СРАВНЕНИЕ МЕТОДОВ ДИАГНОСТИКИ МЕТОДОВ ЛЕЙКОЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Юшкова Л. Я., Донченко Н.А., Донченко А.С.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий Российской академии наук», г. Новосибирск, Российская Федерация

Введение: С 1 сентября этого года в нашей стране вступил в силу Приказ Министерства сельского хозяйства РФ от 24 марта 2021 г. № 156 “Об утверждении Ветеринарных правил осуществления профилактических, диагностических, ограничительных и иных мероприятий, установления и отмены карантина и иных ограничений, направленных на предотвращение распространения и ликвидацию очагов лейкоза крупного рогатого скота” [9].

Материалы и методы исследований: Объектами исследований являлись эпизоотический и инфекционный процессы лейкоза крупного рогатого скота. На сегодняшний день единственным наиболее эффективным методом борьбы с лейкозом крупного рогатого скота является его ранняя диагностика, изоляция и методичная выбраковка больных животных с последующим формированием свободного от вируса лейкоза стада. Основными прижизненными методами диагностики лейкоза утверждены РИД и ИФА, также допускается проведение ПЦР для выявления вируса лейкоза крупного рогатого скота (ВЛКРС).

Результаты исследований: В новых ветеринарных правилах восприимчивые животные делятся на группы:

- большое животное – диагноз ставится на основании положительного гематологического анализа или патологических изменений;
- инфицированное животное – положительный РИД-тест;
- здоровое животное – отрицательные РИД - и гематологический анализ.

В правилах появилось понятие «резервация» – это территория, предназначенная для содержания инфицированного восприимчивого скота в условиях, исключающих их контакт с другими восприимчивыми животными. «Из резервации животное может уходить на убой, обратно в хозяйство оно выйти не может. Если животное инфицировано, в резервации оно содержится до окончания его хозяйственного использования. Следует обратить внимание на процент заболеваемости: если в хозяйстве суммарное количество больных и инфицированных восприимчивых животных составляет до 5% от общего количества восприимчивых животных, то больные и инфицированные животные направляются на убой. Если больше 5%, то в резервацию [1].

Также в эпизоотическом очаге запрещено использование больных, инфицированных восприимчивых животных и полученного от них

приплода для воспроизводства стада. Оздоровление стад от лейкоза проводится методом систематических серологических исследований и сдачей реагирующего скота вместе с приплодом на убой в течение 7 дней. Инфицированные быки-производители подлежат немедленному убою, при этом полученные от них за последние 6 месяцев запасы спермы уничтожаются. Иммунологические и иммунохимические методы выявления инфицированных животных нашли широкое применение почти во всех странах мира и позволили полностью искоренить лейкоз в ряде стран Западной Европы. В настоящее время во многих странах мира в качестве основного серологического теста в диагностике лейкоза крупного рогатого скота принята реакция иммунодиффузии в геле агара (РИД). Она проста в постановке и доступна для серозепизоотологических исследований, осуществляемых в полевых условиях. Согласно стандартам МЭБ (154 стран, OIE. World Organization for Animal Health, 2013) узаконенными методами диагностики лейкоза крупного рогатого скота в мире являются реакция иммунодиффузии в геле агара (РИД) и метод иммуноферментного анализа (ИФА). Хотя РИД и остается одним из главных диагностических методов, иммуноферментные методы анализа широко используются в государственных программах по борьбе с лейкозом крупного рогатого скота во многих странах Америки и Западной Европы. Практическая и диагностическая эффективность ИФА нашло широкое освещение в литературе [3-6]. Метод ИФА обладает рядом значительных преимуществ: высокая чувствительность и специфичность, возможность автоматизации процесса и сокращения времени анализа. Сравнительный анализ результатов исследований методом РИД и ИФА показывает, что последнего можно большей эффективностью применять в диагностике лейкоза крупного рогатого скота. Чувствительность ИФА в диагностике лейкоза крупного рогатого скота, по результатам испытаний в лабораториях Германии составила 97,6%, что в 4 раза выше РИД, а специфичность - 98,1%. Метод иммуноферментного анализа позволяет обнаружить антитела в титрах в 10-100 раз меньших, чем выявляет РИД. Более того, методом иммуноферментного анализа положительно реагирующие пробы выявляются на 30-45 дней раньше с момента заражения, чем в РИД. С помощью метода ИФА возможно массовое обследование стад и постановка окончательного диагноза у конкретного животного. Гематологический метод позволяет диагностировать лейкоз на более ранних стадиях развития заболевания [2, 5].

В соответствии с новыми Правилам по профилактике и борьбе с лейкозом (2000) животные, у которых с помощью «лейкозного ключа» установлено подозрение на лимфоидный лейкоз, подвергаются повторным гематологическим анализам через 2 месяца. Если при повторном гематологическом исследовании результаты оказываются отрицательными, то животные считаются клинически здоровыми.

В настоящее время в систему диагностических мероприятий лейкоза крупного рогатого скота все больше внедряются технологии, связанные с

применением полимеразной цепной реакции (ПЦР) [6]. Метод ПЦР обладает высокой чувствительностью и специфичностью. С помощью данного метода можно обнаружить провирусную ДНК в исследуемом материале уже через 1-2 недели после заражения. Также, этот метод применим для диагностики лейкоза у молодняка старше 15 дневного возраста. Следовательно, ПЦР позволяет с высокой достоверностью выявлять инфицированных вирусом лейкоза крупного рогатого скота (ВЛКРС) животных на самых ранних стадиях заболевания. Все эти данные, указывающие на преимущества ПЦР, в сравнении с серологическими методами, характеризуют её как эффективного метода в диагностике лейкоза крупного рогатого скота.

В настоящее время выпускаются специальные тест-системы ПЦР для диагностики лейкоза крупного рогатого скота. Однако предложенные наборы для ПЦР не являются универсальными. Они различаются праймерами, компоновкой реагентами, системой подготовки исследуемого материала. Кроме того, метод требует высокой квалификации исполнителя и правильного выбора праймера. Методы иммунохимического анализа являются наиболее существенными в разработке экспресс-тестов для диагностики инфекционных болезней. Из этого перечня используются различные технологии, среди которых важную роль играют модифицированные методы ИФА, которые в представительном арсенале методов, используемых в вирусологии, занимают особое место.

Наиболее многообещающими являются методы ИФА разной модификации. Есть мнение эксперта [7], что новые ветеринарные правила по борьбе с лейкозом могут стать настоящим рывком в борьбе с этой инфекцией, ранее заявила в интервью «Ветеринарии и жизни» доктор биологических наук, профессор Ирина Донник, вице-президент Российской академии наук. «Лейкоз сегодня занимает первое место среди всех инфекционных заболеваний крупного рогатого скота молочных пород» [1, 3, 4, 8]. Она также сообщила об исследованиях, посвященных опасности лейкоза крупного рогатого скота для человека, которые проведены в последние пять лет. «Появилось достаточное количество статей, в том числе зарубежных, о том, что выявляют геном возбудителя лейкоза животных в новообразованиях, удаленных с онкологией находили геном бычьего лейкоза. Заболевали лейкозом и шимпанзе».

Применение метода оздоровления, включающего двукратную серологическую диагностику, позволяет полностью оздоровить поголовье в короткие сроки, в течение 5-7 лет. Однократное серологическое исследование с последующим удалением всех реагирующих в РИД животных удлинит сроки оздоровления примерно в 2 раза, но является наиболее приемлемым для большинства хозяйств [5]. Так же есть разъяснения Россельхознадзора положения Решения о регионализации по лейкозу КРС.

Любому региону Российской Федерации может быть присвоен один из трех статусов по лейкозу КРС: «Неблагополучный», «Неопределенный»

или «Благополучный». Статус зависит от наличия заболевания в данном регионе. При этом особо подчеркиваем, что ограничения на перевозку молока и молочных продуктов возможны только в том случае, если вывоз происходит из неблагополучных по лейкозу хозяйств. Никаких ограничений на перевозку между регионами пастеризованного (ультрапастеризованного) молока или продукции из такого молока не установлено: эти продукты отнесены к перечню безопасных по лейкозу КРС товаров.

При перемещении сырого молока, сырых сливок из **благополучного региона** должно соблюдаться единственное условие: дойные животные должны содержаться в благополучном регионе не менее 12 месяцев.

При перемещении сырого молока, сырых сливок из **региона с неопределенным статусом** должны соблюдаться следующие условия: дойные животные должны содержаться в благополучном хозяйстве, где должным образом производятся обязательные диагностические исследования животных минимум в течение 6 месяцев; предприятие, на котором выработаны подконтрольные товары, должно быть благополучно по лейкозу. Напомним, что регион лишь тогда может получить неопределенный статус, когда на его территории нет неблагополучных хозяйств.

При перемещении сырого молока, сырых сливок из **неблагополучного региона** также необходимо соблюдать одно или два из вышеуказанных условий или специальное следующее требование:- из неблагополучных хозяйств молоко может поставляться в другой регион только непосредственно на молокоперерабатывающее предприятие, и только если оно получено от животных, в отношении которых были проведены плановые исследования на лейкоз, и они являются по их результатам не инфицированными.

Таким образом, согласно документу, существуют только два реально действующих обоснованных ограничений:

1. Запрет на поставку в соседний регион свежего молока от инфицированных животных.

2. Поставка свежего молока из неблагополучных хозяйств в соседние регионы может осуществляться только на молокоперерабатывающие заводы для последующей переработки, включающей пастеризацию (инактивацию вируса лейкоза КРС). Данное ограничение связано с тем, что в неблагополучном хозяйстве всегда присутствует риск того, что животное будет незараженным при предыдущем туре обязательных диагностических исследований, но заразится до следующего их тура.

Заключение: В мире молочное скотоводство является ведущей отраслью животноводства. Она обеспечивает рабочими местами около 1 млрд. человек. Лейкоз крупного рогатого скота наносит значительный экономический ущерб сельскохозяйственным предприятиям в связи со снижением продуктивности зараженных животных, их выбраковкой, ограничением срока хозяйственного использования, а также с затратами на

проведение противолейкозных мероприятий, пастеризацию молока (непастеризованное молоко от зараженных животных запрещено использовать в питании людей). Больные животные более восприимчивы к инфекционным и незаразным заболеваниям. При этом увеличивается яловость, снижается выход телят, наблюдаются аборт. Телята от таких коров чаще страдают расстройством пищеварения и нарушением органов дыхания [9]. Основными прижизненными методами диагностики лейкоза утверждены РИД и ИФА, также допускается проведение ПЦР для выявления вируса.

Литература. 1. Приказ Министерства сельского хозяйства РФ от 24 марта 2021 г. № 156 “Об утверждении Ветеринарных правил осуществления профилактических, диагностических, ограничительных и иных мероприятий, установления и отмены карантина и иных ограничений, направленных на предотвращение распространения и ликвидацию очагов лейкоза крупного рогатого скота”. 2. Анализ научных и нормативно - технических документов по профилактике и борьбе с лейкозом//[соавт.] Донченко Н.А.[и др.]; Научный журнал Институт развития сельского хозяйства Федеральный научно - практический « Эффективное животноводство» спецвыпуск - «Ветеринария», « Эффективное животноводство» № 3 март 2021.С.54-57. 3. История формирования результатов научных исследований по лейкозу крупного рогатого скота //[соавт.] Амироков М.А.// Институт развития сельского хозяйства Федеральный научно - практический журнал « Эффективное животноводство» № июнь 2022.С.56-59. 4. Интервью «Ветеринарии и жизни» доктор биологических наук, профессор Ирина Донник, вице-президент Российской академии наук. «Лейкоз сегодня занимает первое место среди всех инфекционных заболеваний крупного рогатого скота молочных пород». 5. Donnik, I.M. Molecular-genetic and immunobiochemical markers in assessing the health of agricultural animals / I.M. Donnik, I.A. Shkuratova // Herald of the Russian Academy of Sciences. 2017. Т. 87. № 2. С. 139-142. 6. Зависимость резистентности животных к вирусу лейкоза крупного рогатого скота от породной и генетической предрасположенности/ /[соавт.] Донченко Н.А. .[и др.];// Институт развития сельского хозяйства Федеральный научно - практический журнал. 7. Эффективное животноводство» спецвыпуск - «Молочное и мясное скотоводство» № 1-2 2022.С.32-35. 8. Изучить организованные и специальные ветеринарные мероприятия проводимые по профилактике и оздоровлению хозяйств от лейкоза крупного рогатого скота, в Российской Федерации, Таможенном Союзе и Европейском союзе/ Отчёт НИР 2022г. Россия, ФГБНУ СФНЦА РАН (ИЭВСиДВ) Ин-т эксперим. ветеринарии Сибири и Дальнего Востока. - Краснообск [Новосиб. обл.], 2022- 25с. 9. Амироков, М.А. Комплексная система оздоровления и профилактики лейкоза крупного рогатого скота в Новосибирской области (теоретические и практические аспекты) / М.А. Амироков, В.В. Храмов // Научные основы и лечения болезней животных: Сб. науч. трудов. – Екатеринбург, 2005 – С. 10-16. 10. Гулюкин М.И. Аналитический обзор эпизоотической ситуации по лейкозу крупного рогатого скота в Российской Федерации (1996-2010)/ М.И. Гулюкин и др.// Москва, 2011.,2015.-46 с.