трем типам вируса полиомиелита. В качестве антигенов использовали тип I — штамм Брунден (титр 10^{-5}), тип II — штамм — I (титр $10^{-5.5}$) и тип III — штамм Соккет (титр 10^{-5}).

В результате проведенной работы нами были получены данные, представленные в таблице 1, 2 и 3.

Исследование сывороток детей, получивших 4 дозы (I группа и 2 дозы (III группа) проводилось через 7 месяцев и через 20 месяцев (II группа) после введения вакцины — драже.

К типу I вируса полиомиелита низкий уровень антител (до 1:8) определялся в I и II группах в 12,5 и 13,6% соответственно,

8*

116

Средние показатели иммунологической активности
вакцины — драже к трем типам вируса полиомиелита

Группа	К-во сывороток с титром антител (в %)				Средний титр антите:
	1:2	1:2- 1:8	1:16- 1:32	1:64 и выше	
Тип I					
I	2,5	12,5	27,5	60,0	1:78,3
II	9,1	13,6	36,4	50,0	1:80,7
III	—	—	25,0	75,0	1:118,6
Тип II					
I	5,0	10,0	30,0	60,0	1:144
II	9,1	18,2	36,4	45,4	1:73,3
III	8,3	8,3	33,3	58,4	1:62,6
Тип III					
I	2,5	27,5	37,5	35,0	1:66,8
II	4,6	40,9	50,0	9,1	1:19,3
III	—	33,3	8,3	58,4	1:56,6

встречались также сыворотки и без содержания антител к этому типу вируса.

Наиболее высокие показатели были получены в III группе детей, где в 75% антитела содержались при разведении сывороток 1:64 и выше.

К типу II во всех группах антитела в титре 1:16-1:64 и выше определялись в сыворотках у 81-90% детей. Однако и к этому типу у довольно значительной части детей (от 8 до 18%) антитела присутствовали в низком титре (1:8) или вообще не определялись.

К типу III вируса полиомиелита были отмечены наиболее низкие показатели титров антител. Так антитела в разведении 1:8 и ниже встречались в 27,5-40,9% сывороток соответствующей группы. Средние уровни антител во всех группах были также наиболее низкими (66,8% — 19,3% — 56,6% для каждой из трех групп).

Выводы

- 1) Титры антител находятся в прямой зависимости от количества введенных доз и сроков обследования привитых.
- 2) Двукратное введение вакцины — драже с интервалом в 1 год (4 дозы) не всегда дает хороший иммунологический эффект.
- 3) Самое низкое содержание антител наблюдалось к типу III вируса полиомиелита.

116

ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ РЕАКЦИЯ ЛИМФОЦИТОВ К ВИРУСУ ПОЛИОМИЕЛИТА

Изучалась реакция лимфоцитов на вирус полиомиелита в дозе $10^{8,5}$ ТЦД₅₀ в течение 24 дней. Наблюдения проводились в течение 24 дней. Наблюдения проводились в течение 24 дней. Наблюдения проводились в течение 24 дней.

Титрование проводилось в течение 24 дней.

Для изучения реакции лимфоцитов на вирус полиомиелита использовались лимфоциты, полученные из периферической крови.

В результате исследования установлено, что реакция лимфоцитов на вирус полиомиелита зависит от дозы и сроков введения.

На третьи сутки после введения вакцины антитела к вирусу полиомиелита обнаруживались в сыворотке крови.

В сыворотке крови на третьи сутки после введения вакцины антитела к вирусу полиомиелита обнаруживались в сыворотке крови.

Сопоставление результатов исследования с данными литературы показывает, что реакция лимфоцитов на вирус полиомиелита зависит от дозы и сроков введения.

Вторичная реакция лимфоцитов на вирус полиомиелита наблюдается в сыворотке крови.

В сыворотке крови на третьи сутки после введения вакцины антитела к вирусу полиомиелита обнаруживались в сыворотке крови.

В сыворотке крови на третьи сутки после введения вакцины антитела к вирусу полиомиелита обнаруживались в сыворотке крови.

В сыворотке крови на третьи сутки после введения вакцины антитела к вирусу полиомиелита обнаруживались в сыворотке крови.

В сыворотке крови на третьи сутки после введения вакцины антитела к вирусу полиомиелита обнаруживались в сыворотке крови.

В сыворотке крови на третьи сутки после введения вакцины антитела к вирусу полиомиелита обнаруживались в сыворотке крови.

В сыворотке крови на третьи сутки после введения вакцины антитела к вирусу полиомиелита обнаруживались в сыворотке крови.

В сыворотке крови на третьи сутки после введения вакцины антитела к вирусу полиомиелита обнаруживались в сыворотке крови.

В сыворотке крови на третьи сутки после введения вакцины антитела к вирусу полиомиелита обнаруживались в сыворотке крови.

В сыворотке крови на третьи сутки после введения вакцины антитела к вирусу полиомиелита обнаруживались в сыворотке крови.

В сыворотке крови на третьи сутки после введения вакцины антитела к вирусу полиомиелита обнаруживались в сыворотке крови.

В сыворотке крови на третьи сутки после введения вакцины антитела к вирусу полиомиелита обнаруживались в сыворотке крови.

В сыворотке крови на третьи сутки после введения вакцины антитела к вирусу полиомиелита обнаруживались в сыворотке крови.

В сыворотке крови на третьи сутки после введения вакцины антитела к вирусу полиомиелита обнаруживались в сыворотке крови.

В сыворотке крови на третьи сутки после введения вакцины антитела к вирусу полиомиелита обнаруживались в сыворотке крови.

В сыворотке крови на третьи сутки после введения вакцины антитела к вирусу полиомиелита обнаруживались в сыворотке крови.

В сыворотке крови на третьи сутки после введения вакцины антитела к вирусу полиомиелита обнаруживались в сыворотке крови.

В сыворотке крови на третьи сутки после введения вакцины антитела к вирусу полиомиелита обнаруживались в сыворотке крови.

ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ И ЦИТОМОРФОЛОГИЧЕСКАЯ РЕАКЦИЯ ЛИМФОИДНЫХ ОРГАНОВ НА ВНУТРИВЕННОЕ ВВЕДЕНИЕ ВИРУСА ПОЛИОМИЕЛИТА

Н. А. ГРАЕВСКАЯ и Ю. З. НЕПОМНЯШИИ
(МОСКВА)

активности
полиомелита

Тип

титр (в %)		Средний титр антите.
1:64 и выше		
60,0		1:78,3
50,0		1:80,7
75,0		1:118,0

Тип II

60,0	1:144
45,4	1:75,3
58,4	1:62,6

Тип III

35,0	1:66,8
9,1	1:19,3
58,4	1:56,6

ния антител к этому

ны в III группе де-

е 1:16 1:64 и вы-

й. Однако и к этому
(8 до 18%) антите-
вообще не опреде-

жены наиболее низ-

в разведении 1:8
с соответствующим
были также наибо-

дой из трех групп).

асимости от коли-

витых.

с интервалом в

логический эффект.

людалось к типу

Изучалась иммунологическая и цитологическая реакция лим-
фатических узлов и селезенки кролика в ответ на первичное и по-
вторное внутривенное введение вируса полиомиелита.

Вирус полиомиелита I типа (штамм Mahoney Li Sc. Cimci) в
дозе $10^{8,5}$ ТЦД₅₀/мл вводили внутривенно двукратно с интерва-
лом 24 дня. На 3, 5, 7, 10, 12, 14, 16, 18, и 22-й день после каждой
иммунизации забивали по три кролика.

Из правого подколенного лимфатического узла и селезенки го-
товили гомогенаты, в которых определяли титр вируснейтрализи-
рующих антител. В те же сроки исследовали и титр антител в
крови.

Титрование проводили в однослойной культуре почечной ткани
безьян.

Для изучения динамики цитоморфологических изменений из
селезенки и лимфатического узла готовили мазки отпечатки, кото-
рые окрашивали метилгрюн — пиронином. Подсчет плазматических
клеток проводили по методу, описанному Гурвич и Шумаковой,
причем отдельно подсчитывали количество гемоцитобластов, не-
зрелых и зрелых плазматических клеток.

В результате первичной иммунизации в селезенке и лимфати-
ческом узле отмечено значительное увеличение количества плазма-
тических клеток, причем это увеличение происходило в основном
за счет гемоцитобластов и незрелых плазматических клеток.

Это увеличение начиналось уже через несколько часов после
введения антигена и продолжалось до 8-го дня в лимфатическом
узле и до 11-го дня в селезенке, после чего количество плазматиче-
ских клеток начинало снижаться и достигало нормы к концу
третьей недели.

На третий день после первичной иммунизации удалось обнару-
жить антитела в селезенке.

В сыворотке крови антитела появлялись на третий день, титр
их нарастал до 11-го дня, после чего наблюдалось снижение.

Сопоставление цитологических сдвигов в лимфоидных органах
с уровнем антител в крови показывает, что накопление плазмати-
ческих клеток и образование антител в селезенке предшествует
максимальному накоплению антител в крови.

Вторичная иммунизация характеризовалась быстрыми и значи-
тельными цитологическими и иммунологическими сдвигами в се-
лезенке и лимфатическом узле и значительным повышением уров-
ня антител в крови. Эти сдвиги были значительно более выраже-
ны, чем в ответе на первичную иммунизацию.

Цитологические и иммунологические реакции в селезенке протекали на гораздо более высоком уровне, чем в лимфоузле.

Таким образом, можно предположить, что на внутривенное введение вирусного антигена реагируют все лимфоидные органы и в первую очередь селезенка, что выражается в увеличении количества плазматических клеток и накоплении антител. Увеличение количества плазматических клеток в лимфоидных органах предшествует нарастанию в них титра антител, которое в свою очередь несколько опережает накопление антител в крови.

РАЗРАБОТКА МЕТОДОВ ИЗГОТОВЛЕНИЯ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ПОСТАНОВКИ РЕАКЦИИ СВЯЗЫВАНИЯ КОМПЛЕМЕНТА ПРИ ЛИМФОЦИТАРНОМ ХОРИОМЕНИНГИТЕ

М. С. ЗАГРОМОВА
(ТОМСК)

Диагностическая ценность реакции связывания комплемента при лимфоцитарном хориоменингите (ЛХМ) ограничивается трудностью получения качественных специфических препаратов.

В целях широкого применения РСК нами проводились исследования по созданию методов, обеспечивающих возможность производства диагностикума и иммунной сыворотки.

В опытах использованы 2.000 белых мышей, 95 морских свинок, 22 белых крысы, 8 кроликов и два барана.

Изучались комплементсвязывающие свойства диагностикумов, полученных из мозга и внутренних органов (селезенка, печень, легкое), зараженных вирусом ЛХМ белых мышей и морских свинок. Очищение гкалевых суспензий от неспецифических веществ производилось с помощью различных физических и химических методов.

Наибольшую специфическую активность проявили препараты, приготовленные из мозговой ткани белых мышей и селезенки морских свинок с последующим осаждением специфической субстанции действием метилового спирта. С помощью этих антигенов антитела выявлялись до пределов титра.

Изучение антигенных свойств сливов питательных сред после культивирования вируса ЛХМ на культурах фибробластов куриных и человеческих эмбрионов, клеток HeLa, ПКБ, и ангиосаркомы показало, что выраженной комплементсвязывающей активностью обладали сливы культуральной жидкости с фибробластов куриных эмбрионов после трехдневной экспозиции вируса. Сливы с культур клеток HeLa, ПКБ и фибробластов человеческих эмбрионов проявили слабые антигенные свойства.

Для получения иммунных сывороток, необходимых для обеспе-

чения
свинок
Ис
бах ве
Ка
выраб
до 1:
С
абобл
ми; у
ным в
В
качес
нов, 1
титро
П
диагн
кому

А. /

Ра
расп
разр
ции
аэро
(ори
ных
остат
М
каме
польз
ко Г.
решн
аэро:
дина
аэро:
прак
пара
А
прец
ции,
(раз)

в селезенке пре-
лимфоузле.
внутривенное вв-
одные органы и
еличении колич-
тел. Увеличение
х органах пред-
ое в свою оче-
крови.

ЕНИЯ ОСТАНОВКИ ЛЕНТА АНГИТЕ

т компонента
начивается труд-
апаратов.
дильсь исследо-
ожность произ-

морских свинок.

диагностикумов.
зенка, печень,
и морских сви-
ских веществ
химических ме-

ли препараты,
селезенки мор-
еской субстан-
антигенов ан-

ых сред после
областов кури-
и ангиосарко-
ющей актив-
фибробластов
вируса. Слив
вещеских эм-
их для обеспе-

чения контролей при постановке РСК были испытаны морские свинки, белые крысы, кролики, и бараны.

Использованы две схемы иммунизации при различных спосо-
дах введения инфекционного материала.

Каждый из указанных видов животных обладал способностью
вырабатывать специфические антитела в пределах титров от 1 : 16
до 1 : 64.

С помощью РСК установлена роль вируса ЛХМ в этиологии
заболевания у 36 лиц с различными неврологическими симптома-
ми; у 28-ми из них реакция ставилась с антигеном, приготовлен-
ным в ТомНИИВС.

В целях производства наиболее рационально использовать в
качестве продуцентов не мелких лабораторных животных, а бара-
нов, которые обеспечивают больший выход сыворотки с высоким
титром антител.

Применение указанных методов изготовления стандартных
диагностических препаратов должно способствовать более широ-
кому внедрению РСК в практику работы лабораторий.

АЭРОЗОЛИ И АЭРОЗОЛЬНАЯ ВАКЦИНАЦИЯ

А. И. ДАНИЛОВ, А. И. ГРОМЫКО, Е. И. БЫЧКОВА, И. И. ТЕРСКИХ
(МОСКВА)

Разработка аппаратуры (аэрозольная камера, регулируемый
распылитель) и изучение физических свойств жидких аэрозолей
разрешили воспроизводить в эксперименте респираторные инфек-
ции с естественным механизмом заражения и разработать основы
аэрозольного метода иммунизации. Изучение аэрозольных инфекций
(орнитоз, грипп) способствовало выявлению условий, значитель-
ных также и для аэрозольной иммунизации, из которых основными
остаются дисперсность золя и дозиметрия.

Методическая разработка дозиметрии в условиях работы на
камере ПВК-2 (Институт вирусологии, камера 2) проводили с ис-
пользованием поточного ультрамикроскопа ВДК-4 (Власен-
ко Г. Я.). Определение количества частиц аэрозолей в потоке раз-
решило пересмотреть и уточнить основные показатели работы с
аэрозолями на камере ПВК-2 (время максимального насыщения,
динамика стабилизации аэрозоля, время освобождения камеры от
аэрозоля и др.). В этой связи вопросы дозиметрии нашли свое
практическое решение в создании более усовершенствованного ап-
парата (Мишин Л. Н., Громыко А. И., Данилов А. И.).

Аэрозольный метод вакцинации при орнитозе, обоснованный
преимущественной ролью местного иммунитета при данной инфек-
ции, был разработан с использованием жидкой тканевой вакцины
(разработана в Институте вирусологии).

Значительная фагоцитарная активность легочного эпителия, обеспечивая быстрое поглощение и распространение поступающего с воздухом антигена, вызывает одномоментное участие всей лимфосистемы в иммуногенезе. Это положение явилось обоснованием для испытания аэрозольной иммунизации также и против клещевого энцефалита, возбудитель которого обладает строго нейтротропными свойствами (Н. И. Терских). В работе была использована тканевая инактивированная вакцина против клещевого энцефалита, изготавливаемая Е. Н. Бычковой. Для отдельной вакцинации (против орнитоза и клещевого энцефалита), а затем при смешанной (одномоментной) вакцинации против этих двух инфекций были испытаны разные схемы введения аэрозоля, из которых лучшие результаты получены при трехкратной иммунизации с интервалами в 7 и 10 дней. Показана также возможность создать иммунитет у животных против клещевого энцефалита и при однократной аэрозольной иммунизации, что может быть использовано при разработке экстренной профилактики.

Ведущее значение местного иммунитета при орнитозе подтверждается более высокой и более продолжительной вируснейтрализующей активностью легочной ткани вакцинированных животных. Эффективность аэрозольной вакцинации против орнитоза показана в опытах на белых мышах и обезьянах, резистентность которых испытывали аэрозольным методом заражения.

Аэрозольная иммунизация против клещевого энцефалита создавала у животных более напряженный иммунитет, что в общем подтверждает данные П. Ф. Здродовского (1961) о ведущей роли лимфосистемы в иммуногенезе. Отсутствие конкуренции антигенов и эффективность смешанной аэрозольной вакцинации против орнитоза и клещевого энцефалита разрешает нам высказаться за применение комбинации вакцин против респираторных (орнитоз, грипп и др.) и нейроинфекций (вирусные энцефалиты). Высокая эффективность аэрозольного метода вакцинации может быть достигнута и использована в практике при соблюдении следующих условий. Жидкая безаллергенная вакцина, не содержащая веществ, способных препятствовать ее быстрому всасыванию, должна быть диспергирована в виде тумана с диаметром частиц от 1 до 3 микрон.

Необходимо проводить строгую дозиметрию вдыхаемого антигена при помощи электронносчетной самозаписывающей аппаратуры. Более полное оседание вдыхаемого антигена может быть достигнуто при использовании электроаэрозолей. Несомненная перспективность этого метода вакцинации оправдывает необходимость усовершенствования и дальнейшего изучения метода аэрозольной вакцинации.

О ВОЗ

М.

При
лошади
на) бы
свинкам
вторномные д
опасн
рез ве17427
Форма

О ВОЗМОЖНОСТИ СОЗДАНИЯ ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ ИНЕРТНОСТИ У ВЗРОСЛЫХ ЖИВОТНЫХ

М. Г. ГАЙДАМАКА, А. С. ДРОМАШКО, Е. Н. НАГОРЕНКО
(ХАРЬКОВ)

При изучении сенсibiliзирующих свойств противогриппозной лошадиной сыворотки нами и другими авторами (А. А. Колчурина) было установлено, что интраназальное введение ее морским свинкам создает состояние повышенной чувствительности к повторному введению в кровь. Изучение возможности устранения

ОПЕЧАТКИ

Стр.	Строка	Напечатано	Следует читать
3	3	... оставлилась запу- стевшая зона оставалась запу- стевшая зона.
6	1	ДЕАЕ	ТЕАЕ
6	6	ГИА	ГРА
19	1	воруса	вируса
19	4	фибробластов	фибробластов
40	4	СЕАЕ	ТЕАЕ
64	5	Илны	Ионы
69	3	FZ	FL
69	5	вируса РР8	вируса Р 8
70	4	ЕМ-5	ЕМ-5
80	1	кириногo	куриногo

Зак. 1418-800

ные данные могут служить теоретическим обоснованием для безопасного применения очищенной противогриппозной сыворотки через верхние дыхательные пути.

Л174276 Печ. л. 7, 5 Тираж 800 Подп. в печ. 2/IX-64 г.
Формат 60x92^{1/16} Заказ 1418 Цена 90 коп.

Типография ГОСИНТИ. Москва, Б. Полянка, д. 43

Значительная фагоцитарная активность легочного эпителия, обеспечивая быстрое поглощение и распространение поступающего с воздухом антигена, вызывает одномоментное участие всей лимфосистемы в иммуногенезе. Это положение явилось обоснованием для испытания аэрозольной иммунизации также и против клещевого энцефалита, возбудитель которого обладает строго нейротропными свойствами (Н. И. Терских). В работе была использована тканевая инактивированная вакцина против клещевого энцефалита, изготовляемая Е. Н. Бычковой. Для отдельной вакцинации (против орниоза и клещевого энцефалита), а затем при смешанной (одномоментной) вакцинации против

О I

П
лоша
на)
свин
втор
этого
тель
осая
лиш
указ
Д
защ
ных
пове
отсу
же
инт
пов
зул
ка,
мен
сыв
гете
соз,
и п
ные
опа
рез

... (орниоз и энцефалиты). Высокая эффективность аэрозольного метода вакцинации может быть достигнута и использована в практике при соблюдении следующих условий. Жидкая безаллергенная вакцина, не содержащая веществ, способных препятствовать ее быстрому всасыванию, должна быть диспергирована в виде тумана с диаметром частиц от 1 до 3 микрон.

Необходимо проводить строгую дозиметрию вдыхаемого антигена при помощи электронносчетной самозаписывающей аппаратуры. Более полное оседание вдыхаемого антигена может быть достигнуто при использовании электроаэрозолей. Несомненная перспективность этого метода вакцинации оправдывает необходимость усовершенствования и дальнейшего изучения метода аэрозольной вакцинации.

ий
и-
м
о-
ия

00
из-
че-

64 г.
коп.

17
Фог

О ВОЗМОЖНОСТИ СОЗДАНИЯ ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ ИИЕРТНОСТИ У ВЗРОСЛЫХ ЖИВОТНЫХ

В. П. АЛЕКСАНДРОВ, А. А. КОЗЛУРИНА, И. П. ШИКО, Р. И. НАГОРЕЙКО
(КАРЬЕГО)

При исследовании способности к созданию иммунитета противогриппозной дозой живой сыворотки ми и др. авторы (А. А. Козлурин) были убеждены, что оптимальное введение ее морским свинкам с целью формирования повышенной эффективности к повторному заражению достигается при дозах, обеспечивающих умеренную реакцию. В процессе исследования удалось установить, что введение в организм в виде фракции гамма и бета глобулинов сыворотки, богатой белками, приводит к образованию

иммунитета, который сохраняется при отсутствии сезонности. В процессе исследования было установлено, что при введении в организм свинки сыворотки, богатой белками, происходит образование иммунитета. Является возможным создание иммунитета к повторному заражению того же гриппом, вызванному вирусом А/свинка/1/59. Попробуем объяснить, почему при введении в организм свинки сыворотки, богатой белками, происходит образование иммунитета. Известно, что сыворотка, богатая белками, содержит в себе антитела к вирусу гриппа, как белки, так и антитела. Известно, что антитела образуются в организме животного в ответ на введение в организм антигена. Известно, что антитела образуются в организме животного в ответ на введение в организм антигена. Известно, что антитела образуются в организме животного в ответ на введение в организм антигена.

Печать в 1961 г.
Цены: 75 коп. Тираж 1000 экз. Заказ 110. Цена 20 коп.
Издательство ЦИЛПИ. Москва. Б. Пудинский пер. 13.