

УДК 619:616.006.446

**СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ МЕТОДОВ ЭЛИМИНАЦИИ ЛЕЙКОЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА
В ПЛЕМЕННОМ ХОЗЯЙСТВЕ*****Некрасов А.А., *Попов Н.А., **Моисеев А.Н., *Федотова Е.Г.***ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт животноводства
им. академика Л.К. Эрнста», Московская область, г. Подольск, Российская Федерация

**ООО «Биотех», г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

В научно-производственном опыте по оздоровлению от лейкоза и респираторных инфекционных заболеваний молодняка крупного рогатого скота достигнуто резкое сокращение заболеваемости телят и полная элиминация лейкоза в стаде. Используются селекционно-генетические методы и комплексная иммунопрофилактика с иммуномодуляторами ронколейкином, полиоксидонием и миксофероном.

The sharp decline of the disease among the calves and total eradication of the leucosis in the herd have been achieved in the practical science experiment to improve the health and welfare of the cattle young stock and to protect them against bovine leucosis and respiratory virus infections. The genetic selection methods and complex immunoprophylaxis with the immunomodulators: ronkoleukin, polyoxidonium, and mixoferon were used.

Ключевые слова: лейкоз, выращивание молодняка, селекционно-генетические методы, иммунопрофилактика.

Keywords: herd health improvement, leucosis, isolation rearing of young stock, genetic selection methods, immunoprophylactic measures.

Введение. Лейкоз продолжает оставаться самым распространенным инфекционным заболеванием крупного рогатого скота на территории Российской Федерации, причем наибольший ущерб он причиняет племенным хозяйствам. В настоящее время лейкоз рассматривается как болезнь, представляющая опасность для генофонда молочного скота, а при отсутствии планомерной борьбы имеет тенденцию к дальнейшему нарастанию [4, 1]. Заболевание приводит к преждевременной выбраковке взрослых животных, затрудняет селекционно-племенную работу, ставит под угрозу самосохранение племенных стад. Из-за ограничений по лейкозу племенные хозяйства не могут продавать ценный в генетическом отношении молодняк, снижается резистентность животных как к инфекционным, так и к неинфекционным заболеваниям [1, 4, 6, 9, 12].

Предрасполагающим фактором развития лейкоза является снижение иммунологического статуса, что связано с первичными и вторичными иммунодефицитами, их суммацией. Так, частота иммунодефицитов у крупного рогатого скота варьирует от 7 до 50% и более [8]. Вирус лейкоза крупного рогатого скота (ВЛКРС) не убивает клетку, а вынуждает ее к неограниченному размножению. Нуклеиновая кислота вируса берет на себя функции регулятора ферментного хозяйства клетки, и она начинает производить новые (вирусные) нуклеиновые кислоты и белки для новых вирусных частиц.

Исходя из этого, можно предположить, что за счет усиления резистентности организма к заражению ВЛКРС можно достичь иммуномодуляторами, укрепляя преимущественно клеточное звено иммунитета. Иммуномодуляторы способствуют повышению выработки вируснейтрализующих антител и образованию интерферона в начальной стадии вирусной инфекции (до локализации вируса в клетках). Они способны разрушать определенные рецепторы клеток, на которых могут фиксироваться вирусы, инактивировать или ослаблять в клеточной оболочке и цитоплазме действие ферментов, а они должны были освобождать вирусную нуклеиновую кислоту, способствовать инактивации материалов, необходимых для синтеза вирусов, в частности, фермента обратной транскриптазы. Это и определяет резистентность к лейкозу. Ряд исследователей [7, 10, 11, 14, 15, 16] установили положительное влияние иммуномодуляторов в повышении резистентности крупного рогатого скота к заражению вирусом лейкоза КРС.

В медицине для уничтожения трансформированных клеток при лейкозе применяется курс так называемой терапии «блоками». Такое комбинированное применение препаратов, состоящее из восьми и более их наименований, способствует долгосрочному укреплению иммунной системы и выздоровлению 95% пациентов [2, 5].

Цель исследований. Система оздоровления стад с применением только ветеринарно-санитарных мероприятий коренным образом не решает проблему ликвидации лейкоза. Возникла острая необходимость, наряду с серологическими исследованиями, усовершенствовать селекционно-генетические и иммунопрофилактические методы борьбы с лейкозом в направлении использования результатов анализа статистических данных, приемов разведения, изучения эффективности действия иммунопрофилактических препаратов для повышения резистентности КРС к вирусу лейкоза (ВЛКРС).

Материалы и методы исследований. Исследования проводились на ферме «Дубровицы» ФГУП «Кленово-Чегодаево» Московской области и в лаборатории генетики сельскохозяйственных

животных ВИЖ им. Л.К. Эрнста.

Современные оздоровительные противолейкозные мероприятия основаны на выявлении и изоляции животных, инфицированных вирусом лейкоза.

Основным надежным методом прижизненной диагностики ВЛКРС в настоящее время является серологический метод. При постановке реакции иммунодиффузии (РИД) в сыворотке крови животных выявляют специфические преципитирующие антитела к вирусу. Специфичность и чувствительность метода практически равны 100% [6]. Однако, при этом методе на ранних стадиях заболевания невозможно определение и автоматический учет результатов реакции. Достижения в области биотехнологии и иммунохимии сделали возможным применение иммуноферментного анализа (ИФА) на основе моноклональных антител для выявления уровня антител к антигену определенного вирусного белка [3].

В связи с высокой степенью инфицированности лейкозом стада фермы «Дубровицы» в 1998 году провели разделение поголовья на серонегативную и серопозитивные группы. Главное внимание уделяли изолированному выращиванию молодняка — основного звена в системе противолейкозных мероприятий. Серопозитивные коровы находились на отдельном дворе и не соприкасались с серонегативными. Телочки, родившиеся от серопозитивных коров, непосредственно после рождения отделялись от матери. Их кормление проводили свежим или свежемороженым молозивом от серонегативных коров. Телятам в первые сутки после рождения, кроме молозива, выпаивали по 50,0 мл гипериммунной сыворотки собственного производства [13]. Для повышения резистентности телят к заражению ВЛКРС с 2006 года были начаты исследования по эффективности использования иммуномодуляторов (ронколейкина, полиоксидония и миксоферона). В эксперименте всех новорожденных телочек разделили на 4 группы. Первая группа была контрольная. Во вторую и третью группы включали телочек, полученных от серопозитивных коров по 10 голов в каждой, а в четвертую от серонегативных коров — 87 голов.

В опытах на всех этапах использовали препараты, обладающие противовирусным, антибактериальным, противоопухолевыми, адаптационными, антиоксидантными, антимутагенными и иммуномодулирующим действием, ими являлись ронколейкин, полиоксидоний, миксоферон.

Так как кроме лейкоза ферма неблагополучна по респираторным заболеваниям телят, то параллельно проводились мероприятия по профилактике этих заболеваний. Диагностику инфекционных заболеваний у телят осуществляли в Республиканской ветлаборатории и лаборатории вирусологии Московской ветакадемии им. К.И. Скрябина, где была установлена этиологическая роль вирусов инфекционного ринотрахеита (ИРТ), парагриппа-3 (ПГ-3), осложненных бактериальной инфекцией — пастереллезом.

На первоначальном этапе исследований была разработана схема проведения иммунизации телят с применением иммуномодуляторов.

Схема иммунизации животных



I этап. Первая группа служила контролем и иммуномодуляторы в ней не применялись. Телкам второй группы после выпаивания гипериммунной сыворотки подкожно инъецировали по 100 000 МЕ ронколейкина; третьей также после выпаивания сыворотки вводили по 0,2 мг на 1 кг живой массы полиоксидония; а четвертой, после выпаивания сыворотки, инъецировали по 10-12 доз на голову миксоферона.

II этап. На 10-й и 20-й дни после рождения телкам всех групп подкожно вводили по 30,0 гипериммунной сыворотки. После этого телкам: II группы инъецировали по 2500 МЕ на 1 кг живой массы ронколейкина; третьей группы — по 0,2 мг на 1 кг живой массы полиоксидония; четвертой группы — по 12 – 14 доз миксоферона.

III этап. С месячного возраста всех телок с 3-недельным интервалом вакцинировали трехкратно против вирусных респираторных заболеваний. Перед каждой вакцинацией телкам каждой из групп вводили те же ранее используемые иммуномодуляторы и в тех же дозах, кроме контрольной группы.

IV этап. Через 10–14 дней после третьей вакцинации брали кровь для определения фагоцитарной активности нейтрофилов и титров противовирусных антител. С 6-месячного возраста телок исследовали серологическим методом (РИД) на лейкоз.

Результаты исследований. После разделения стада на серопозитивную и серонегативную группы произошло резкое снижение выявления серопозитивных животных, число вновь выявленных лейкозных по РИД коров не превышало 3%, таблица 1. По сравнению с серопозитивными коровами поголовье вновь выявленных серопозитивных телок ежегодно до 2005 года колебалось от 1,74 до 10,3%. Это связано с тем, что ввиду многочисленности для стада коров серопозитивной группы (44%) их продолжили осеменять с целью получения в хозяйстве приплода и продукции. Следует отметить, что от 112 серопозитивных коров лишь у 6 телок-дочерей (5,3%) установлено заражение вирусом лейкоза. Это явление свидетельствует о малой вероятности заражения телят внутриутробным путем.

Таблица 1 - Уровень инфицированности коров и телок вирусом лейкоза на ферме «Дубровицы» в 1998 – 2014 годах

Годы исследований	Исследовано образцов крови от коров, шт.	Выявлено		Исследовано образцов крови от телок, шт.	Выявлено	
		РИД-положительных, шт.	приrost по РИД, %		РИД-положительных, шт.	приrost по РИД, %
1998	381	168	44,1	86	7	8,14
1999	321	5	1,56	272	28	10,3
2000	424	11	2,59	195	15	7,7
2001	486	14	2,88	267	10	3,74
2002	502	10	1,99	238	9	3,78
2003	502	8	1,59	230	4	1,74
2004	378	6	1,59	259	19	7,33
2005	408	11	2,7	224	7	3,12
2006	385	4	1,04	218	4	1,83
2007	390	2	0,51	232	1	1,7
2008	423	—	—	236	—	—
2009	218	—	—	126	—	—
2010	226	—	—	118	—	—
2011	229	—	—	123	—	—
2012	232	—	—	119	—	—
2013	219	—	—	124	—	—
2014	223	—	—	118	—	—

Для определения наследуемости заболевания лейкозом в парах мать – дочь определены коэффициенты регрессии, рассчитанные с использованием четырехпольной корреляционной решетки, таблица 2.

Таблица 2 - Учет заболеваемости в парах «мать – дочь»

Дочери	Матери	
	больные	здоровые
больные	32 P ₁	71 P ₂
здоровые	18 P ₃	1211 P ₄

Величина P₁+P₃ отражает число больных матерей (n=50), P₂+P₄ — число здоровых матерей (n=1282), P₁+P₂ — больных дочерей (n=103), P₃+P₄ — число здоровых дочерей (n=1229). Коэффициент наследуемости оказался крайне низким $h^2 = 0,01743$, что свидетельствует о неэффективности массового отбора на устойчивость к лейкозу. Предстоит проведение более углубленной селекции по семействам, а также в направлении выведения устойчивых к данной болезни родственных групп и линий. Частотный характер распределения выбывших групп дочерей по отцам представлен в таблице 3.

Таблица 3 - Заболеваемость лейкозом коров-дочерей от разных быков-производителей голштинской породы

Заболеваемость дочерей, %	Отцы		всего, гол.	Дочери в среднем на одного быка, гол.
	число, гол.	%		
0	111	72,1	1229	11
0,1 – 1,1	20	13,1	20	1
1,2 – 2,1	8	5,2	16	2
2,2 – 3,1	7	4,5	21	3
3,2 – 4,1	2	1,3	8	4
4,2 – 5,1	3	1,9	15	5
5,2 – 8,3	3	1,9	23	8
Итого:	154	100,0	1332	9

Уровень заболеваемости коров лейкозом во все годы в среднем составил 4,1%. У более чем 70% используемых в стаде быков не выявлялось случаев заболевания у дочерей, а у 17% — больных дочерей менее 1%, т.е. заболеваемость была ниже уровня средней по данной субпопуляции.

Проведение исследований по элиминации лейкоза иммунопрофилактическими методами продолжены с 2006 года с использованием различных иммуномодуляторов, которые выступали в роли адъювантов вакцин против вирусных респираторных заболеваний. После применения иммуномодуляторов возросла вероятность успешного проведения вакцинации, так как иммунный ответ на введение вакцин в комплексе с иммуномодуляторами проявил себя ростом в 2–8 раз титра противовирусных антител по сравнению с прежними вакцинациями, когда иммуномодуляторы не использовались (таблица 4).

Таблица 4 - Титры противовирусных антител в сыворотке крови телят, установленные после иммунизации противовирусными вакцинами в комплексе с иммуномодуляторами

Группы опыта	Поголовье телят	Период	Титры противовирусных антител на введение вакцины		
			инфекционный ринотрахеит (ИРТ)	парагрипп-3 (ПГ-3)	вирусная диарея (ВД)
I — контрольная (вакцина)	10	до иммунизации	1:4 — 1:16	1:32 — 1:64	1:4 — 1:16
	10	после иммунизации	1:8 — 1:32	1:64 — 1:128	1:8 — 1:16
II — опытная (вакцина + ронколейкин)	10	до иммунизации	1:4 — 1:16	1:32 — 1:64	1:4 — 1:8
	10	после иммунизации	1:32 — 1:64	1:128 — 1:512	1:16 — 1:64
III — опытная (вакцина + полиоксидоний)	10	до иммунизации	1:4 — 1:8	1:32 — 1:64	1:4 — 1:16
	10	после иммунизации	1:16 — 1:32	1:64 — 1:128	1:8 — 1:32
IV — опытная (вакцина + миксоферон)	87	до иммунизации	1:4 — 1:8	1:16 — 1:64	1:4 — 1:8
	87	после иммунизации	1:16 — 1:32	1:128 — 1:256	1:16 — 1:32

При изучении фагоцитарной активности нейтрофилов крови телят установили, что при комплексной иммунизации фагоцитарная активность нейтрофилов крови повысилась на 21,7 – 44,3%. Более значительный результат получен после вакцинации с полиоксидонием (таблица 5).

Таблица 5 - Фагоцитарная активность нейтрофилов крови у телок при вакцинации иммуномодуляторами

Группы	Число телок	Период	Фагоцитарная активность нейтрофилов, %	Фагоцитарное число нейтрофилов	Фагоцитарный индекс нейтрофилов
I — контрольная	10	до вакцинации	35,2	1,54	5,12
	10	после вакцинации	40,6	1,98	6,24
II — вакцинация с ронколейкином	10	до вакцинации	34,6	1,51	4,98
	10	после вакцинации	56,6	2,81	6,48
III — вакцинация с полиоксидонием	10	до вакцинации	35,6	1,62	5,86
	10	после вакцинации	58,6	3,18	6,58
IV — вакцинация с миксофероном	10	до вакцинации	32,7	1,58	6,14
	10	после вакцинации	49,4	2,66	6,46

Массовая комплексная вакцинация дает возможность в короткие сроки вызвать иммунитет у большинства животных и снизить циркуляцию вирусов, в том числе и лейкоза, вплоть до их элиминации в контролируемом стаде фермы (таблица 1). Так, если в 2006 году было выявлено по РИД положительных 8 животных, то в 2007 — 6, а в 2008 и последующие годы больных лейкозом не отмечено.

Проведенные оздоровительные мероприятия против лейкоза и инфекционных заболеваний молодняка крупного рогатого скота в сочетании с селекционно-племенной работой способствовали ежегодному улучшению показателей здоровья и молочной продуктивности коров на ферме «Дубровицы». Среднесуточные приросты живой массы увеличились на 15–20%, возраст первого плодотворного осеменения снизился с 18,6 до 14,4 месяца. Это позволило сократить затраты на содержание и кормление телок, а после снятия ограничений по лейкозу проводить ежегодную племпродажу и в це-

лом повысить уровень рентабельности молочного скотоводства в хозяйстве.

Заключение. 1. У более чем 70% используемых в стаде быков-производителей не выявлялось случаев заболевания дочерей, а у 17% — больных дочерей менее 1%, т.е. заболеваемость за годы наблюдений составила в среднем 4,1%. 2. Коэффициент наследуемости заболеваемости ВЛКРС, вычисленный в парах «мать – дочь» составил $h^2 = 0,01743$, что свидетельствует о неэффективности селекции при ликвидации лейкоза. 3. Применение комплексной иммунопрофилактики в неблагополучном по вирусным респираторным заболеваниям и лейкозу стаде крупного рогатого скота голштинской породы привело к резкому снижению случаев инфекционных респираторных заболеваний у телят и полной элиминации лейкоза в стаде.

Литература. 1. Апалькин, В. А. Профилактические и оздоровительные мероприятия при лейкозе крупного рогатого скота / В. А. Апалькин, М. И. Гулюкин, Н. И. Петров // Лейкоз крупного рогатого скота. - С.-Пб.-Петролазер, 2005. - С. 4-6. 2. Акулова, О. Третья фаза. Иммуноterapia против рака / О. Акулова // Сельская жизнь. - 2014. - № 19. 3. Верховский, О. А. Лабораторная диагностика инфекционных болезней крупного рогатого скота с использованием иммуноферментного анализа (лейкоз, ящур, бруцеллез) / О. А. Верховский // Материалы семинара «Современная ветеринарная защита крупного рогатого скота от инфекционных и инвазионных болезней». - М., 2005. - С. 3-6. 4. Горбунов, А. П. Теоретические основы и практика оздоровления хозяйства от лейкоза крупного рогатого скота / А. П. Горбунов // Стратегия развития животноводства России. XXI век. Часть 2. - М., 2001. - С. 321-327. 5. Городецкий, В. Кровь станет чистой / В. Городецкий // Вестник ЗОЖ. - 2007. - №24. - С. 14. 6. Гулюкин, М. И. Разработка эффективных мероприятий против лейкоза крупного рогатого скота / М. И. Гулюкин [и др.] // Ветеринария. - 2002. - №12. - С. 3-8. 7. Дмитриев, А. Ф. Коррекция иммунного статуса в повышении эффективности диагностики лейкоза крупного рогатого скота / А. Ф. Дмитриев, Г. Г. Новосельцев, О. Ю. Черных // Ветеринария Кубани. - 2011. - № 5. - С. 19-20. 8. Животовский, Б. Д. Программируемая гибель клеток / Б. Д. Животовский // Химия и жизнь. - 2014. - № 5. - С. 8-13. 9. Иванов, О. В. Влияние вакцинации на иммунологическую реактивность и эффективность серологической диагностики лейкоза у телят / О. В. Иванов, А. Е. Верховская, О. Ю. Иванова, Ю. Н. Федоров, О. А. Верховский // Ветеринарный врач. - 2009. - № 1. - С. 23-25. 10. Ильина, Н. А. Естественный ингибирующий фактор и его взаимосвязь с иммунным статусом крупного рогатого скота : автореф. дис. ... канд. вет. наук : 16.00.03 / Н. А. Ильина. - Воронеж, 2004. - 28 с. 11. Мельникова, В. М. Эффективность оздоровительных мероприятий при лейкозе крупного рогатого скота в экологически неблагополучных хозяйствах Среднего Урала : автореф. дис. ... канд. вет. наук / В. М. Мельникова. - Екатеринбург, 2001. - 26 с. 12. Некрасов А. А. Здоровье животных - основа высокой продуктивности стада / А. А. Некрасов, Н. А. Попов, В. Т. Самохин, Н. А. Некрасова, Е. Г. Федотова // Главный зоотехник. - 2010. - № 9. - С. 51-58. 13. Некрасов, А. А. Применение иммуномодулятора ронколейкина при получении гипериммунных сывороток / А. А. Некрасов, А. Н. Моисеев, Н. А. Попов, Н. А. Некрасова, В. Н. Муравьев // Научные основы производства и обеспечения качества биологических препаратов для АПК : материалы междунар. науч.-практ. конф., 5-7 декабря 2012 г. - Шелково, 2012. - С. 219-224. 14. Никольский, В. В. Основы иммунитета животных / В. В. Никольский. - М. : Колос, 1968. - 224 с. 15. Санин, А. Иммуномодуляторы в сельском хозяйстве - дань моде или необходимость / А. Санин, А. Наровлянский, А. Пронин // Ветеринария сельскохозяйственных животных. - 2014. - № 11. - С. 6-13. 16. Смирнов, Ю. П. Сравнительная эффективность различных иммуномодулирующих препаратов в повышении резистентности крупного рогатого скота к заражению вирусом лейкоза / Ю. П. Смирнов, И. Л. Суворова // Зоотехническая наука в условиях современных вызовов : сб. статей междунар. науч.-практ. конф., посвященной 85-летию со дня рождения Л.К. Эрнста. - Киров, 2015. - С. 346-350.

Статья передана в печать 16.05.2016 г.

УДК 619:618.14-002:615.7

ИММУНОБИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ СЫВОРОТКИ КРОВИ КОРОВ-ПЕРВОТЕЛОК ПРИ ПОСЛЕРОДОВОМ ОСТРОМ ЭНДОМЕТРИТЕ И ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ВЫДЕЛЕННОЙ МИКРОФЛОРЫ К ОЗОНИРОВАННОЙ ЭМУЛЬСИИ

Николаев С.В., Конопельцев И.Г., Сапожников А.Ф.

ФГБОУ ВО «Вятская государственная сельскохозяйственная академия»,
г. Киров, Российская Федерация

Биохимические показатели сыворотки крови у коров-первотелок, заболевших послеродовым эндометритом в день отела, характеризуются нарушением белкового и минерального обмена. По истечении месяца дисбаланс между альбуминами и глобулиновой фракцией увеличивается, что связано в основном с ростом содержания γ -глобулинов. Микробный пейзаж матки животных, заболевших острым воспалением эндометрия, в основном представлен монокультурами условно-патогенных бактерий. Разработанная эмульсия, состоящая из 200 мл рыбьего жира и 800 мл гинодиксина, подвергнутая барбатируванию озон-кислородной смесью, обладает выраженными антимикробными свойствами и может быть использована в качестве этиотропного средства для лечения и профилактики воспалительных заболеваний репродуктивных органов.

Biochemical parameters of blood serum in cows, heifers developed a puerperal endometritis on the day of calving are characterized by the disturbance of protein and mineral metabolism. A month after, the im-