

В соскобах и мазках-отпечатках выявлены в основном мерозоиты и встречались микроцисты. Мерозоиты были разной формы и размеров. Одни были крупные, овальной и бобовидной формы, мало изогнутые, светло-окрашенные.

В результате заражения щенят и котят цисты саркоспоридий были выявлены только у щенят. Спорулариванные ооцисты и спороцисты появились у собак на 11-й день после заражения.

При исследовании кормов, подстилки, почвы, инвентаря и т.д. на овцефермах Нахчыванской АР саркоспоридии не найдены. Следует отметить, что у овец в условиях Нахчыванской АР саркоспоридии широко распространены, особенно в пищеводе, скелетной и поперечно-полосатой мускулатуре зараженных животных. Окончательным хозяином саркоспоридий являлись собаки. Наиболее высокая интенсивность инвазии у овец Нахчыванской АР встречается в конце зимы, начале весны и осенью. Наиболее интенсивно и с большим процентом были инвазированы туши средней упитанности.

По нашему мнению и мнению большинства исследователей, на интенсивность инвазии большее влияние оказывают плохие условия содержания, недоброкачественное кормление, неблагоприятные климатические условия, хронические болезни и другие причины, ослабляющие защитные функции организма.

Пути заражения животных саркоцистами в естественных условиях точно не выяснены. Очевидно, хищные животные и всеядные могут заражаться при поедании мяса, инва-

зированного саркоцистами. Источником заражения травоядных животных считаются корма и вода, загрязненные испражнениями больных животных, что было подтверждено в опытах по скармливанию ягнят овечьими фекалиями, содержащими саркоцисты.

Библиографический список

1. Miescher F. Über eigentümliche Schläuche in den Muskeln einer Haumaus. Veth. Natur Ges. Basei, 1843, p. 198-203.
2. Бейер Т.В. Клеточная биология спорозоитов – возбудителей протозойных болезней животных и человека. – Л.: Наука, 1989. – 184 с.
3. Загороднов М.В. Болезни овец и коз. – М.: Колос, 1973. – С. 311-315.
4. Мусаев М.А., Суркова А.М., Гаибова Г.Д., Исазаде Д.М. Саркоспоридии овец северо-восточного Азербайджана // Известия Академии наук Азербайджанской ССР, серия биологических наук, 1985. – № 2. – С. 31-36.
5. Вершинин И.И. Саркоспоридин и спорозоиты животных и человека // Токсоплазмозы. – Л.: Наука, 1979. – С. 24-37.
6. Колесников Н.М. Саркоспоридиоз в Азербайджане // Патологоанатомические изменения сердца при этом заболевании: тр. Ин-та микробиологии и эпидемиологии. – Баку, 1935. – Т. 5. – С. 63-78.
7. Мусаев М.А., Суркова А.М., Гаибова Г.Д. К вопросу встречаемости спорозоитов у мелкого и крупного рогатого скота в Азербайджане // Матер. третьей Закавказской конф. по общей паразитологии. – Баку: Элм, 1981. – С. 21.



УДК 616-07.616.9.619

**В.А. Агольцов,
Е.С. Красникова,
А.А. Щербаков,
П.С. Мелкина,
Е.А. Горельникова,
Н.А. Дружаева**

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА СЕРОЛОГИЧЕСКОГО И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО МЕТОДОВ ЛАБОРАТОРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ НА ЛЕЙКОЗ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Ключевые слова: лейкоз, крупный рогатый скот, полимеразная цепная реакция, кровь, молоко, сыворотка крови, реакция

иммунодиффузии, гематологические исследования, эпизоотология, диагностика.

Введение

Лейкоз крупного рогатого скота широко распространен во многих странах мира. Наиболее часто он встречается в США, в ряде стран Центральной Европы, Дании, Швеции и странах Ближнего Востока. Лейкоз крупного рогатого скота диагностируют также в странах Африки и Австралии. В нашей стране в последние годы эта проблема также обострилась. С 1997 г. в Российской Федерации эта болезнь прочно занимает первое место в структуре инфекционной патологии. Наивысший уровень инфицированности вирусом лейкоза крупного рогатого скота зарегистрирован в Краснодарском крае, Тюменской, Самарской, Псковской, Новгородской, Владимирской и Ростовской областях и Республике Марий-Эл. Неблагополучна по лейкозу и Саратовская область. Установлено, что стадный прирост уровня инфицированных животных составляет в среднем 2,5% в год [1-3].

Вирус лейкоза может передаваться пренатально и постнатально. Пренатальная (внутриутробная) передача ВЛ КРС не превышает 10%. Вирус передается с инфицированными лимфоцитами. Экспериментально установлено, что для заражения достаточно 0,5 мкл крови. При несоблюдении санитарных правил болезнь может распространиться ятрогенным путем [2].

Вирус лейкоза крупного рогатого скота (ВЛКРС) может существовать в двух формах: геномной одноцепочечной РНК или в виде ДНК, синтезированной на геномной РНК как на матрице, и интегрированной в хромосому клетки-хозяина в виде провируса [2-6].

Первичный диагноз на лейкоз крупного рогатого скота в хозяйстве ставят на основании эпизоотологических, серологических, клинико-гематологических и патологоанатомических данных [1-3].

В последние годы ряд исследователей для диагностики лейкоза крупного рогатого скота предлагают полимеразную цепную реакцию (ПЦР). Молекулярно-генетический метод позволяет выявить практически всех инфицированных ВЛ КРС животных и определить непосредственно вирус или прови-

рус. ПЦР обладает рядом преимуществ: чувствительность от 1 фрагмента нуклеиновой кислоты в образце, специфичность до 100%, быстрота проведения и возможность полной автоматизации, универсальность, возможность количественного учета и выявления инфекции на ранних сроках (первые дни жизни) [3-6].

Цель наших исследований – проведение сравнительной диагностической оценки серологического и молекулярно-генетического методов лабораторных исследований при диагностике лейкоза КРС, а также выяснение эпизоотической обстановки по лейкозу крупного рогатого скота в Саратовской области.

Объекты и методы

Материалом для исследования методом ПЦР явились 271 проба крови и 271 проба молока, от коров, принадлежащих ООО «Ягоднопольское» Татищевского района. Для сравнительного анализа и эпизоотологической оценки были использованы статистические данные Управления ветеринарии Правительства Саратовской области, ФГБУ «Саратовская межобластная ветеринарная лаборатория Референтного центра» и ОГУ «Татищевская районная ветеринарная лаборатория СББЖ» Саратовской области.

Выявление провируса лейкоза в молоке и крови осуществляли методом ПЦР с использованием набора «Лейкоз» производства «ИнтерЛабСервис» (Москва). Выделение нуклеиновых кислот провируса осуществляли методом нуклеосорбции на силикогеле как наиболее эффективном для исследования данного биоматериала [6]. Амплификацию проводили в термоциклере «Ампли-4» фирмы «Биоком» (Москва). Детекцию продуктов амплификации осуществляли методом горизонтального гельэлектрофореза на оборудовании производства фирмы «Биоком».

Результаты и их обсуждение

Данные по уровню инфицированности и заболеваемости крупного рогатого скота лейкозом по Саратовской области за 2010 г. отражены в таблице и на рисунке 1.

Таблица

Результаты серологических исследований животных на лейкоз крупного рогатого скота

Территориальное образование	Исследовано животных			РИД + (%)		
	всего	част. сект.	общ. сект.	всего	част. сект.	общ. сект.
г. Саратов	306	271	35	5 (1,6)	5 (1,8)	- (0)
Саратовский р-н	2899	2713	186	102 (3,5)	96 (3,5)	6 (3,2)
Татищевский р-н	9620	3555	6065	493 (5,1)	129 (3,6)	364 (6)
Другие р-ны Саратовской области	705	72	633	50 (7,1)	24 (33,3)	26 (4,1)
Итого	3910	3056	854	157 (4,0)	125 (4,1)	32 (3,7)

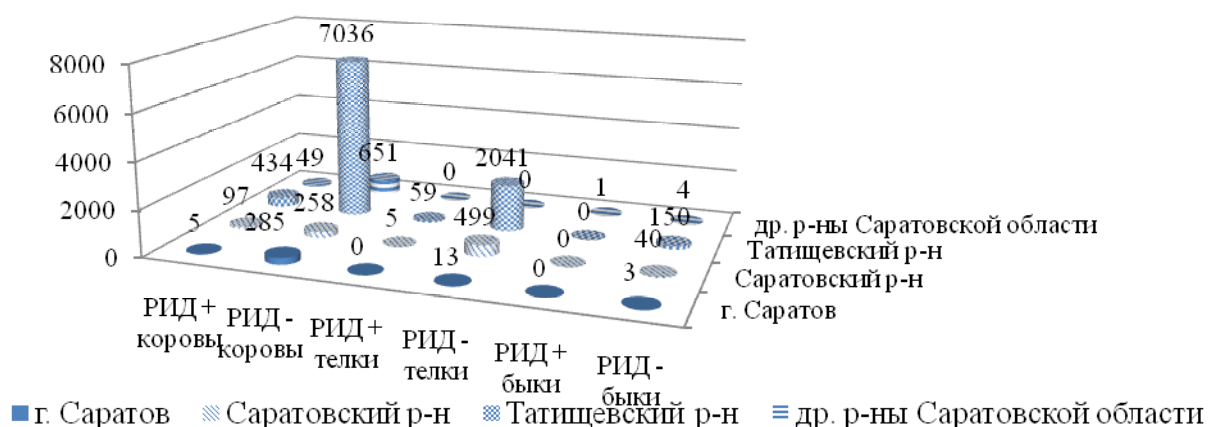


Рис. Результаты серологических исследований на лейкоз крупного рогатого скота по половозрастным группам

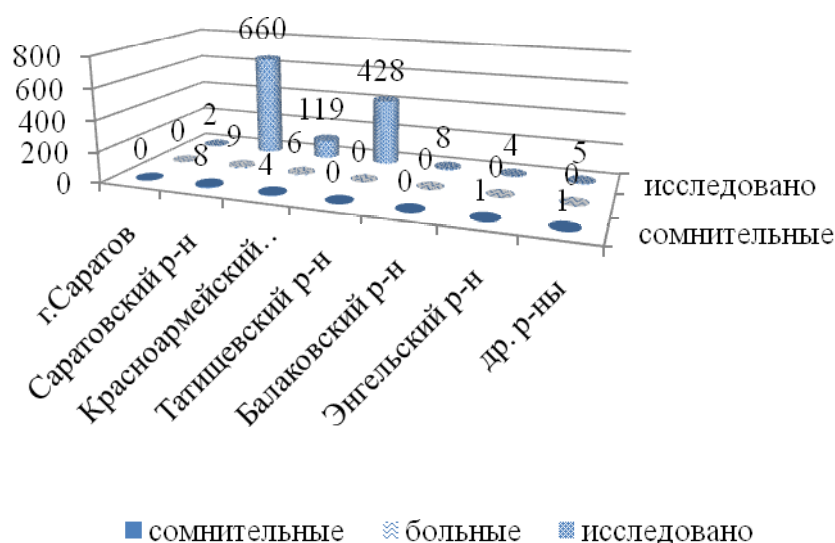


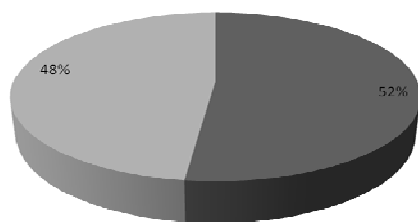
Рис. 2. Результаты гематологических исследований крупного рогатого скота

Результаты серологических и гематологических исследований, отраженные на рисунках 1-2 и в таблице, свидетельствуют, что уровень инфицированности лейкозом крупного рогатого скота в различных районах Саратовской области варьирует. Наименьшие показатели отмечаются в г. Саратове (1,6%) и Саратовском районе (3,5%), максимальный уровень наблюдается по частному сектору Саратовской области (33,3%), где также выявляется наибольшее количество больных (9 гол.) и подозрительных в заболевании (8 гол.) животных (по результатам гематологических исследований).

Для сравнительной оценки эффективности РИД и ПЦР при диагностике лейкоза КРС параллельно был исследован биоматериал (кровь и молоко) от 271 головы крупного рогатого скота методами ПЦР и РИД. ВРИД с сывороткой крови от этих животных, по данным ОГУ «Татищевская районная ветеринарная лаборатория СББЖ» Саратовской области, положительные результаты (нали-

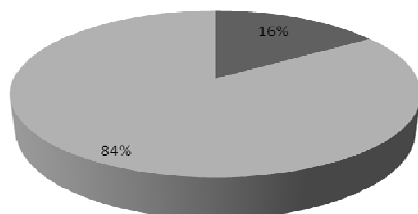
чие противолейкозных антител) были отмечены в 43 пробах. При использовании ПЦР, наличие провирусной ДНК вируса лейкоза КРС было выявлено у 141 животного. ДНК вируса лейкоза КРС обнаруживалась как в цельной крови, так и в сыворотке, а также в ресуспензированном с забуференным физиологическим раствором кровяном сгустке и в цельном молоке от больных животных (рисунки 3-6). Результаты исследования методом РИД были подтверждены в ПЦР. Кроме того, при помощи ПЦР было дополнительно выявлено 88 инфицированных ВЛ КРС животных. Сравнительные результаты исследований серологическим и молекулярно-генетическим методами представлены на рисунках 3-4.

Как показано на рисунках 3 и 4, ПЦР позволила выявить на 36% больше инфицированных животных, чем РИД. Таким образом, при проведении параллельных исследований эффективность молекулярно-генетического метода оказалась в 1,63 раз выше, чем серологического.



■ ПЦР+ ■ ПЦР-

Рис. 3. Результаты исследований на наличие ВЛ КРС методом ПЦР



■ РИД+ ■ РИД-

Рис. 4. Результаты исследований на наличие ВЛ КРС методом РИД

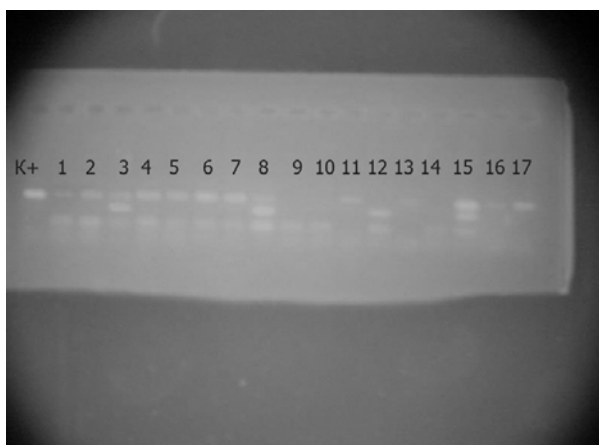


Рис. 5. Исследование крови КРС на лейкоз методом ПЦР (фотография геля).

Примечание. К+ — положительный контроль; пробы 1-8, 11, 13, 15, 16, 17 — положительные; пробы 9, 10, 12, 14 — отрицательные

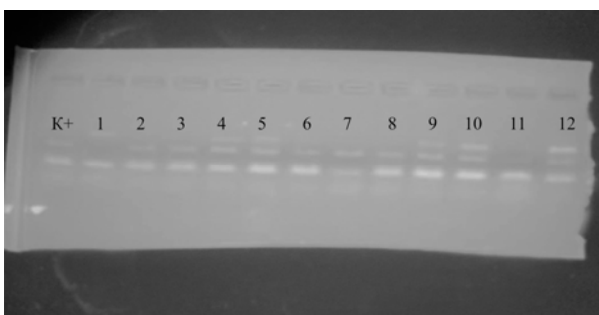


Рис. 6. Исследование молока от больных животных методом ПЦР на наличие провируса лейкоза

Примечание: Все пробы молока положительные

В результате исследований молока методом ПЦР было установлено, что все пробы от инфицированных ВЛ КРС животных также оказались положительными.

Выводы

1. Анализ результатов лабораторных исследований (РИД и ПЦР) свидетельствует о высоком уровне инфицированности вирусом лейкоза крупного рогатого скота в Саратовской области.

2. Для ПЦР-диагностики лейкоза крупного рогатого скота возможно использовать такие биологические жидкости организма животного, как молоко и различные фракции крови.

3. Проведенный сравнительный анализ показал, что молекулярно-генетический метод диагностики лейкоза крупного рогатого скота по чувствительности превосходит серологический в 1,63 раза.

Библиографический список

1. Баймишев Х.Б. Факторы, снижающие эффективность мероприятий по ликвидации лейкоза крупного рогатого скота // Ветеринарная медицина XXI века: инновации, опыт, проблемы и пути их решения: матер. Международ. науч.-практ. конф. — Ульяновск, 2011. — С. 41-46.

2. Галеев Р.Ф. Лейкоз крупного рогатого скота. — Уфа, 2006. — 191 с.

3. Гулюкин М.И. Разработка эффективных мероприятий против лейкоза крупного рогатого скота // Ветеринария. — 2002. — № 12. — С. 3-8.

4. Джапаралиев Н.Т. Молекулярно-биологические методы диагностики лейкоза крупного рогатого скота: автореф. дис. на соиска. уч. ст. канд. биол. наук: 03.00.06. — 2002. — 18 с.

5. Ковалюк Н.В., Сацук В.Ф., Мачульская Е.В. Современные методы диагностики лейкоза крупного рогатого скота // Вестник Кубани. — 2007. — № 1.

6. Фаизов Т.Х., Усольцев К.В. Разработка тест-системы для обнаружения участка гена ТАХ провирусной ДНК лейкоза КРС // От теории к практике: вопросы современной ветеринарии, битехнологии и медицины: матер. Международ. науч.-практ. конф. — Саратов, 2011. — С. 332-335.

