

БИОЛОГИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ СОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ ВЕТЕРИНАРНЫХ ПРАВИЛ ПО БОРЬБЕ С ЛЕЙКОЗОМ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Е.С. Красникова, Р.В. Радионов, А.С. Белякова
Саратовский государственный аграрный университет
им. Н.И. Вавилова.
Россия, 410600, г. Саратов, Театральная пл., 1

BIOLOGICAL SUBSTANTIATION OF IMPROVEMENT OF VETERINAR RULES ON FIGHTING WITH LEUKOSIS OF LARGE CATTLE

E.S. Krasnikov, RV Radionov, A.S. Belyakova

Аннотация

В статье приведены экспериментальные данные по пероральному инфицированию лабораторных крыс вирусом лейкоза крупного рогатого скота по средствам выкармливания им молока инфицированных и больных лейкозом коров. Показано, что методом ПЦР провирус BLV детектируется у крыс уже через 3 месяца с начала эксперимента. У зараженных экспериментальных животных обнаруживается нарушение репродуктивной функции, отмечаются специфические патологоанатомические признаки и цитологические изменения в селезенке. Результаты данного эксперимента послужили биологическим аспектом комплексного обоснования необходимости совершенствования Ветеринарных Правил по борьбе с лейкозом крупного рогатого скота. Разработанные Ветеринарные Правила осуществления профилактических, диагностических, ограничительных и иных мероприятий, направленных на предотвращение распространения лейкоза крупного рогатого скота, приняты Департаментом ветеринарии Минсельхоза РФ (2017).

Ключевые слова: лейкоз КРС, ветеринарные правила

Abstract

The article presents experimental data on oral infection of laboratory rats with leukemia virus of bovine animals by means of feeding them milk of infected and leukemic cows. It is shown that BLV is detected in rats by the PCR method after 3 months from the beginning of the experiment. Infected experimental animals show a violation of reproductive function, specific pathological signs and cytological changes in the spleen are noted. The results of this experiment served as a biological aspect of the complex rationale for the need to improve the Veterinary Rules for the control of leukemia of cattle. The developed Veterinary Rules for the implementation of preventive, diagnostic, restrictive and other measures aimed at preventing the spread of leukemia of cattle have been adopted by the Veterinary Department of the Ministry of Agriculture of the Russian Federation (2017).

Key words: cattle leukemia, veterinary rules

Энзоотический лейкоз крупного рогатого скота (ЭЛ КРС) вот уже не одно десятилетие стablyно занимает лидирующие позиции по распространению в мире и величине наносимого им экономического ущерба для животноводческой

1. Красникова Е.С., Радионов Р.В., Белякова А.С.
Биологическое обоснование совершенствования ветеринарных правил
по борьбе с лейкозом крупного рогатого скота

отрасли [1, 2]. Связано это, в первую очередь, с тем, что ЭЛ КРС относится к инфекциям, не поддающимся терапии и специфической профилактике. Следовательно, основу борьбы с заболеванием составляет комплекс диагностических и ограничительных мероприятий [3].

Возбудителем заболевания является РНК-содержащий вирус семейства *Retroviridae*, паразитирующий в клетках иммунной системы, преимущественно в В-лимфоцитах. Представители этого семейства имеют уникальную биологическую особенность, отличающую их от остальных вирусов – интегративный тип взаимодействия с клеткой. Вирус, однажды инфицировав клетку, становится неотъемлемой частью организма и может долгие годы не проявлять свой патогенный потенциал, делая носителя вируса скрытым источником инфекции. Лишь у 30% животных развиваются клинические признаки заболевания [4].

Другой важной биологической особенностью заболевания является тенденция к поликлональной пролиферации инфицированных лимфоцитов и длительной их персистенции в организме при отсутствии репликации и выраженной иммунной реакции. В связи с этим, серологические методы диагностики не всегда дают адекватный результат. Поэтому молекулярно-генетические методы диагностики, такие как полимеразная цепная реакция (ПЦР), являются предпочтительными при проведении диагностических исследований на ЭЛ КРС [5, 6].

В нашей стране молоко клинически больных лейкозом коров запрещено в пищу человеку, а для питания детей не допускается и молоко *BLV*-инфицированных коров. Вопрос безопасности для человека молока, инфицированных вирусом лейкоза коров, является спорным. Ряд авторов констатируют, что *Bovine immunodeficiency virus* может интегрироваться с хромосомой лимфоцитов человека [7, 8].

Интеграция вируса с хромосомой приводит к изменениям генетического материала клетки, а токсичные вирусные белки нарушают внутриклеточные биологические процессы. Следствием этого являются нарушение естественной резистентности у *BLV*-инфицированных животных, развитие у них различных клинических осложнений и снижение эффективности вакцинаций [9, 10].

В связи с этим, целью наших исследований стало биологическое обоснование необходимости совершенствования Ветеринарных Правил по борьбе с лейкозом крупного рогатого скота и внедрение усовершенствованных Правил в ветеринарную практику.

В соответствии с целью, нами был определен ряд задач:

1. Выяснить возможность интеграции провируса *BLV* с хромосомой лимфоцитов крови крыс.

2. Оценить характер патоморфологических и цитологических изменений, развивающихся у крыс с *BLV*-инфекцией.

3. Усовершенствовать Правила по борьбе с лейкозом КРС.

4. Внедрить усовершенствованные Правила в ветеринарную практику.

Материалом для исследования послужили белые лабораторные крысы 5-6-месячного возраста, породы Вистар (n 30). Крысы были разделены на 3 равные

группы из расчета 2-3 самки на 1 самца. Крысы содержались в идентичных условиях на полноценном рационе и ежедневно получали вволю свежее сырое коровье молоко. Первой группе (I) крыс скармливали молоко интактных коров, второй (II) – молоко *BLV*-инфицированных коров и третьей (III) – молоко клинически больных лейкозом коров. Потомство, полученное от крыс, содержалось совместно с родителями и имело свободный доступ к коровьему молоку. Спустя 3 и 6 месяцев был произведен контрольный убой, как родительских особей, так и первой генерации экспериментальных животных. Все эти животные были подвергнуты вскрытию. Наличие провируса *BLV* в крови крыс устанавливали методом классической ПЦР с применением наборов ЛЕЙКОЗ (ИнтерЛабСервис, Россия), амплификацию и учет результатов осуществляли на оборудовании T100 и GelDoc XP PLUS (BioRad, USA). Цитологические изменения в селезенке детектировали путем световой микроскопии мазко-отпечатков, окрашенных с использованием набора Лейкодиф 200 (Erba Lachema, Чехия).

Наблюдение за экспериментальными животными не показало явных отклонений в поведении или клиническом состоянии экспериментальных животных. Однако можно констатировать факт нарушения репродуктивной функции у крыс, поедавших молоко инфицированных и больных лейкозом коров. Потомство у самок из этих групп начало появляться значительно позже, чем у крыс, которым скармливали молоко интактных коров. В частности, в III группе крысята появились более чем на 3 месяца позже, чем в I группе.

При исследовании крови подвергнутых эвтаназии крыс было установлено, что через 3 и 6 месяцев скармливания им молока инфицированных и больных лейкозом коров, вирус интегрировался в хромосомы клеток их крови. При этом провирусная ДНК была не была детектирована у месячных крысят первой генерации, полученных от крыс II группы при первом убое. Это свидетельствует о выраженному протективном эффекте клостральных антител. Однако, через 3 месяца у животных этой генерации вирус уже присутствовал в крови.

При вскрытии, наиболее выраженные патоморфологические изменения у крыс, поедавших молоко инфицированных и больных лейкозом коров, были выявлены при втором убое, как у родительских особей, так и у потомства. Изменения отмечали у 30% экспериментальных животных II и III групп. У крыс обнаруживали беловатые крупинчатые образования на различных участках кишечника, а также жировую дистрофию и увеличение печени.

Цитологические исследования показали наличие в мазках-отпечатках из селезенки крыс II и III групп присутствие не характерных для ткани животных I группы клеточных элементов: на фоне клеток воспаления были обнаружены атипичные клетки эпителиального и мезенхимального происхождения с высоким ядерно-цитоплазматическим отношением, располагающихся как разрозненно, так и в виде скоплений.

1. Красникова Е.С., Радионов Р.В., Белякова А.С.
Биологическое обоснование совершенствования ветеринарных правил по борьбе с лейкозом крупного рогатого скота

Результаты данного эксперимента послужили биологическим аспектом комплексного обоснования необходимости совершенствования Ветеринарных Правил по борьбе с лейкозом крупного рогатого скота.

Переработанные и расширенные Ветеринарные Правила были дополнены современными сведениями о путях распространения возбудителя и патогенетических особенностях заболевания. На основании чего была разработана и предложена принципиально новая схема профилактических и противоэпизоотических мероприятий, направленная на раннюю высокоспецифичную диагностику инфекции с применением современных методов (ИФА и ПЦР), а также максимальную сохранность поголовья скота и получаемой от животных продукции. В частности, жестко регламентированы условия ввоза, идентификации и разделения животных, подробно расписаны обязанности ветеринарных специалистов хозяйств с разной численностью поголовья скота, в том числе при выявлении инфицированных и больных животных. Введен ряд ограничений для достижения максимальной диагностической ценности серологических методов исследования. Предложена научно обоснованная методика разделения животных на группы для воспроизводства стада и откорма с целью повышения экономической эффективности проводимых мероприятий.

Разработка правил выполнялась в рамках Тематического плана-задания Минсельхоза России от 17.03.2016 года. Усовершенствованные Правила позволяют максимально эффективно профилактировать возникновение лейкоза крупного рогатого скота на благополучных территориях, а также достоверно выявлять и в короткие сроки ликвидировать очаги инфекции.

Разработанные «Ветеринарные Правила осуществления профилактических, диагностических, ограничительных и иных мероприятий, направленных на предотвращение распространения лейкоза крупного рогатого скота» одобрены управлением ветеринарии Правительства Саратовской области и приняты Департаментом ветеринарии Министерства сельского хозяйства Российской Федерации на заседании секции аграрного образования и сельскохозяйственного консультирования НТС Минсельхоза России (протокол № 3 от 15 февраля 2017 года).

Список литературы

1. Suh GH, Lee JC, Lee CY, Hur TY, Son DS, Ahn BS, Kim NC, Lee CG. Establishment of a bovine leukemia virus-free dairy herd in Korea. J Vet Sci. 2005;6:227-230.
2. Дмитриев, А.Ф. Система мероприятий по получению потомства свободного от вируса лейкоза крупного рогатого скота / А.Ф. Дмитриев, В.В. Соловьев // Актуальные проблемы инвазионной, инфекционной и незаразной патологии животных: мат. Междунар. науч.-практич. конф. – Ставрополь, 2003. С. – 186-188.
3. Лейкоз крупного рогатого скота в курганской области, анализ ситуации и причины распространения / И.М. Донник, А.Т. Татарчук, Л.В. Халтурина и др. // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2015. - № 2. – С. 39-42.
4. Супотницкий, М.В. Эволюционная патология. К вопросу о месте ВИЧ-инфекции и ВИЧ/СПИД-пандемии среди других инфекционных, эпидемических и пандемических процессов / М.В. Супотницкий. – М., 2009. – 400 с.

5. Красникова, Е.С. Диагностическая оценка серологического и молекулярногенетического методов лабораторных исследований на ретровирусные инфекции крупного рогатого скота / Е.С. Красникова, В.А. Агольцов, П.С. Мелкина // Ветеринарная патология. – 2013. – вып. 45, №3. – С. 23-29.
6. Фанзов, Т.Х. Разработка тест-системы для обнаружения участка гена TAX провирусной ДНК лейкоза КРС / Т.Х. Фанзов, К.В. Усольцев // От теории к практике: вопросы современной ветеринарии, биотехнологии и медицинских мат. Междунар. науч.-практич. конф. –Саратов, 2011. –С. 332-335.
7. Buehring GC, Philpott SM, Choi KY. Humans have antibodies reactive with *Bovine leukemia virus*. AIDS Res Hum Retroviruses. 2003 Dec;19 (12):1105-13.
8. Климов, Е.А. К вопросу о возможности заражения человека вирусом лейкоза крупного рогатого скота /Е.А. Климов, Г.Ю. Косовский // Ветеринарная медицина. – 2012. - №2. – С. 9-11.
9. Смирнов П.Н., Гарматарова Т.В. Показатели естественной резистентности у инфицированных *BLV* и интактных к вирусу телок слuchного возраста // Вестник Новосибирского государственного аграрного университета. 2014. № 4 (33). С. 146-149.
10. Tan MT, Yildirim Y, Erol N, Gungor AB. The seroprevalence of bovine herpes virus type 1 (BHV-1) and bovine leukemia virus (*BLV*) in selected dairy cattle herds in Aydin province, Turkey. Turk J Vet Anim Sci. 2006;30:353–357.