

Гулюкин М.И.¹, Козырева Н.Г.¹, Иванова Л.А.¹, Степанова Т.В.¹, Клименко А.И.², Коваленко А.В.²,
Дробин Ю.Д.², Василенко В.Н.²

Межвидовая передача вируса лейкоза крупного рогатого скота в эксперименте

¹ФГБНУ «Всероссийский НИИ экспериментальной ветеринарии имени Я.Р. Коваленко», 109428, г. Москва; ²ФГБНУ «Северо-Кавказский зональный научно-исследовательский ветеринарный институт», 346421, г. Новочеркасск

Представлены доказательства заражения кроликов вирусом лейкоза крупного рогатого скота (BLV) из молока и крови от больной энзоотическим лейкозом коровы при введении через желудочно-кишечный тракт или непосредственно в кровеносное русло. Полученные результаты свидетельствуют о способности BLV преодолевать межвидовые барьеры и опасности нативного молока как продукта, обладающего инфекционными свойствами.

Ключевые слова: вирус лейкоза крупного рогатого скота; межвидовая передача; инфицированное молоко; алиментарный путь заражения.

Для цитирования: Вопросы вирусологии. 2015; 60 (5): 32–37.

Gulyukin M.I.¹, Kozyreva N.G.¹, Ivanova L.A.¹, Stepanova T.V.¹, Klimenko A.I.², Kovalenko A.V.²,
Drobin Y.D.², Vasilenko V.N.²

Experimental interspecies transmission of the bovine leukaemia virus

¹Y.R. Kovalenko All-Russian Institute of Experimental Veterinary Medicine, Moscow, Russia; ²North-Caucasus Zonal Scientific Research Veterinary Institute, Novocherkassk, Russia

Interspecies transmission of the BLV by the inoculation of milk and blood of cows infected by the enzootic bovine leukemia virus directly into the bloodstream or through the gastrointestinal tract of heterologous species (rabbit) was demonstrated. The results of this work indicate the ability of the BLV to overcome the interspecies barriers. Use of native milk with infectious properties is shown to be dangerous.

Key words: bovine leukemia virus (BLV); interspecies transmission; infectious properties of milk; gastrointestinal tract.

Received 22.01.15

For correspondence: Mikhail Gulyukin, Doctor of Veterinary Sciences, prof., academician of RAS; e-mail: admin@viev.ru
Citation: Voprosy virusologii. 2015; 60(5): 32–37. (In Russ.)

Энзоотический лейкоз крупного рогатого скота (enzootic bovine leukosis) – злокачественное лимфопролиферативное заболевание, этиологическим агентом которого является вирус лейкоза крупного рогатого скота (bovine leukemia virus – BLV), относящийся к семейству Retroviridae, роду *Deltaretrovirus*, в который также входят Т-лимфотропные вирусы приматов – человека и обезьян (PTLV-1,-2,-3) – primate T-lymphotropic virus 1–3 [1, 2].

По официальным данным, в Российской Федерации зарегистрировано 2213 пунктов, неблагополучных по лейкозу крупного рогатого скота, где уровень инфицированности животных составляет от 10 до 80%, а заболеваемость – 3–4%. Такая эпизоотическая ситуация в РФ сохраняется уже в течение нескольких лет. В естественных условиях BLV может передаваться крупному рогатому скоту, зебу, буйволам, овцам. Зарегистрирован случай носительства антител к BLV у шведских лосей [3–6].

Передача BLV восприимчивому крупному рогатому скоту может осуществляться через кровь, а также всеми секретами и экскретами при попадании в них лимфоцитов, зараженных вирусом. Анализ данных о роли молока как фактора передачи BLV показал, что в естественных условиях заражение телят вирусом лейкоза этим путем происходит весьма редко [7]. Однако вероятность передачи вируса с молоком значительно возрастает при контактировании кровью, например в случае заболевания коровы-вирусоносителя маститом [8].

Проблема передачи ретровирусов с молоком от инфицированной матери ее потомству существует не только

для BLV, но и для представляющих значительную опасность PTLV и вируса иммунодефицита человека [1, 9]. Исходя из сходства биологических свойств этих вирусов, следует ожидать, что способ и механизмы их передачи имеют много общего.

В последнее время данная проблема приобрела новый импульс, поскольку стали известны многочисленные факты передачи экзогенных ретровирусов хозяевам других видов [5, 6]. Однако с этой точки зрения BLV имеет некоторые особенности. Если многочисленные Т-лимфотропные вирусы человека и обезьян, объединенные в настоящее время в группу PTLV, очень близки, BLV формирует отдельную филогенетическую ветвь, отличаясь от PTLV по нуклеотидной последовательности наиболее консервативного гена *pol* на 42%, и за исключением домашнего крупного рогатого скота (*Bos taurus*) не обнаружен ни среди ныне существующих, ни среди ископаемых представителей рода *Bos* [10].

Получены свидетельства потенциальной опасности BLV для человека [11]. При исследовании методом иммуноблоттинга сывороток крови 257 человек в 74% случаев были выявлены антитела к капсидному антигену BLV (p24), что может служить свидетельством широкого распространения контактов людей с BLV, но не обязательно означает их инфицирование [11]. Выявление участков генома BLV и белка p24 в образцах тканей и культурах клеток молочной железы коров и человека доказывает, что BLV обладает тропизмом к клеткам этих тканей, в частности к эпителию [8, 9, 12]. Нельзя также

исключить и продукцию BLV тканями молочной железы, а не только присутствие ДНК провируса в лимфоцитах крови, содержащихся в молоке, как это принято считать. Поэтому проблема передачи BLV человеку вследствие тесного контакта и употребления в пищу продуктов животноводства остается актуальной.

В связи с этим представляет особый интерес изучение возможности передачи BLV гетерологичному виду животных при скармливании молока, молока с добавлением крови или внутривенной инокуляции крови от больной энзоотическим лейкозом коровы.

Материалы и методы

В работе использовали 23 кролика калифорнийской породы в возрасте 3 мес, разделенных на 3 опытные (по 6 кроликов) и контрольную (5 кроликов) группы. Заражающим материалом служили молоко и кровь больной энзоотическим лейкозом коровы с лейкоцитозом 20,1 тыс/мкл и лимфоцитозом 95%. Каждый кролик 1-й, 2-й и контрольной групп получал *per os* 50 мл молока дважды в день в течение 30 дней: животные 1-й группы – от больной лейкозом коровы, 2-й группы – от больной лейкозом коровы с добавлением 5 мл цельной крови той же коровы, контрольной группы – от здоровой коровы. Кроликам 3-й группы вводили однократно внутривенно по 1 мл крови от больной лейкозом коровы. В общей сложности кролики 2-й и 3-й опытных групп получили $2,86 \cdot 10^{10}$ и $1,91 \cdot 10^7$ лимфоцитов крови соответственно. Кроликов содержали в виварии в индивидуальных клетках на стандартном рационе кормления.

Исследовали кровь, полученную из краевой вены уха кроликов в течение первого месяца эксперимента еженедельно, далее с интервалом 1 мес. Период наблюдений составил 300 сут.

Серологические исследования проводили посредством реакции диффузионной преципитации (РДП) с использованием коммерческого набора для диагностики лейкоза крупного рогатого скота производства Курской биофабрики и методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием диагностического набора в блокирующем варианте *Enzootic Bovine Leukosis Virus (BLV) gp51 Antibody Test Kit/IDEXX Leukosis Blocking P02140-07*, предназначенного для исследования проб сыворотки крови и плазмы крупного рогатого скота, с некоторыми модификациями. Дополнительно к положительному

и отрицательному контролю, входящим в состав набора, использовали отрицательную и положительную в РДП ^{gp51}BLV сыворотки крови кроликов. Результаты оценивали по степени блокирования (в %) антителами исследуемой сыворотки связывания конъюгата моноклональных антител к gp51 BLV с иммобилизованным антигеном BLV тест-системы. Реакцию считали положительной, если блокирование составляло не менее 50%.

Гематологические исследования. Подсчитывали количество лейкоцитов в 1 мкл крови, стабилизированной гепарином, выводили лейкоформулу и определяли относительный лимфоцитоз (в %).

Молекулярно-генетические исследования. Идентификацию фрагментов основных провирусных генов BLV проводили с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР): фрагмента провирусного гена *pol* BLV с использованием праймеров PF2/PR2 [13], фрагмента гена *env* BLV – методом гнездовой ПЦР с использованием праймеров OBLV1A – 6A (out, внешние), OBLV3 – 5 (in, внутренние) согласно рекомендациям Международного эпизоотического бюро [2] в нашей модификации, *env5032*, *env5099*, *env5521r*, *env5608r* [14] в нашей модификации. Продукты ПЦР анализировали методом электрофоретического разделения в 1,5–2% агарозном геле, окрашенном бромистым этидием (EtBr) в конечной концентрации 0,5 мкг/мл.

Выявление участков генов *tax-rex* и *gag* выполняли согласно инструкции производителя диагностических наборов.

Результаты и обсуждение

В табл. 1 представлены обобщенные результаты серологических и молекулярно-генетических исследований кроликов опытных и контрольной групп, полученные в течение периода наблюдений.

При проведении серологических исследований методом РДП и более чувствительным методом блокирующего ИФА у кроликов контрольной и 1-й опытной групп не были выявлены антитела к гликопротеидному антигену gp51 BLV (см. табл. 1).

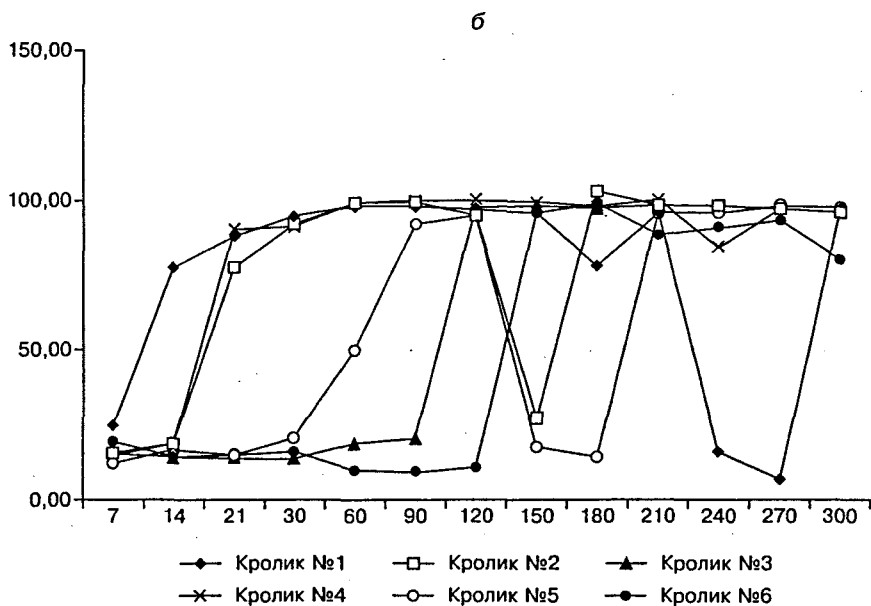
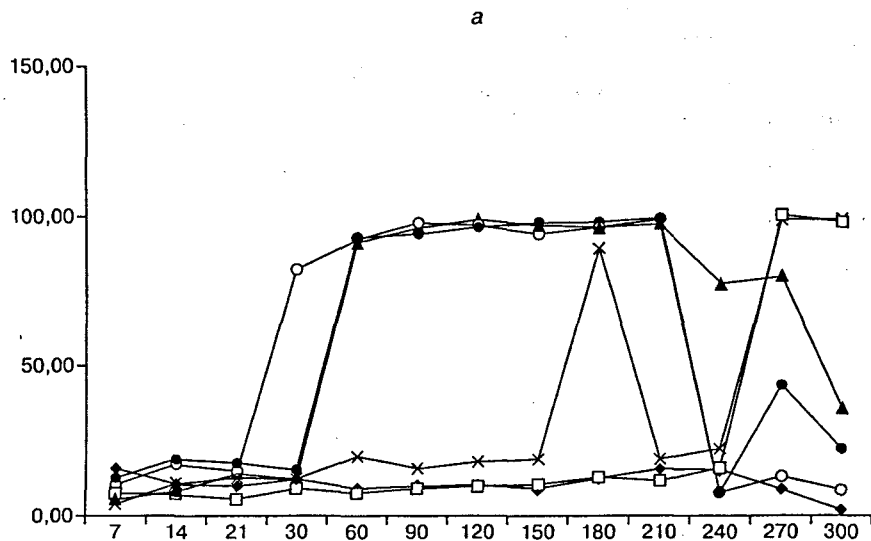
Во 2-й опытной группе спустя 30 сут от начала эксперимента у 2 кроликов произошла сероконверсия, выявленная в ИФА (кролик № 5) и РДП (кролик № 6). Всего за период наблюдений в РДП антитела к gp51 BLV были выявлены у 3 из 6 животных (№ 3, 5, 6), методом конкурентного ИФА – у 5 из 6 кроликов, в том числе у

Таблица 1

Динамика выявления признаков индуцированной BLV инфекции у кроликов

Группа	Метод исследования	Сутки от начала эксперимента												
		7	14	21	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300
1-я	РДП	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/5	0/5	0/5
	ИФА	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/5	0/5	0/5
	ПЦР	2/6	3/6	5/6	6/6	6/6	4/6	4/6	3/6	5/6	4/6	2/5	3/5	5/5
2-я	РДП	0/6	0/6	0/6	1/6	3/6	2/6	3/6	3/6	3/6	3/5	3/6	2/6	3/6
	ИФА	0/6	0/6	0/6	1/6	4/6	4/6	4/6	4/6	5/6	4/6	1/6	4/6	2/6
	ПЦР	2/6	1/6	6/6	3/6	6/6	6/6	5/6	2/6	5/6	6/6	4/6	2/6	6/6
3-я	РДП	0/6	1/6	2/6	3/6	3/6	4/6	4/6	4/6	5/6	6/6	4/5	4/5	4/5
	ИФА	0/6	1/6	2/6	3/6	4/6	4/6	4/6	4/6	5/6	6/6	3/5	4/5	5/5
	ПЦР	0/6	3/6	6/6	2/6	6/6	6/6	5/6	6/6	6/6	4/6	4/5	4/5	5/5
Контроль	РДП	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	ИФА	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	ПЦР	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5

Примечание. Здесь и в табл. 2: числитель – количество положительно прореагировавших животных; знаменатель – количество животных в группе.



◆ Кролик №1 □ Кролик №2 ▲ Кролик №3
 × Кролик №4 ○ Кролик №5 ● Кролик №6

Динамика развития гуморального иммунного ответа у кроликов на введение материала коровы, больной энзоотическим лейкозом. Результаты блокирующего варианта ИФА.

а – 2-я, б – третья опытные группы. По вертикали – блокирование связывания иммунопероксидазного конъюгата (в %); по горизонтали – срок от начала эксперимента (в сут).

кроликов № 2 и № 4 впервые только на 270-е и 180-е сутки периода наблюдений соответственно. У кролика № 1 развитие гуморального иммунного ответа на gp51 BLV не было зафиксировано (см. табл. 1).

По данным обоих серологических тестов, у всех кроликов 3-й группы внутривенное введение крови инфицированной коровы вызвало развитие гуморального иммунного ответа на BLV. Наиболее рано – на 14-е сутки от начала опыта – сероконверсия произошла у кролика № 1.

Особенностью гуморального иммунного ответа у всех положительно прореагировавших кроликов 2-й и 3-й групп было значительное колебание уровня антител и в РДП, и в ИФА (см. рисунок).

Молекулярно-генетическими исследованиями было установлено, что в 1-й опытной группе амплификация участка провирусного гена *tax-rex* происходила в ПЦР всего у 4 животных начиная со 180-х суток. С использованием праймеров, разработанных на участок гена *pol*,

амплификация искомого фрагмента происходила у всех 6 животных, однако у одного и того же животного ДНК провируса BLV обнаруживали не постоянно. При использовании праймеров, комплементарных участку гена *env*, искомым участком генома провируса был выявлен у всех 6 животных, причем впервые на 14-е сутки эксперимента. Амплификацию участка гена *gag* наблюдали у 5 животных: у 3 животных однократно на 210-е сутки, затем еще у 2 животных на 270-е и 300-е сутки эксперимента.

По результатам амплификации участка провирусного гена *tax-rex* во 2-й группе прореагировало всего 3 кролика. Начиная с 30-х суток у 1 животного фрагмент гена выявляли постоянно на протяжении 6 мес, затем ДНК провируса не обнаруживали до окончания срока наблюдения. У 2 кроликов искомым участком выявили однократно на 240-е сутки. При применении праймеров, разработанных на участок гена *pol*, прореагировали все

Выявление ДНК провируса BLV в крови кроликов в динамике

Участок гена	Сутки от начала эксперимента												
	7	14	21	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300
1-я опытная группа													
tax-rex	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	2/6	3/6	1/5	0/5	0/5
pol	2/6	1/6	1/6	2/6	5/6	4/6	1/6	2/6	3/6	2/6	3/5	2/5	5/5
env	0/6	2/6	5/6	5/6	5/6	1/6	4/6	1/6	3/6	2/6	0/5	0/5	5/5
gag	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	3/6	0/5	1/5	1/5
2-я опытная группа													
tax-rex	0/6	0/6	0/6	1/6	1/6	1/6	1/6	1/6	1/6	0/6	2/6	0/6	0/6
pol	1/6	2/6	5/6	2/6	3/6	4/6	1/6	1/6	3/6	4/6	2/6	2/6	5/6
env	0/6	0/6	3/6	1/6	6/6	3/6	5/6	2/6	2/6	3/6	1/6	0/6	3/6
gag	1/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	1/6	0/6	1/6	5/6	0/6	0/6	4/6
3-я опытная группа													
tax-rex	0/6	1/6	2/6	1/6	3/6	0/6	4/6	3/6	5/6	2/6	3/5	1/5	1/5
pol	0/6	2/6	3/6	1/6	4/6	3/6	0/6	4/6	3/6	3/5	4/5	4/5	4/5
env	0/6	0/6	5/6	0/6	4/6	3/6	3/6	6/6	4/6	2/6	2/5	0/5	4/5
gag	0/6	1/6	4/6	2/6	1/6	1/6	2/6	2/6	3/6	4/6	0/5	1/5	2/5
Контрольная группа													
tax-rex	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
pol	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
env	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
gag	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5

6 животных, первая детекция провирусной ДНК приходилась на 7-е сутки; на электрофореграмме специфическая полоса отличалась слабой интенсивностью, что, вероятно, объясняется низким содержанием провирусной ДНК в крови. Участок гена *env* обнаруживали у всех 6 кроликов начиная с 21-х суток наблюдения.

При использовании праймеров, комплементарных участку гена *gag*, провирусная ДНК выявлена у 5 животных. Впервые выявление ДНК возбудителя произошло на 7-е сутки наблюдения, затем после значительного перерыва – начиная со 120-х суток эксперимента.

В 3-й группе у 6 животных провирусная ДНК обнаружена всеми системами праймеров с разными интервалами начиная с 14-х суток.

В табл. 2 представлены результаты выявления участков основных генов BLV в течение всего периода наблюдений.

У животных всех опытных групп выявление ДНК провируса BLV с применением систем праймеров на различные провирусные гены отличалось нестабильностью. Фрагменты всех 4 генов провируса BLV обнаруживали в 3-й группе у всех 6 животных, во 2-й – у 2, в 1-й – у 4 кроликов.

По результатам определения признаков заражения опытных животных BLV – наличию антител к вирусу непрямыми методами диагностики (РДП, ИФА) и генома провируса прямым методом диагностики (ПЦР) – установлено, что каждое опытное животное являлось инфицированным, т. е. хотя бы однократно был получен положительный результат, что доказывает факт воспроизведения BLV-инфекции на кроликах. Все животные в опыте вне зависимости от способа заражения и дозы прореагировали положительно при выявлении ДНК провируса в крови (см. табл. 2).

За период наблюдений гематологические показатели в контрольной группе колебались в следующих пределах:

лейкоцитоз 5,4–7,2 тыс./мкл, лимфоцитоз 55–59%; в 1-й опытной группе – соответственно 5,0–8,5 тыс./мкл и 52–60%. В период 120–300 сут от начала опыта отмечали повышение лейкоцитоза и относительного лимфоцитоза у 2 кроликов 2-й группы (№ 3 и № 6) до 11 тыс./мкл и 65% и 4 кроликов 3-й группы (№ 1, 4, 5, 6) до 12,6 тыс./мкл и 77% соответственно. Эти показатели, однако, не превышали значений физиологической нормы и достоверно не отличались от показателей 1-й опытной и контрольной групп.

Для доказательства заражения кроликов молоком и кровью от лейкозной коровы была поставлена биопроба на кроликах и овцах. Для этого спустя 300 сут от начала эксперимента от каждого кролика в опыте было получено по 1 мл крови, которую ввели интактным кроликам. Наблюдения за этими кроликами проводили в течение 1 года. Биопробу на овцах выполняли выборочно. Овцам № 6587, 6551 и 6592 внутривенно ввели по 1 мл крови от 1 кролика из каждой опытной группы: соответственно от кролика № 1 из 1-й группы, № 1 2-й группы и № 2 из 3-й группы. Исследования крови овец проводили в течение 14 мес с интервалом 30 сут в РДП, конкурентном ИФА и ПЦР на основные гены BLV.

Результаты биопробы. Гуморальный иммунный ответ в группе кроликов, которым вводили кровь от кроликов 1-й опытной группы, отсутствовал; у кроликов, которым вводили кровь от кроликов 2-й опытной группы, он был слабым (изгиб контрольной линии преципитации) и проявился только у 2 из 6 кроликов на 150-е и 240-е сутки соответственно; у кроликов, которым вводили кровь от кроликов 3-й опытной группы, зафиксировали более сильный гуморальный ответ с образованием полосы преципитации у 4 из 5 кроликов в последние 2 мес периода наблюдений. Во всех случаях выявления антител оно было однократным на протяжении всего эксперимента.

Провирусная ДНК была обнаружена у всех без исключения кроликов, использованных для постановки биопробы.

бы. Ранее (спустя 30 сут после введения инфицирующего материала) выявление ДНК провируса во всех случаях подтвердилось при более поздних исследованиях и, по-видимому, не было связано с присутствием в кровеносном русле провируса, содержащегося во введенном материале.

Таким образом, на основании молекулярно-генетических исследований можно сделать вывод о заражении BLV всех кроликов, использованных для биопробы. Тем самым не только подтверждено наличие BLV-инфекции у кроликов 1–3-й опытных групп, но и проведен второй пассаж BLV на кроликах.

В результате биопробы на овцах было установлено, что продукция антител к антигенам BLV у этого вида животных была незначительной, поскольку не была выявлена в РДП ни у одной овцы; в блокирующем ИФА получен достоверный положительный результат однократно – у овец 6587 и 6592 и двукратно – у овцы 6551. Результаты молекулярно-генетических исследований были положительными у всех 3 овец. Таким образом, было подтверждено инфицирование всех 3 кроликов, выбранных для проведения биопробы на овцах.

Несмотря на то, что в естественных условиях BLV поражает только крупный рогатый скот, в эксперименте, а также при длительном совместном содержании с инфицированными крупным рогатым скотом он легко передается овцам и козам и может вызвать у них злокачественную трансформацию лимфоцитов. В условиях эксперимента BLV также способен заражать многие виды животных, в том числе не относящихся к жвачным [3]. Поэтому проблема передачи BLV человеку вследствие тесного контакта и употребления в пищу продуктов животноводства остается актуальной.

Как показали результаты нашего эксперимента, при скармливания кроликам молока большой энзоотическим лейкозом коровы ДНК провируса появляется в крови уже через 7 сут от начала эксперимента, что даже несколько раньше, чем при внутривенном введении крови с высоким содержанием лимфоцитов. Выявление провируса в столь ранние сроки в крови кроликов 1-й и 2-й опытных групп, получавших вирусосодержащий материал перорально, означает существование эффективного механизма проникновения вируса через барьер желудочно-кишечного тракта.

В настоящее время опубликовано большое количество работ, посвященных изучению влияния BLV на лабораторных животных. Как правило, если заражению подвергали кроликов, инфекционный процесс сопровождался у них развитием иммунодефицитных состояний, таких как потеря массы тела, алопеции, риниты, конъюнктивиты и др. [4]. Следует отметить, что условия проведения экспериментов в нашей работе значительно отличались от описанных в литературе. Целью нашей работы было изучение возможности межвидовой передачи BLV в условиях, максимально приближенных к естественным. Результаты наших экспериментов дают основание считать, что BLV передается прежде всего вирусосодержащими жидкостями, такими как кровь и молоко, через слизистую оболочку пищеварительного тракта, поврежденную поверхность кожи или при непосредственном введении в кровеносное русло. Вероятно, такие пути передачи, обеспечивая распространение вируса в популяции восприимчивых животных, не требуют больших доз инфицирующего материала.

При заражении крыс пероральной, внутривенной и внутрибрюшинной инокуляцией вируса HTLV-1, продуцируемого клетками МТ-2, провирус HTLV-1 выявляли в периферической крови и некоторых органах по меньшей мере в течение 12 нед, однако ни одна из перорально инокулированных крыс не продуцировала антитела к HTLV-1 на выявляемом уровне в отличие от зараженных внутривенно или внутриперитонеально. Следовательно, путь передачи

HTLV-1 влиял на интенсивность иммунного ответа, но не на персистенцию вируса [15]. Авторы не исключают развитие иммунологической толерантности к HTLV-1 у перорально инокулированных крыс. Результаты, полученные в нашей работе, во многом совпадают с этими данными. Как видно из табл. 1, выявление провируса BLV происходило примерно с одинаковой частотой у кроликов всех опытных групп, но у всех кроликов, зараженных перорально молоком, и у 1 из кроликов, зараженных молоком с добавлением крови, антитела не были обнаружены, что может свидетельствовать о развитии толерантности. Вместе с тем сравнение гуморального иммунного ответа у кроликов 1-й и 2-й опытных групп указывает на влияние на его развитие количества введенного перорально провируса. Можно предположить, что добавление крови к молоку повысило содержание провируса в заражающем материале, и это привело к отмене развития толерантности у большинства кроликов 2-й группы. Внутривенное введение заражающего материала не вызывало развития иммунологической толерантности. По-видимому, это связано с различной провирусной нагрузкой, однако мы не оценивали ее в этом эксперименте. Установлена корреляция между провирусной нагрузкой, обусловленной путем и дозой инокуляции кроликам материала, содержащего HTLV-1, и клиническими симптомами, развившимися у подвергнутых заражению животных [16].

Пероральная передача BLV с молоком больных лейкозом коров их потомкам потенциально опасна для практического животноводства. Развитие иммунологической толерантности, в результате развития у инфицированных животных отсутствует гуморальный иммунный ответ на BLV, по-видимому, не происходит в массовом масштабе, однако в значительной степени снижает эффективность базирующихся в основном на серологической диагностике оздоровительных мероприятий при лейкозе крупного рогатого скота.

Результаты проведенного нами эксперимента устанавливают факт межвидовой передачи BLV при введении заражающего материала в организм гетерологичного вида животных непосредственно в кровяное русло или через желудочно-кишечный тракт; подтверждают инфекционные свойства молока больных лейкозом коров, что свидетельствует о потенциальной опасности употребления людьми парного молока. Обнаружение ДНК провируса в кровяном русле спустя 7–14 сут после введения заражающего материала *per os* свидетельствует о существовании активного механизма переноса возбудителя через стенку желудочно-кишечного тракта, совершенно не изученного в отношении BLV. Ждут дальнейшего изучения факты отсутствия гуморального иммунного ответа при пероральном введении кроликам содержащего BLV материала, а также роль провирусной нагрузки в развитии признаков инфекции. Требуется также изучения причина, по которой кролики как модель для изучения дельтареtrovирусных инфекций столь чувствительны к возбудителям этих инфекций и реагируют на них развитием многообразных симптомов, в том числе иммунной депрессии.

ЛИТЕРАТУРА (п.п. 1–6, 8–12, 14–16 см. REFERENCES)

7. Валихов А.Ф., Бурба Л.Г., Шишков В.П. Иммунологическое и вирусологическое исследование молока, крови и спермы крупного рогатого скота, инфицированного онкорнавирусом. Лейкозы сельскохозяйственных животных. В кн.: *Материалы Советско-Нидерландского симпозиума. Труды Всероссийского научно-исследовательского института экспериментальной ветеринарии им. Я.Р. Коваленко*. М.: 1983; 59: 71–2.
13. Козырева Н.Г., Иванова Л.А., Гулюкин М.И., Колбасов Д.В., Цыбанов С.Ж., Калабеков И.М. и др. Оптимизация ПЦР для выявления ДНК провируса лейкоза КРС с использованием сконструированных праймеров, комплементарных участку провирусного гена *pol*. *Ветеринария и кормление*. 2011; 1: 16–7.

REFERENCES

1. Stoye J.P., Blomberg J., Coffin J.M., Fan H. et al. Retroviridae. In: King A.M.Q., Adams M.J., Carstens E.B., Lefkowitz E.J., eds. *Virus Taxonomy. 9th Rep. Intern. Comm. Taxonomy of Viruses*. London, Waltham, San Diego: Elsevier Ac. Press.; 2012: 481–95.
2. World Organization of Animal Health (OIE). *Enzootic bovine leucosis*. In: *Manual of standards for diagnostic tests and vaccines*. 2008; 2: 729–38.
3. Burny A., Bruck C., Cleuter V., Couez D., Deschamps J., Ghysdael J. et al. A bovine leukemia virus, a versatile agent with various pathogenic effects in various animal species. *Cancer Res.* 1985, 45 (9, suppl.): 4578–82.
4. Dimitrov P., Simeonov K., Todorova K., Ivanova Z., Toshkova R., Shikova E. et al. Pathological features of experimental bovine leukaemia viral (BLV) infection in rats and rabbits. *Bull. Vet. Inst. Pulawy*. 2012; 56: 115–20.
5. Hirsch V.M., Dapolito G., Goeken R., Campbell B.J. Phylogeny and natural history of the primate lentiviruses, SIV and HIV. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 1995; 5: 798–806.
6. Wolfe N.D., Heneine W., Carr J.K., Garcia A.D., Shanmugam V., Tammoufe U. et al. Emergence of unique primate T-lymphotropic viruses among central African bushmeat hunters. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 2005; 102 (22): 7994–9.
7. Valikhov A.F., Burba L.G., Shishkov V.P. Immunological and virologic examination of milk, blood and sperm from cattle infected with onkomavirus. Leukoses of farm animals. In: *Materials of the Soviet and Netherlands symposium. Proceedings of the All-Russian Research Institute of Experimental Veterinary Medicine. Y.R. Kovalenko. [Materialy Sovetskogo-Niderlandskogo simpoziuma. Trudy Vserossiyskogo nauchno-issledovatel'skogo instituta eksperimental'noy veterinarii im. Ya.R. Kovalenko]*. Moscow; 1983; 59: 71–2. (in Russian)
8. Buehring G.C., Kramme P.M., Schultz R.D. Evidence for bovine leukemia virus in mammary epithelial cells of infected cows. *Lab. Invest.* 1994; 71: 359–65.
9. Buehring G.C., Choi K.Y., Jensen H.M. Bovine leukemia virus in human breast tissues. *Breast Cancer Res.* 2001; 3 (suppl. 1): S1–24.
10. Dube S., Bachman S., Spicer T., Love J., Choi D., Esteban E. et al. Degenerate and specific PCR assays for the detection of bovine leukaemia virus and primate T cell leukaemia/lymphoma virus pol DNA and RNA: phylogenetic comparisons of amplified sequences from cattle and primates from around the world. *J. Gen. Virol.* 1997; 78: 1389–98.
11. Buehring G.C., Philpott S.M., Choi K.Y. Humans Have Antibodies Reactive with Bovine Leukemia Virus. *AIDS Res. Hum. Retrovirus.* 2003; 19 (12): 1105–13.
12. Mesa G., Ulloa J.C., Uribe A.M., Gutierrez M.F. Bovine Leukemia Virus Gene Segment Detected in Human Breast Tissue. *Open J. Med. Microbiol.* 2013; 3 (1): 84–90.
13. Kozyreva N.G., Ivanova L.A., Gulyukin M.I., Kolbasov D.V., Tsybanov S.Zh., Kalabekov I.M. et al. Optimization of PCR for identification of DNA of a provirus of a bovine leukosis with use of the designed primers, complementary to a site of a provirus gene of pol. *Veterinariya i kormlenie*. 2011; 1: 16–7. (in Russian)
14. Beier D., Blankenstein P., Marquardt O., Kuzmak J. Identification of different BLV provirus isolates by PCR, RFLPA and DNA sequencing. *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.* 2001; 114 (7–8): 252–6.
15. Kato H., Koya Y., Ohashi T., Hanabuchi S., Takemura F., Fujii M. et al. Oral administration of human T-cell leukemia virus type 1 induces immune unresponsiveness with persistent infection in adult rats. *J. Virol.* 1998; 72 (9): 7289–93.
16. Zhao T.-M., Hague V., Caudell D.L., Simpson R.M., Kindt T.J. Quantification of HTLV-I proviral load in experimentally infected rabbits. *Retrovirology*. 2005; 2: 34.

Поступила 22.01.15

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2015

УДК 578.891:578.421.083.2

Эспер С.А.¹, Гребенникова Т.В.^{1,2}, Исагулянец М.Г.², Кюрегян К.К.³, Прилипов А.Г.², Ходорович А.М.¹

Исследование внутрибольничной и внутрилабораторной контаминации вирусами гепатита А и С

¹ГБОУ ВПО «Российский университет дружбы народов», 117198, г. Москва; ²Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалея» Минздрава России, 123098, г. Москва; ³ФГБНУ «Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П. Чумакова», 142782, г. Москва

Важнейшим вопросом клинической лабораторной диагностики является исследование внутрибольничной и внутрилабораторной вирусной контаминации. Изучение возможности выявления вирусов в окружающей среде – актуальная проблема на сегодняшний день. В работе исследовали различные поверхности внутрибольничных и внутрилабораторных помещений на присутствие вирусов гепатита А и С с использованием чувствительных молекулярных методов. При изучении поверхностей внутри больницы был зафиксирован 1 случай контаминации РНК вируса гепатита А. При исследовании поверхностей внутри лаборатории в 78,9% случаев была обнаружена контаминация ДНК-ампликонами и в 21,1% – РНК вируса гепатита С.

Ключевые слова: гепатит А; гепатит С; внутрибольничная и внутрилабораторная контаминация.

Для цитирования: Вопросы вирусологии. 2015; 60 (5): 37–41.

Esper S.A.¹, Grebennikova T.V.^{1,2}, Isagulyants M.G.², Kyuregyan K.K.³, Prilipov A.G.², Hodorovich A.M.¹

Detection of the intrahospital and laboratory contamination with the hepatitis A and C viruses

¹Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia; ²D.I. Ivanovsky Institute of Virology «Federal Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya», Moscow, Russia; ³M.P. Chumakov Institute of Poliomyelitis and Viral Encephalitis, Moscow, Russia

Detection and confirmation of nosocomial viral contamination is an important aspect of the laboratory diagnostics. Sensitive methods were used to detect contamination of hospital and laboratory environment with the hepatitis A (HAV) and hepatitis C (HCV) viruses. One case of the contamination with HAV RNA was detected in hospital environment. There are multiple cases of the contamination with HCV RNA (21.1%) and cDNA (78.9%) in the laboratory environment.

Key words: hepatitis A; hepatitis C; hospital and indoor contamination.

This work was supported by a grant under the thematic partnership Swedish Institute 09272/2013.

Received 25.05.15

For correspondence: Suzan Esper, postgraduate; e-mail: suzan_asper@yahoo.com

Citation: Voprosy virusologii. 2015; 60(5): 37–41. (In Russ.)

Для корреспонденции: Эспер Сузан Аднановна, e-mail: suzan_asper@yahoo.com