

ВОСПРОИЗВЕДЕНИЕ ЛЕЙКОЗНОЙ ИНФЕКЦИИ В ОРГАНИЗМЕ МОРСКОЙ СВИНКИ

Н.Н. Новикова, Т.С. Дудоладова
ФГБНУ «Омский АНЦ», г. Омск, Россия
e-mail: novikova@anc55.ru

Аннотация: В статье представлены данные о проведении экспериментального инфицирования вирусом лейкоза крупного рогатого скота (ВЛКРС) морской свинки. Животным внутрибрюшинно вводили клеточную взвесь лимфоцитов, полученную от больной лейкозом коровы в гематологической форме. Установлено, что у 100% особей на 14-е сутки после заражения выявлена специфическая флюоресценция лимфоцитов, а провирусная ДНК – на 21-е сутки. Наличие вируса также было подтверждено с помощью ПЦР и РНИФ у всех животных на 180-е сутки после заражения.

Ключевые слова: морская свинка, ВЛКРС, лимфоциты, иммунофлюоресценция.

REPRODUCTION OF LEUKEMIC INFECTION IN THE BODY OF A GUINEA PIG

N.N. Novikova, T.S. Dudoladova
FGBNU «Omsk ANC», Omsk, Russia
e-mail: novikova@anc55.ru

Abstract. The article presents data on experimental infection of guinea pigs with bovine leukemia virus (BLVV). Animals were intraperitoneally injected with a cell suspension of lymphocytes obtained from a cow with leukemia in hematological form. It was found that in 100% of individuals, specific fluorescence of lymphocytes was detected on the 14th day after infection, and proviral DNA was detected on the 21st day. The presence of the virus was also confirmed using PCR and RNIF in all animals on the 180th day after infection.

Keywords: guinea pig, VLKRS, lymphocytes, immunofluorescence.

Естественным хозяином вируса лейкоза крупного рогатого скота (ВЛКРС) является крупный рогатый скот. Межвидовая передача вируса лейкоза крупного рогатого скота в условиях эксперимента изучена на крысах [1], курах [2], козах [3], овцах [4] и кроликах [5]. Из всех перечисленных животных наиболее приемлемой моделью для оценки новых стратегий профилактики и лечения является экспериментальное заражение кроликов путем инокуляции клеток, инфицированных ВЛКРС [6]. Необходимо отметить, что использование кроликов с целью разработки методов коррекции иммунодефицитного состояния, вызванного экспериментальной ретровирусной инфекцией, имеет

существенные недостатки, обусловленные невозможностью одновременного использования большого их количества в эксперименте, особенно когда требуется изучение разных схем и доз введения иммунобиологических препаратов. К тому же, их содержание и кормление требует достаточно высоких материальных затрат. Морские свинки часто используются в качестве экспериментальной модели и биопробы, так как их организм обладает высокой чувствительностью к возбудителям многих инфекционных заболеваний человека и сельскохозяйственных животных [7].

Цель исследования – изучение возможности моделирования инфекции ВЛКРС на морских свинках

Материал и методы исследований. Объектом исследования служили морские свинки линии агути 4-5-месячного возраста, массой 400-450 г. Животным опытной группы (n=10) вводили внутрибрюшинно клеточную взвесь лимфоцитов, выделенную из свежеполученной стабилизированной крови больной лейкозом коровы на градиенте плотности 17%-ного раствора тразографа, 1,0 мл, однократно. Животным контрольной группы (n=5) вводили физиологический раствор тем же способом.

Отбор проб крови осуществляли микропипеткой из ретроорбитального венозного сплетения на 14-, 21-, 30-, 60-, 90-, 120- и 180-е сутки после введения вируссодержащей взвеси. Диагностические исследования осуществляли с помощью реакции непрямой флюоресценции (РНИФ) в соответствии с методическими рекомендациями Н.Н. Новиковой с соавт. [8], а также полимеразной цепной реакции (ПЦР) в соответствии с инструкцией по применению комплектов реагентов производства ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора. Амплификацию проводили на анализаторе-термоциклере для детекции нуклеиновых кислот методом ПЦР в реальном времени ICycler iQ5 (BioRad, США).

Результаты исследований и их обсуждение. Анализ диагностических исследований, проведенных на морских свинках в разные сроки после инокуляции вируссодержащей суспензии, показал, что при постановке ПЦР провирус лейкоза крупного рогатого скота идентифицирован у 60% морских свинок на 14-е сутки и у 100% – на 21-е сутки от начала эксперимента. В то же время с помощью иммунофлюоресцентного метода регистрировали специфическое свечение в мазках крови у 100% особей как на 14-е, так и на 21-е сутки после инфицирования (табл. 1).

Таблица 1 – Диагностические исследования на лейкоз морских свинок в разные сроки после инфицирования ВЛКРС

Группа	Метод исследования	Срок исследования после инфицирования, сутки						
		14	21	30	60	90	120	180
Опытная	ПЦР	6/10	10/10	1/5	5/5	4/5	4/5	5/5
	РНИФ	10/10	10/10	5/5	5/5	4/5	4/5	5/5
Контрольная	ПЦР	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	РНИФ	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5

Примечание: числитель – количество положительно прореагировавших животных; знаменатель – количество животных в группе.

Через 30 суток после внутрибрюшинного введения взвеси лимфоцитов отмечалось отсутствие у 4-х их 5-и особей провирусной ДНК, однако во всех случаях с помощью РНИФ выявляли лейкозный антиген.

Начиная с 60-х суток, флюоресценцию лимфоцитов и провирусную ДНК регистрировали у всех инфицированных морских свинок, за исключением 90-х и 120-х суток, когда у одной особи реакция была отрицательной, но, тем не менее наличие вируса подтвердилось в дальнейшем на 180-е сутки.

Следует отметить, что животные контрольной группы на протяжении всего эксперимента как при постановке ПЦР, так и РНИФ имели негативную реакцию.

Заключение

На основании полученных результатов можно заключить, что инокуляция морским свинкам клеточной взвеси лимфоцитов, полученных от больной лейкозом коровы, вызывает инфицирование 100% животных уже на 14-е сутки и подтверждается в дальнейшем в течение 180 суток (период наблюдений).

Литература

1. The hematobiochemical status of Wistar rat line under the bovine leukemia virus experimental infection / E. S. Krasnikova, F. Bouchemla, A. V. Krasnikov [et al.] // Vet. World. – 2019. – Vol. 12 (3). – P. 382–388.
2. Induction of leukemia in chicken by bovine leukemia virus due to insertional mutagenesis / V. Altanero, J. Ban, R. Kettmann, C. Altaner // Arch Geschwulstforsch. – 1990. – Vol. 60 (2). – P. 89–96.
3. Goat lymphosarcoma from bovine leukemia virus / C. Olson, R. Kettmann, A. Burny, R. Kaja // J. Natl. Cancer Inst. – 1981. – Vol. 67 (3). – P. 671–675.
4. Development of leukemia and lymphosarcoma induced by bovine leukemia virus in sheep: a hematopathological study / S. Djilali, A. L. Parodi, D. Levy, G. L. Cockerell // Leukemia. – 1987. – Vol. 1. – P. 777–781.
5. Межвидовая передача вируса лейкоза крупного рогатого скота в эксперименте / М. И. Гулюкин, Н. Г. Козырева, Л. А. Иванова [и др.] // Вопросы вирусологии. – 2015. – Т. 60. – №5. – С. 32–37.
6. Persistent infection of rabbits with bovine leukemia virus associated with development of immune dysfunction / C. R. Wyatt, D. Wingett, J. S. White [et al.] // J. Virol. – 1989. – Vol. 63(11). – P. 4498–4506.
7. Функциональное состояние нейтрофилов у инфицированных микобактериями морских свинок под действием иммуномодулятора КИМ-М2 / В. С. Власенко, Е. А. Кособоков, Н. А. Денгис [и др.] // Пермский аграрный вестник. – 2022. – № 3 (39). – С. 63–69.
8. Применение реакции непрямой иммунофлюоресценции для диагностики лейкоза крупного рогатого скота: методические рекомендации / Н. Н. Новикова, С. Т. Байсеитов, В. С. Власенко, А. П. Красиков; ФГБНУ Омский АНЦ, ФГБОУ ВО Омский ГАУ им. П.А. Столыпина. – Алматы, 2020. – 17 с.