

УДК 619:616.98:578.842.1

ИЗМЕНЕНИЯ КЛЕТОЧНОГО СОСТАВА ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ И КОСТНОГО МОЗГА НА ТЕРМИНАЛЬНОЙ СТАДИИ РАЗВИТИЯ АФРИКАНСКОЙ ЧУМЫ СВИНЕЙ

Каралова Е.М.¹, Арзуманян Г.А.¹, Восканян Г.Е.¹, Саркисян Х.В.²,
Захарян О.С.¹, Аброян Л.О.¹, Аветисян А.С.¹, Акопян Л.А.¹, Каралян З.А.¹

¹Институт молекулярной биологии НАН РА, лаборатория клеточной биологии,

²Научный центр животноводства и ветеринарии РА, Республика Армения

Африканская чума свиней (АЧС) – высококонтагиозное заболевание, распространенное среди многих представителей семейства *Suidae*. Заболевание вызывается вирусом АЧС, который является единственным представителем в своем семействе – *Afnaviridae*. Первичные очаги заболевания регистрировали в Африке, однако за последние 100 лет оно широко распространилось в Европе и некоторых азиатских странах. Несмотря на распространенность заболевания, его высокую контагиозность и значительный экономический ущерб, ряд патогенетических аспектов заболевания остаются не выясненными до сегодняшнего дня. В частности: не исследованы динамические изменения, происходящие в периферической крови и костном мозге больных животных. В наших более ранних исследованиях показана возможность возникновения юных, патологических и атипичных форм лимфоцитов при АЧС в условиях *in vitro* [1]. В связи с этим важны исследования динамики изменений в популяционном составе нейтрофилов, возможного появления их атипичных форм в периферической крови и костном мозге свиней при экспериментально вызванной острой форме АЧС, чему и посвящено данное исследование.

Известно, что на уровне мировой микроскопии идентифицируются пять типов лейкоцитов, которые, в свою очередь, классифицируются как зернистые и незернистые лейкоциты. В первую группу входят эозинофилы, базофилы и нейтрофилы.

Существует два типа незернистых лейкоцитов. Более многочисленные и мелкие называются лимфоцитами, более крупные и не столь многочисленные называются моноцитами. Нами исследовались все эти типы клеток.

Материалы и методы. Работу проводили на 3-х здоровых и 5-и зараженных вирусом АЧС свиньях весом около 40 кг. Исследовали динамику изменений популяционного состава лейкоцитов периферической крови и костного мозга свиней на терминальной стадии развития при экспериментальной инфекции, вызванной внутримышечным введением вируса АЧС.

В работе использовали вирус АЧС, генотип II, распространившийся среди домашних и диких свиней в Армении. Определение инфекционного титра АЧС проводили методом гемадсорбции. Доза вируса АЧС, используемая в опытах на свиньях, составляла 10^4 гемадсорбирующих единиц – 4 ГАЕ₅₀/мл. Периферическая кровь для приготовления мазков бралась не из ушной вены, а из бедренной кости. Готовили отпечатки костного мозга здоровых и зараженных вирусом свиней. Мазки и отпечатки фиксировали в 96 % этиловом спирте и окрашивали азур-эозином по Романовскому-Гимзе. Подсчитывали процентное соотношение всех нейтрофилов крови, а также клеток, выявленных при патологии. Весь материал статистически обрабатывали и с помощью *t* – критерия оценивали достоверность различий полученных сравниваемых значений.

Результаты и обсуждение. Состав лейкоцитов периферической крови и костного мозга здоровых свиней на терминальной стадии развития АЧС представлены в таблице.

Таблица – Состав лейкоцитов периферической крови и костного мозга здоровых свиней на терминальной стадии развития АЧС

Виды клеток	периферическая кровь		костный мозг	
	Контроль	7 сутки	Контроль	7 сутки
Лимфобласты	-	13.5±4.0	18,8±3.5	23.5±2.8
Малые лимфоциты	33.8±2.8	11.6±2.1	6,9±2.6	1.2±2.7
Средние лимфоциты	18.6±2.7	4.9±1.5	1,4±0.3	1.2±0.3
Крупные лимфоциты	8.0±1.1	2.8±0.7	9,2±1.1	2.0±0.7
Реактивные лимфоциты	-	-	-	10.2±2.2
Моноциты	4.0±0.2	2.0±0.8	6.0±1.3	2.7±1.2
Монобласты		2.9±0.7	4,6±0.4	5.6±0.9
Эозинофилы	3.8±0.4	3.9±0.9	4,3±0.3	11.8±1.3
Базофильные гранулоциты	1.0±0.3	1.0±0.3	-	1.0±0.4
Нейтрофилы палочкоядерные	7.5±0.8	3.9±1.0	18,4±2.5	1.2±0.3
Нейтрофилы сегментоядерные	23.3±1.6	2.0±0.3	10,5±0.4	-
Эритробласты	0	5.0±0,8	19,9±1.6	5.0±1.0
Атипичные лимфоциты	0	3.9±06	-	6.0±0.8
Разрушенные клетки		44.6±3.2	-	28.6±2.8

Как видно из таблицы, в периферической крови здоровых свиней около 60 % лейкоцитов составляют лимфоциты, палочкоядерные и сегментоядерные нейтрофилы и в сумме составляют примерно 30 % популяции белой крови, а на моноциты и эозинофилы приходится около 8 % клеток. Полученные нами данные хорошо согласуются с данными, приведенными в литературе [1], по которым соотношение лимфоцитов к нейтрофилам достигает 1, 8, а по нашим данным, в норме, это соотношение не превышает 2. На терминальной стадии заболевания появляются эритробласты и атипичные лимфоциты,

Розділ 1. Біобезпека та біозахист у ветеринарній медицині, емерджентні хвороби тварин

число каждого из которых достигает 5 % популяции, около половины лейкоцитов разрушено, при этом количество лимфоцитов уменьшается втрое, но появляются лимфобласты и монобласты, которые не встречаются в норме (13,5 % и 2,9 % популяции соответственно), а число нейтрофилов уменьшается в среднем в пять раз. Таким образом, к терминальной стадии инфекции на 7 сутки в крови наблюдается достоверное снижение содержания всех клеточных элементов белой крови и значительное её омоложение.

В костном мозге здоровых свиней лимфоциты составляют около 36 % популяции. Из этого числа немного меньше половины приходится на лимфобласты. Около 30 % составляют нейтрофилы. При этом число палочкоядерных нейтрофилов на 40 % больше чем сегментоядерных. До 20 % доходит количество бластных форм эритроидных клеток. Более 11 % приходится на моноцитарную популяцию, среди которых 4,6 % составляют монобласты. На 7-е сутки основную массу лимфоцитов составляют лимфобласты и реактивные лимфоциты – 33,7 % популяции. Последние не встречаются у здоровых особей и свидетельствуют о сильно выраженной воспалительной составляющей данного заболевания [3]. При этом число лимфоцитов не превышает 5 %. Интересно отметить, что более чем в 2 раза уменьшается число моноцитов, но при этом увеличивается количество более ранних их форм.

Полностью исчезают более зрелые сегментоядерные нейтрофилы, а число палочкоядерных уменьшается до минимума 1,2 % популяции. В костном мозге появляются атипичные лимфоциты, а разрушенные клетки составляют 30 % популяции. Интересно отметить, что резко, более чем в 2,5 раза, возрастает количество эозинофилов, что совпадает с литературными данными о характерных очаговых эозинофильных инфильтратах в терминальной стадии заболевания.

Выводы. Полученные нами данные по изменению клеточного состава крови под действием АЧС можно свести к следующим характеристикам: первое – появление ранних форм клеточных элементов; второе – появление атипичных форм; третье – появление значительных количеств разрушенных клеток.

Список литературы

1. Karalova, E.M., Sargsyan, K.V., Hampikian, G.K., Voskanyan, H.E., Abroyan, L.O., Avetisyan, A.S., Hakobyan, L.A., Arzumanyan, H.H., Zakaryan, H.S., Karalyan, Z.A. Phenotypic and cytologic studies of lymphoid cells and monocytes in primary culture of porcine bone marrow during infection of African swine fever virus. *In Vitro Cell Dev Biol Anim.* 2010 Dec 24. PMID: 21184199. 2. Любин, Н.А., Конова, Л.Б. Методические рекомендации к определению и выведению гемограммы у сельскохозяйственных и лабораторных животных при патологиях. Ульяновск 2005, с. 3. Cho, Y.S., Challa, S., Moquin, D., Genga, R., Ray, T.D., Guildford, M., Chan, F.K. Phosphorylation-driven assembly of the RIP1-RIP3 complex regulates programmed necrosis and virus-induced inflammation. *Cell.* 2009 Jun 12;137(6):1112-23. 4. Шуляк, Б.Ф. Африканская чума свиней. Российский ветеринарный журнал. Сельскохозяйственные животные. – 2008. – №3. – С. 36-38

CHANGES IN CELLULAR COMPOSITION OF PERIPHERAL BLOOD AND BONE MARROW AT THE TERMINAL STAGE OF AFRICAN SWINE FEVER

Karalova E.M.¹, Arzumanyan G.A.¹, Voskanyan H.E.¹, Sargsyan Kh.V.², Zakharyan O.S.¹, Abroyan L.O.¹, Avetisyan A.S.¹, Akopyan L.A.¹, Karalyan Z.A.¹

¹Laboratory of Cell Biology, Institute of Molecular Biology NAS RA, Yerevan, Armenia,

²Scientific Center for Animal Husbandry and Veterinary RA

The aim of this study was to define changes in the population of peripheral blood and bone marrow cells during acute infection by African swine fever virus (ASFV). Obtained data has been shown that under the influence of ASFV in peripheral blood and bone marrow immature cells both in erythroid and myeloid lines. Also there were described atypical cells and high levels of destroyed cells.

УДК 619.616.98.578.835. 2.616.036.22

ЭПИЗООТИЧЕСКАЯ СИТУАЦИЯ ПО АФРИКАНСКОЙ ЧУМЕ СВИНЕЙ В АРМЕНИИ ЗА 2007-2010 гг.

Маркосян Т.А., Саркисян Х.В., Григорян Г.В., Элбакян А.Л.

Научный центр Животноводства и Ветеринарии РА, г. Ереван, Республика Армения

Африканская чума свиней (*лат. Pestis africana suum*, африканская лихорадка, болезнь Монтгомери) – высококонтагиозная вирусная болезнь свиней, характеризующаяся лихорадкой (температура тела – 41-42 °С), цианозом кожи, обширными геморрагиями во внутренних органах и высокой летальностью (до 100 %).

Против АЧС не разработаны вакцины. Это эмерджентное заболевание, оказывает существенные экономические, торговые и продовольственные убытки нескольких стран, так как распространяется между странами [1].

Возбудитель АЧС – двуспиральный ДНК содержащий вирус, который размножается преимущественно в цитоплазме и является единственным представителем семейства *Asfarviridae*. При комнатной температуре вирус АЧС сохраняется более чем 18 месяцев, в крови при температуре 37 °С – один месяц, а в холодильнике – до 6 лет [2, 3].

Первый случай АЧС был зарегистрирован в Кении в 1920г., а после этого болезнь распространилась в южные и восточные страны Африки, где вирус сохраняется до сих пор либо в силватическом цикле – африканские бородавочники (*Phacochoerus aethiopicus*) и клещи рода *Ornithodoros*, либо в цикле домашних свиней, где вовлечены различные виды домашних свиней с наличием клещей или без них. В 1957г. АЧС была зарегистрирована в Португалии (предположительно занос произошел из Анголы) а потом уже в ряде других европейских стран (Испания, Франция, Италия, Мальта, Бельгия и Нидерланды). В Испании и Португалии болезнь была ликвидирована в начале 90-х, а в Италии (ост. Сардиния) она до сих пор регистрируется в виде эндемии. В 1977 г. случаи АЧС были зарегистрированы на Кубе, в Бразилии, Гаити и Доминиканской Республике, но в начале 80-х болезнь была ликвидирована [4]. В 2007 г. АЧС была зарегистрирована в Грузии и начала распространяться на юг в Армению и на север – в Российскую Федерацию.

Материалы и методы. Лабораторная диагностика вируса/антигена АЧС проводилась методами иммуноферментного анализа (IN-GEZIM ELISA-ag), иммунофлуоресценции, а также методом полимеразной цепной реакции (RT-PCR), а выявление антител – методом ИФА (INGEZIM ELISA-ab).