

*Прижизненная диагностика гельминтозов животных / М. В. Шустрова [и др.]. – СПб : Изд-во СПбГАВМ, 2010. – 57 с. 6. Reindeer as hosts for nematode parasites of sheep and cattle / J. T. Hrabok [et al.] // Veterinary Parasitology. – 2006. – № 136. – P. 297-306. 7. Population dynamics of nematode parasites of reindeer in the sub-arctic / J. T. Hrabok [et al.] // Veterinary Parasitology. – 2006. – № 142. – P. 301-311. 8. Oksanen, A. Impact of broad-spectrum anthelmintic treatment in the summer on the weight gain of reindeer calves / A. Oksanen, T. Soveri & M. Nieminen // Rangifer. – 1996. – № 16 (3). – P. 151-154.*

УДК 619:616.98:578.828.11-07

## СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ В ДИАГНОСТИКЕ ЭНЗООТИЧЕСКОГО ЛЕЙКОЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

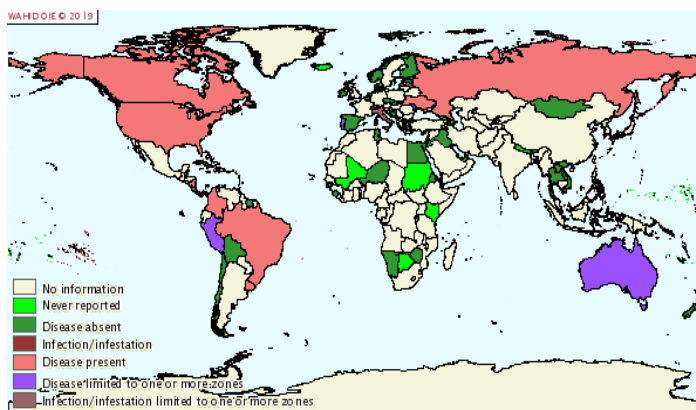
**\*Максимович В.В., \*\*Черных О.Ю.,\*Бабахина Н.В.**

**\*УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь**

**\*\*ГБУ «Кропоткинская государственная ветеринарная лаборатория», г. Кропоткин, Российская Федерация**

**Введение.** Энзоотический лейкоз крупного рогатого скота - хроническая вирусная инфекционная болезнь, протекающая чаще бессимптомно, с развитием необратимого инфекционного процесса, проявляющегося персистентным лимфоцитозом, злокачественным разрастанием кроветворных и лимфоидных клеток с нарушением их способности к морфологической дифференцировке и физиологическому созреванию, с последующей диффузной инфильтрацией органов этими клетками или образованием опухолей.

ЭЛ КРС регистрируется во многих странах мира. Например, в США, Канаде и Японии инфицированность стад достигает до 80%. Вместе с тем 12 стран Европы успешно проводившие противолейкозные мероприятия признаны свободными от ЭЛ КРС. Высокий уровень инфицированности животных вирусом ЭЛ КРС установлен в отдельных регионах России и других странах СНГ. В отдельных странах мира ситуация по ЭЛКРС остается неизвестной, так как они не предоставляют соответствующую информацию в МЭБ (рисунок 1).



**Рисунок 1 - Эпизоотическая ситуация по ЭЛ КРС в мире. Данные МЭБ за 2018 год**

В 80-е годы прошлого столетия ЭЛ КРС регистрировался в 98% хозяйств республики. Для диагностики болезни использовали гематологический метод, который базировался на выявлении у животных персистентного (сохранившегося) лимфоцитоза.

Заражение животных ВЛКРС сопровождается выработкой антител к структурным белкам вируса. Антитела и вирус персистируют в организме у зараженных животных на протяжении всей жизни. Это позволяет применять серологические методы для диагностики инфекции, вызываемой этим вирусом.

Внедрение в ветеринарную практику метода серологического исследования – реакции иммунодиффузии (РИД), как более совершенного в то время метода диагностики ЭЛКРС, дающего возможность выявлять инфицированных животных уже на стадии антителообразования, а в систему мероприятий по профилактике и ликвидации болезни – проведение диагностических исследований в 6, 12, 18 и 24 мес. возрасте и удаления из стада реагирующих в РИД животных, позволило относительно стабилизировать в стране ситуацию с по ЭЛ КРС. На начальном этапе проведения таких мероприятий в стране ежегодно выявлялось и подвергалось убою до 50 000 инфицированного крупного рогатого скота.

В настоящее время в республике Беларусь неблагополучными по ЭЛ КРС являются единичные фермы с инфицированностью животных не более 0,2%

Однако, начиная с 2010 года были внесены изменения в ветеринарно-санитарные правила профилактики и ликвидации ЭЛ КРС, которые исключили исследования в неблагополучных по этой патологии хозяйствах животных в 6-ти мес. возрасте, а с 2018 года в благополучных по ЭЛ КРС хозяйствах совсем прекратили исследования молодняка. В благополучных хозяйствах согласно ветеринарно – санитарным правилам по профилактике и ликвидации ЭЛ КРС в республике Беларусь исследования начинаются в 24 мес. возрасте, перед вводом нетелей в основное стадо.

В результате таких изменений ситуация по ЭЛ КРС в республике стала ухудшаться. В отдельных хозяйствах инфицированность крупного рогатого скота составляла более 25%, а на племпредприятиях стали выявляться инфицированные вирусом лейкоза крупного рогатого скота быки- производители. В настоящее время мы можем прогнозировать тенденцию к распространению болезни, что может нанести значительный экономический ущерб животноводству нашей страны, которая ориентирована на экспорт продуктов животноводства в различные страны мира.

В настоящее время используемые методы диагностики ЭЛ КРС в РБ выявляют инфицированных животных на стадии антителообразования и не дают возможность выявлять инфицированных животных в инкубационный период развития инфекционного процесса.

Необходимость совершенствования диагностики и системы профилактики и ликвидации ЭЛ КРС объясняется и социальной значимостью болезни. В последние годы получен ряд научных доказательств об опасности вируса ЭЛ КРС для человека. Большой интерес представляют проблемы потенциальной опасности для человека продуктов питания от животных из стад, неблагополучных по лейкозу, влияния вредных метаболитов, накапливающихся в организме больных коров, на организм человека, а также использование животных для получения биопрепаратов. Установлено, что молоко и мясо больных лейкозом животных

содержат метаболиты триптофана и других циклических аминокислот, экологически опасные для человека

Разработка эффективных способов борьбы с лейкозом крупного рогатого скота является одной из важнейших задач не только ветеринарной медицины, животноводства, но и биологии, и экологии в целом, имеющих непосредственное отношение к безопасности здоровья человека.

ВЛ КРС репродуцируется в перевиваемых, хронически инфицированных культурах клеток животных разных видов (овцы, крупного рогатого скота, свиньи, летучей мыши, крысы, собаки, обезьяны и человека). В организме вирус ЭЛ КРС связан с лимфоцитами и может длительное время (пожизненно) находиться в клетке хозяина частично или быть полностью связанным с ее геномом в виде провируса, не проявлять патогенного действия и не вызывать образования антител. В этих случаях его можно выявлять в организме только с помощью ПЦР.

Начиная с инкубационного периода (он продолжается от 30 дней до 6 лет), вирус выделяется из организма с молоком, молозивом, слюной, носовыми истечениями и другими секретами и экскретами, содержащими лимфоциты. Однако они не играют основной роли в передаче ВЛ КРС от больного животного здоровому. Основную роль в выделении и передаче вируса от больных животных здоровым принадлежит лимфоцитам больного животного. Риск инфицирования существует уже при незначительном остаточном количестве крови (0,0005 мл) больного животного, содержащего 2500 инфицированных лимфоцитов на инструменте.

В связи с этим *передача вируса* может происходить при использовании одного и того же инструмента для проведения вакцинации, взятия крови, искусственного осеменения, татуировки, обрезки копыт, мечения больного лейкозом и здорового животного. Передача вируса может осуществляться при использовании одного доильного аппарата для больных и здоровых животных, при проведении ректального исследования, а также при неправильном взятии крови, когда здоровая корова слизывает кровь от больной при попадании последней на кормушки, пол и другие предметы. К 8-9-месячному возрасту молодняк крупного рогатого скота может подвергаться 20-30 ветеринарным и зоотехническим обработкам, при которых вирус может передаваться от больного животного здоровому. Передавать вирус могут чесоточные клещи и жалящие насекомые.

Таким образом, при наличии в стаде больного лейкозом животного (хотя бы одного) существует реальная угроза передачи вируса здоровым животным.

Важнейшим источником возбудителя инфекции являются инфицированные ВЛ КРС быки- производители, а фактором передачи – полученная от них сперма. Сперма от быков – производителей, в том числе быков-инкубаторов (инкубационный период до 6 лет) не содержит вирус только при отсутствии в ней крови (до 0,0005 мл), а именно лимфоцитов, что бывает редко. Различного рода патологии (ИРТ, ПГ-3, хламидиоз, лептоспироз, кампилобактериоз и др.) с поражением органов размножения у быков приводят к появлению в их сперме лимфоцитов, которые могут быть носителями ВЛ КРС. От одного быка получают до 50 тыс. доз спермы в год, которая может храниться до 10 лет.

Возникновение ЭЛ КРС ставит под угрозу сохранение племенных животных, ведение селекционно- племенной работы, а также продажу и обмен животными и продуктами животного происхождения.

**Материалы и методы исследований.** Исследования проводились в условиях ГБУ «Кропоткинская государственная ветеринарная лаборатория», серологический отдел, лаборатория ПЦР-диагностики.

Материалом для исследования явилась 100 проб сыворотки крови и 100 проб стабилизированной крови от телок старше 12-месячного возраста из неблагополучного по ЭЛ КРС хозяйства.

Методы, используемые для диагностики: РИД, ИФА (конкурентный метод), ПЦР.

**Результаты исследований.** На первом этапе провели исследование 100 проб сыворотки крови (для ПЦР – кровь стабилизировали).

Исследовали: 100 проб сыворотки крови в РИД, 10 объединенных проб сыворотки крови (пул 1:10) в ИФА, 100 проб сыворотки крови в ИФА (индивидуально), 100 проб крови методом ПЦР.

**Таблица 1 - Результаты исследования крови крупного рогатого скота различными методами**

| Количество исследуемых животных (гол) | РИД |    | ИФА<br>(объединенные пробы) |   | ИФА<br>(индивидуально) |    | ПЦР |    |
|---------------------------------------|-----|----|-----------------------------|---|------------------------|----|-----|----|
|                                       | +   | -  | +                           | - | +                      | -  | +   | -  |
| 100                                   | 14  | 86 | 3                           | 7 | 17                     | 83 | 19  | 81 |

По результатам исследования (таблица 1) было установлено, что ИФА и ПЦР - методы диагностики обладает большей чувствительностью к выявлению инфицированных животных и выявляют животных, которые при исследовании методом РИД были отрицательны.

Второй этап. Исследовали объединенные (10 голов) пробы крови в ИФА с добавлением 9 проб (заведомо отрицательных) и 1 пробы (заведомо положительной).

Таких испытуемых лунок было 10 с добавлением в каждую 1 пробы заведомо положительной пробы крови только с различной оптической плотностью от животных на разной стадии инфицирования:

- в 1-7 лунки в качестве 10-ой положительной пробы была добавлена сыворотка крови от животных, реагирующих в РИД в ИФА и в ПЦР;
- в 8 лунку была добавлена кровь от животного, не реагирующего в РИД, реагирующего в ИФА но с оптической плотностью пробы приближающуюся к значению 50, реагирующую в ПЦР;
- в 9 и 10 лунку была добавлена кровь от животного, не реагирующего в РИД и в ИФА, но давшего положительную ПЦР, с оптической плотностью незначительно ниже 50 и незначительно выше 50 (соответственно).

**Таблица 2 - Результаты исследования сыворотки крови крупного рогатого скота в ИФА с добавлением заведомо положительной пробы в каждую лунку**

| № лунки | Оптическая плотность отрицательной пробы (9 голов) | Оптическая плотность положительной пробы (1 гол) | Результат реакции |
|---------|----------------------------------------------------|--------------------------------------------------|-------------------|
| 1       | 2                                                  | 3                                                | 4                 |
| 1       | 81,023                                             | 3,79                                             | положительно      |
| 2       | 106,22                                             | 15,496                                           | положительно      |
| 3       | 103,95                                             | 7,31                                             | положительно      |
| 4       | 100,91                                             | 2,67                                             | положительно      |
| 5       | 94,819                                             | 4,58                                             | положительно      |
| 6       | 100,52                                             | 14,98                                            | положительно      |
| 7       | 98,21                                              | 25,31                                            | положительно      |
| 8       | 102,66                                             | 45,25                                            | отрицательно      |
| 9       | 106,412                                            | 32,58                                            | отрицательно      |
| 10      | 108,36                                             | 66,215                                           | отрицательно      |

**Заключение.** По результатам проведенной работы можно сделать следующие выводы:

1. ПЦР диагностика обладает большей чувствительностью, по сравнению с ИФА и РИД.

2. Чувствительность метода ИФА, применяемого в РБ на сегодняшний день не позволяет выявить всех инфицированных животных исследуемого стада (таблица 2). Инфицированное животное остается в стаде до следующего исследования, которое согласно Ветеринарно-санитарным правилам в благополучном стаде будет через 2 года, а в неблагополучном - через 4 месяца, перезаражая здоровое поголовье, что в последствие может привести к значительному распространению ЭЛ КРС. Согласно Инструкции по использованию набора для диагностических исследований методом ИФА при проведении эксперимента мы составляли объединенные пробы 10 голов в одной лунке. А в настоящее время в Республике используется ИФА диагностикум, где в одной объединенной пробе исследуется кровь или молоко от 50 животных, что еще больше увеличивает риск пребывания в благополучном стаде не выявленного инфицированного животного.

Подводя итог вышесказанного для минимализации распространения ЭЛ КРС необходимо внедрение в систему диагностических исследований ДНК диагностики, что позволит выявить животных – носителей вируса ЭЛ КРС, в том числе телят в возрасте до 5 мес., для обследования которых непригодны серологические методы диагностики. На показания ПЦР диагностики не влияют иммунный статус животного и его физиологическое состояние (стельность). Особенно ценным будет использование ПЦР–диагностики для массового скрининга за быками, носителями вируса на элеварах и госплемпредприятиях.

**Литература.** 1. Белов, А. Д. О патогенезе лейкозов крупного рогатого скота / А. Д. Белов, Л. В. Рогожина, Г. В. Сноз // *Ветеринария*. – 1997. – Т. 2. – С. 16–20. 2. Вирусные болезни животных / В. Н. Сюрин [и др.]. – Москва : ВНИТИБП, 1998. – 928 с. 3. Возможности и ограничения использования ПЦР в диагностике и генотипировании вируса лейкоза крупного рогатого скота / В. А. Белявская [и др.] // *Актуальные вопросы зоотехнической науки и практики как основа улучшения продуктивных качеств и здоровья сельскохозяйственных животных : сборник трудов*. – Ставрополь, 2003. – С. 275–278. 4. Галеев, Р. Ф. Диагностика и профилактика лейкоза КРС / Р. Ф. Галеев, А. А. Руденко, Ф. Р. Валиев // *Практик*. – 2003. – № 5/6. – С. 44–48. 5. Глазко, В. И. Современные направления использования ДНК-технологий / В. И. Глазко, Н. Н. Доманский, А. А. Созинов // *Цитология и генетика*. – 1998. – Т. 32, № 5. – С. 80–93. 6. Опыт ускоренного оздоровления племенного хозяйства от лейкоза / А. Г. Берзак [и др.] // *Ветеринария*. – № 12. – 1990. – С. 13–15. 7. Применение серологических методов и ПЦР для обнаружения вируса лейкоза крупного рогатого скота в образцах крови, молока и носовых истечений / Н. Т. Джапаралиев [и др.] // *Достижения молодых ученых - в ветеринарную практику : материалы конференции молодых ученых / Всероссийский научно-исследовательский институт защиты животных*. – Владимир : ОКНИИиМС, 2000. – С.127–131. 8. Русинович, А. А. Энзоотический лейкоз крупного рогатого скота, меры борьбы и профилактики в Республике Беларусь : монография / А. А. Русинович. – Витебск : ВГАВМ, 2016. – 264 с. 9. Энзоотический лейкоз крупного рогатого скота: социально-экономическая значимость, диагностика, профилактика и ликвидация болезни / В. Максимович, И. Субботина, Н. Бабахина, Л. Кашпар // *Ветеринарное дело*. – 2019. – № 2. – С. 5–11. 10. Энзоотический лейкоз крупного рогатого скота: социально-экономическая значимость, диагностика, профилактика и ликвидация болезни / В. Максимович, И. Субботина, Н. Бабахина, Л. Кашпар // *Ветеринарное дело*. – 2019. – № 3. – С. 4–9. – Окончание. 11. Эпизоотологическая оценка методов прижизненной диагностики лейкоза КРС / М. И. Гулюкин [и др.] // *Вестник Российской академии сельскохозяйственных наук*. – 2000. – № 3. – С. 60–62. 12. Методические указания по диагностике лейкоза крупного рогатого скота [Электронный ресурс]. – Режим доступа : <http://lawru.info/dok/2000/08/23/n392082.htm>. – Дата доступа : 02.09.19.

УДК 619 : 615.373

## **ОПТИМАЛЬНЫЕ СХЕМЫ ГИПЕРИММУНИЗАЦИИ БЫКОВ-ДОНОРОВ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ГИПЕРИММУННЫХ СЫВОРОТОК КРОВИ ЖИВОТНЫХ**

**\*Максимович В.В., \*\*Шашкова Ю.А., \*Дремач Г.Э., \*Гайсенок С.Л.,**

**\*Гайсенок Е.Л., \*\*Тенюго Е.С., \*\*Тенюго А.В., \*Кашпар Л.Н.**

**\*УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной  
медицины», г. Витебск, Республика Беларусь**

**\*\*ОАО «БелВитунифарм», г.п. Должа, Витебский район, Республика Беларусь**

**Введение.** В животноводческих хозяйствах Республики Беларусь инфекционные болезни молодняка крупного рогатого скота первых дней жизни такие как: эшерихиоз, клебсиеллез, протеоз, рота-, коронавирусные инфекции имеют значительное распространение. На их долю в Республике Беларусь