



**Медицинский
Центр**

«НАСЛЕДСТВЕННОСТЬ»

Ветеринарный отдел

**КАЧЕСТВЕННАЯ
ДИАГНОСТИКА**

**ЭФФЕКТИВНОЕ ЛЕЧЕНИЕ
И ПРОФИЛАКТИКА**

ЗДОРОВОЕ ПОГОЛОВЬЕ

МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ ЛЕЙКОЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Сущность лейкоза крупного рогатого скота состоит в патологически усиленной пролиферации лимфоидных клеток в местах их возникновения и за их пределами, выбросе этих клеток в циркулирующую кровь, появлении злокачественных образований в «кроветворных и других органах и тканях».

Раньше лейкоз исследовали, изучая различные клинические проявления и многообразные патологоанатомические изменения, которые обнаруживали у живых и павших животных, а также в тушах особей, подвергнутых ветсанэкспертизе при убойе на скотобойнях и мясокомбинатах.



Позднее, после проведения многочисленных гематологических исследований в неблагополучных по лейкозу хозяйствах, было доказано, что опухолевому проявлению болезни предшествует длительная лейкокемическая стадия в виде персистентного лимфоцитоза. Поэтому по результатам гематологического исследования оказалось возможным ставить прижизненный диагноз - лейкоз. Для оценки гематологических показателей были разработаны многочисленные «лейкозные ключи», которые применялись во многих европейских странах для выявления в основном лимфоидной формы лейкоза. «Лейкозные ключи» были первым рабочим инструментом для борьбы с лейкозом крупного рогатого скота. Они устанавливали связь между числом лимфоцитов и возрастом животных, наивысшие границы которого указывали на развитие персистентного лимфоцитоза, расценивающегося как субклиническая стадия лей-

коза. В 1970-х годах рабочая группа ЕЭС стандартизировала гематологические нормы для девяти стран и создала общий «лейкозный ключ» для всех разводимых в Европе пород крупного рогатого скота.

В шести географических зонах бывшего СССР были изучены показатели крови здорового крупного рогатого скота и проведена сравнительная оценка 12-ти «лейкозных ключей», применявшихся при диагностике в разных странах. Установленные нормы количественных показателей лейкоцитов, а также выявленные особенности клинико-гематологического проявления лейкозов позволили модифицировать советский «лейкозный ключ» и показать его высокую диагностическую ценность, не уступающую коллегам к северному, восточному, ганноверскому и эйнаттскому «лейкозным ключам».

Гематологический метод широко применяли при оздоровлении крупного рогатого скота от лейкоза. Благодаря гематологическим исследованиям своевременно выявляли и выводили из неблагополучных стад животных с лейкокемической и сублейкемической стадиями лейкоза. Кроме того, снизилось количество случаев

опухолевого проявления болезни. Практика масштабных исследований показала, что использование этого метода позволяет в первые 2-3 года уменьшить заболеваемость, стабилизировать ее, снизить до минимального уровня (0,1%) или даже ликвидировать лейкоз в течение 4-5 лет. Однако в дальнейшем в оздоровленных хозяйствах вновь обнаруживали больных животных, причем при патологоанатомическом и гистологическом исследовании, как правило, диагностировали ретикуло (лимфо-) саркомы. Ретроспективный анализ результатов гематологических исследований показывал, что нередко это были животные с алейкемическим проявлением лейкоза, когда за весь период болезни у них не наблюдали ни количественных, ни качественных изменений показателей периферической крови, характерных для лейкоза. Иногда животных с алейкемическим вариантом течения лейкоза обнаруживали лишь в конце забо-

левания по резким сдвигам качественных показателей крови, то есть «лейкозный ключ», который является количественным методом диагностики, не позволял распознать таких животных. Кроме того, «лейкозные ключи» определяют большое число животных, имеющие неясные изменения крови и включаемых в связи с этим в группу «подозрительных в заболевании лейкозом». Это животные, о которых ничего нельзя сказать с определенной достоверностью после первого гематологического исследования. Поэтому в Методических указаниях по диагностике лейкоза крупного рогатого скота 1985 г., 1989 г. (и в более ранних) предписывалось через 1-2 месяца подвергать животных этой категории дополнительному гематологическому обследованию и объявлять их больными только при повторном подтверждении диагноза.

Эти недостатки «лейкозного ключа» способствовали усложнению эпизоотической ситуации в стаде. Несмотря на это, применение гематологического метода позволяло предотвратить преждевременную гибель большого числа животных и правильно оценить эпизоотическую ситуацию, а по степени поражения и потерь предположить, что лейкоз — болезнь инфекционная, вследствие чего программы борьбы с лейкозом, основанные на гематологических и гистологических методах диагностики лишь контролировали саму болезнь, не искореняя ее.

После открытия в 1969 г. вируса лейкоза крупного рогатого скота (ВЛКРС) изменились методология его диагностики и эпизоотологической оценки, а также подходы к построению более реальной и эффективной системы мер профилактики и борьбы с ним.

С разработкой серологического метода диагностики — реакции иммунодиффузии в геле агара (РИД) — открылся путь к проведению сероэпизоотологических исследований, технически гораздо менее трудоемких, чем гематологические.

Метод РИД — чувствительный и простой. Он позволяет использовать неразбавленную сыворотку крови, причем результаты не зависят от ее качества (бактериальной загрязненности, ангиокомплемментарной активности), что важно при практическом применении метода. С помощью этого метода

могут быть выявлены животные, зараженные ВЛКРС, которые еще не имеют изменений крови, свойственных лейкозу, а лишь составляют группу риска. РИД выявляет зараженных животных — носителей антител к ВЛКРС на всех стадиях инфекционного процесса, за исключением животных, находящихся в инкубационном периоде. Для животных в возрасте старше шести месяцев установление антигелоносительства свидетельствует о персистенции вируса в организме. Отсюда следует важнейший вывод: РИД выявляет источник возбудителя лейкоза на ранних стадиях инфекционного процесса, способствуя тем самым скорейшему удалению его из хозяйства.

Серологический метод в этом плане принципиально отличается от гематологического. При обнаружении у животного антител к ВЛКРС оно считается зараженным и поэтому можно сразу решать вопрос о его перемещении в группу аналогичных животных или удалении из стада, оперативно защищая от перезаражения здоровых серонегативных животных.

Сравнение результатов, полученных клинико-гематологическим и серологическим методами диагностики лейкоза в 12 неблагополучных хозяйствах, показало, что количество выявленных серопозитивных коров многократно превышает количество гематологически положительных, подтвердив тот факт, что только у части инфицированных животных развиваются изменения крови, характерные для лейкоза. В настоящее время борьба с лейкозом основана, прежде всего, на обнаружении и изоляции (удалении) инфицированных животных при одновременной защите благополучных хозяйств.

Только после выведения из стад зараженных животных можно быть уверенным в их полном благополучии. Это подтвердилось выполненными в ряде неблагополучных хозяйств оздоровительными противолейкозными мероприятиями, которые привели стада к длительному, в течение 10 и более лет, благополучию. Оценивая эти данные, можно уверенно сказать, что при соблюдении профилактических требований в хозяйствах, сроки благополучия возрастут еще больше.

Многолетняя практика проведения противолейкозных мероприятий показала, что при-

меня серологический метод исследования, как основной метод прижизненной диагностики лейкоза, заболевание можно практически ликвидировать.

Вместе с тем, в определенных эпизоотических ситуациях, например, в хозяйствах, где не было потерь животных из-за лейкоза и проводится целенаправленная работа по удалению серопозитивных животных, целесообразно проведение гематологических исследований.

Так, известно, что инфекция, вызванная ВЛКРС, распространяется медленно, что обусловлено невысокой контагиозностью вируса. Период развития клинико-гематологических симптомов заболевания, в частности, персистентного лимфоцитоза, также длителен и варьирует от нескольких месяцев до нескольких лет. Поэтому с момента установления в стаде инфекции ВЛКРС, нарастание числа животных с персистентным лимфоцитозом служит основным показателем прогрессирования заболевания лейкозом.

Например, в хозяйстве (табл.) в начале проведения противолейкозных мероприятий в 1986 г. превалентность ВЛКРС составляла 81%, а уровень гематологически больных — 8,5%. В 1990 г. на одной из ферм хозяйства были сконцентрированы 200 серопозитивных коров, гематологические исследования которых не проводили в течение трех лет. Затем в результате проведения гематологических исследований 163 из этих коров было выявлено лишь 8 (4,9%) с изменениями крови, характерными для лейкоза.

Таким образом, поскольку основной принцип искоренения лейкоза базируется на элиминации зараженных ВЛКРС животных из стад, в настоящее время серологический метод исследования (РИД), в отличие от гематологического, считается основным методом прижизненной диагностики лейкоза крупного рогатого скота. Сроки оздоровления стад с помощью РИД во многом определяются выбранным вариантом системы оздоровления, жестким соблюдением регламента исследований животных и скоростью ротации оборотного стада.

В связи с этим необходимо изменить отношение к оценке результатов серологических исследований. Так, при выявлении инфицированных животных необходимо немедленно проводить противолейкозные мероприятия. Кроме того, повышение эффективности противолейкозных мероприятий можно добиться и с помощью современных, более чувствительных и специфичных методов диагностики, таких как иммуноферментный анализ (ИФА) и полимеразная цепная реакция (ПЦР).

Хозяйство	Исследовано коров гематологически и в РИД	Выявлено %	
		больших	серопозитивных
1	506	8,7	66,0
2	370	0,9	20,6
3	720	0,2	32,4
4	1860	1,5	39,4
5	583	8,5	81,0
6	2900	1,2	61,6
7	474	0,4	13,2
8	810	0,3	8,8
9	986	2,1	41,7
10	1400	1,4	56,7
11	670	2,2	27,2
12	700	1,1	37,9

(Окончание на 4-й стр.)

Утверждаю
Вице-губернатор,
директор департамента сельского хозяйства,
пищевой и перерабатывающей промышленности
Б. В. Сметов, 6 июня 2001 года

ПРАВИЛА

продажи и покупки племенных животных хозяйствами Нижегородской области

1. Общие положения

В соответствии с Федеральным Законом Российской Федерации "О племенном животноводстве" от 03 августа 1995 года № 123-ФЗ:

1.1. Племенным животным признается сельскохозяйственное животное, имеющее документально подтвержденное происхождение, используемое для воспроизводства определенной породы и зарегистрированное в установленном порядке.

1.2. Отношения в области разведения племенных животных, производства и использования племенной продукции во всех отраслях животноводства регулируются законодательством Российской Федерации.

1.3. Племенная продукция может принадлежать лишь участникам оборота, гражданам и юридическим лицам, осуществляемым разведение и использование племенных животных согласно полученной лицензии. Реализация племенной продукции возможна только гражданам и юридическим лицам, осуществляющим сельскохозяйственное производство.

1.4. Отчуждение или иной переход прав собственности на племенную продукцию (продажа, покупка и т. д.) разрешаются только при наличии сертификата (свидетельства), выдаваемого в соответствии с требованиями закона "О племенном животноводстве" и оформленного в установленном порядке ветеринарного свидетельства (форма № 1). Племенная продукция подлежит обязательной сертификации.

1.5. Сертификат племенного животного, подтверждающий происхождение, продуктивность и иные качества, выдается Государственной племенной службой области после проверки специалистами госплемпредприятия "Нижегородское".

1.6. Госплемпредприятие "Нижегородское" по согласованию с областным департаментом сельского хозяйства, пищевой и перерабатывающей промышленности, имея в своем составе отдел по племенной работе в животноводстве, лаборатории селекционного контроля качества молока и иммунологической экспертизы происхождения, центр информационного обеспечения племенной работы, организуют выполнение функций по учету, контролю, оценке уровня продуктивности, качества продукции и племенной ценности животных.

2. Ветеринарные мероприятия, выполняемые при реализации племенных животных

На основании Закона Российской Федерации "О ветеринарии", а также соответствующих Правил, Положений и инструкций:

2.1. Хозяйства, из которых намечается реализация племенных животных, подлежат обязательному обследованию на предмет ветеринарного благополучия. Результаты обследования оформляются актом за подписями государственного ветеринарного инспектора района, главного ветеринарного врача и главного зоотехника хозяйства – поставщика племенных животных.

2.2. Все животные, предназначенные к вывозу для произ-

водственных и племенных целей, должны иметь идентификационные номера и подлежат тщательному ветеринарному осмотру и обработке. Ветеринарная обработка животных производится в хозяйствах, из которых они вывозятся.

2.3. Отобранные для продажи животные за месяц до вывоза из хозяйства должны быть отделены в отдельную группу и поставлены на профилактический карантин и обеспечены лучшими условиями ухода, содержания и кормления.

2.4. Продаваемое поголовье подвергают обязательному исследованию:

2.4.1. Крупный рогатый скот:

- на бруцеллез – реакцией агглютинации (РА) и реакцией связывания комплемента (РСК), РИ/РИД, (*);

- на туберкулез – методом внутрикожной туберкулинизации жидким туберкулином для млекопитающих (ППД), (*);

- на паратуберкулезный энтерит – клинически и бактериоскопией фекалий у быков;

- на лейкоз – серологически – реакцией иммунодиффузии (РИД) (в начале и в конце карантина) или методом полимеразной цепной реакции (ПЦР);

- на лептоспироз – реакцией микроагглютинации (РМА) с сывороткой крови, (*);

- на трихомоноз – микроскопией и культурально трехкратно с интервалом в 10 дней;

- на кампилобактериоз – исследуются бычки трехкратно с интервалом в 10 дней микроскопией, культурально, (*);

- на инвазионные болезни: фасциоз, диктиокаулез, мониезиоз, Дикроцелиоз, стронгилидоз – копрологические исследования;

- телязиоз и гиподерматоз – осмотр;

- на инфекционный ринотрахеит и пустулезный вульвовагинит (ИРТ ИВП) – серологически реакцией нейтрализации (РН) – исследуются быки;

2.4.2. Мелкий рогатый скот:

- на бруцеллез – РА/РДСК, РА/РИД, (*);

- на листериоз – реакцией связывания комплемента (РСК), (*);

- на эпидидимит (инфекционная болезнь, вызываемая *BR. Ovis*) – РДСК, (*);

2.4.3. Свиньи:

- на бруцеллез – аллергической пробой, серологически РСК или РДСК (*);

- на туберкулез – внутрикожной туберкулинизацией ППД туберкулина для млекопитающих и птиц, (*);

- на лептоспироз – РМА с сывороткой крови, микроскопией мочи, (*);

- на репродуктивно-респираторный синдром свиней (РРСС) по серологии (ИФА);

- на аскаридоз – копрологически;

2.4.4. Лошади:

- на сеп – маллеинизация и РСК;

- на случную болезнь – реакцией связывания комплемента (РСК);

- на инфекционную анемию лошадей – реакцией диффузной преципитации (РДП);

- на лептоспироз – реакцией микроагглютинации (РМА), (*).

Примечание: (*) В качестве дополнительного метода исследования рекомендуется применение полимеразной цепной реакции (ПЦР).

2.5. Реализация (продажа) племенных животных в целях разведения разрешается только клинически здоровым, с отрицательными результатами при исследовании на инфекционные и инвазионные болезни в карантинные сроки и из местности (хозяйства), благополучного по:

а) бруцеллезу, туберкулезу, лептоспирозу, паратуберкулезному энтериту в течение 3 лет;

б) инфекционному ринотрахеиту, парагриппу, трихомонозу, кампилобактериозу, хламидиозу

- в течение последнего года;

в) некробактериозу и лейкозу - в течение последних 6 месяцев;

г) трихинеллезу свиней - в течение последних 12 месяцев.

2.6. В тех случаях когда в срок 30 дней после исследования животное не будет реализовано (продано), то их повторно исследуют на указанные болезни.

2.7. В течение карантинного 30-дневного срока всех животных (КРС) необходимо привить с профилактической целью против трихофитии.

Свиней подвергают обязательной вакцинации против чумы, если после предварительной прививки прошло более 12 месяцев, и против рожи независимо от того, были ли они в текущем году вакцинированы против этой болезни.

2.8. При обнаружении заразных болезней у проданных животных, прибывших в новое хозяйство, госветслужба района и хозяйства проводят все необходимые мероприятия в соответствии с действующими правилами и инструкциями по соответствующей болезни.

2.9. На племенную продажу и вывоз животных хозяйству поставщику подлежит получить разрешение от областного комитета государственного ветеринарного надзора администрации Нижегородской области.

3. Порядок оформления продажи и покупки племенных животных

3.1. Хозяйства, планирующие реализацию и покупку племенных животных, заключают с госплемпредприятием "Нижегородское" соответствующие договоры, в которых указываются породные и качественные по-

казатели животных, сроки их поставки и другие требования, ответственность сторон за их исполнение.

3.2. Хозяйства, реализующие племенных животных, и госплемпредприятие "Нижегородское" несут полную ответственность за достоверность информации их племенных и качественных показателей в соответствии с Законом РФ "О племенном животноводстве".

3.3. За свою работу и услуги по улучшению качества животных, маркетингу, проверке достоверности данных и правильности заполнения сертификатов, отбору и документально оформлению продажи (покупки) племенного поголовья госплемпредприятие "Нижегородское" взимает с покупателя наценку и за услуги с продавца. При реализации племенных животных хозяйствам области наценку и услуги полностью поступают госплемпредприятию "Нижегородское", а при их вывозе за пределы области распределяются между ним и предприятиями других регионов, если таковые участвуют в операции.

3.4. Госплемпредприятие "Нижегородское" использует средства, полученные в виде наценки и услуг на возмещение своих расходов по заготовке и реализации племенных животных, а также на содержание племенной службы, занятой на выполнении делегированных ему соглашением с департаментом сельского хозяйства Нижегородской области, функцией по организации и управлению племенной работой.

4. Документы, предоставляемые продавцом племенных животных для оформления документов в госплемпредприятие "Нижегородское"

1. Племенные свидетельства.

2. Доверенность покупателя с полными реквизитами хозяйства.

3. Акт-счета в 3 экземплярах с подписью продавца.

4. Акт-счета в 3 экземплярах с подписью покупателя.

5. Счет-фактура в 2 экземплярах от продавца с реквизитами хозяйства, печатью, подписями без расчетов.

6. Договор в 3 экземплярах.

7. Письмо-гарантия о выплате услуг и наценки от основной стоимости племенных животных на имя директора ГСП "Нижегородское" по племенной работе И. А. Матвеева, в том случае когда расчеты между хозяйствами производятся напрямую. Письмо пишется на каждую партию или годовое.

8. Копия ветеринарного свидетельства, оригинал покупателю.

5. Ответственность действующих сторон при продаже и покупке племенных животных определяется действующим законодательством РФ.

Председатель комитета
госветнадзора
администрации
Нижегородской области
В. А. Душкин

Главный государственный
инспектор племенного
животноводства
Нижегородской области
Е. И. Сизарева

ВНИМАНИЕ: ТУБЕРКУЛЕЗ

Хроническая инфекционная болезнь домашних, диких животных, птиц и человека, которая характеризуется образованием в различных органах специфических узелков (туберкулов).

Клинически доказана патогенность для животных *M. Bovis*, *M. Tuberculosis*, *M. Avium*. Микобактерии бычьего вида наиболее патогенны для крупного рогатого скота, овцы, козы, свиньи, собаки, кошки и многих других видов животных. Возбудитель туберкулеза птичьего вида патогенен для птиц, свиней и кроликов.

Болезнь распространена повсеместно.

Основной источник возбудителя туберкулеза – больные животные, выделяющие микобактерии с молоком, калом, мочой.

Заражение восприимчивых животных происходит алиментарным или аэрогенным путем.

В связи с длительностью инкубационного периода (до 45 дней) туберкулез в пораженных стадах распространяется сравнительно медленно. Чаще всего эпизоотические очаги выявляют врасплох при очередной проверке скота на туберкулез.

Инкубационный период продолжается от 2 до 6 недель, после чего становится положительной реакция на туберкулин.

Различают открытый (активный) туберкулез, когда микобактерии выделяются с молоком или мокротой, фекалиями животного, и

закрытый (латентный), при котором выделение возбудителя не происходит.

У крупного рогатого скота в большинстве случаев поражаются легкие. При обширном поражении отмечают одышку, кашель, снижение упитанности, повышение температуры тела, бледность видимых слизистых оболочек. Поражение кишечника проявляется поносом – вначале перемежающимся, а затем постоянным. При туберкулезе вымени, как правило, поражаются надвыменные лимфоузлы. Поражение половых органов проявляется яловостью и абортными у коров, орхитами у быков.

У свиней, лошадей, овец туберкулез в большинстве случаев протекает бессимптомно.

У пушных зверей отмечают прогрессирующие истощение, признаки поражения, признаки поражения кишечника, реже – легких.

Чаще болеет молодняк.

У птиц туберкулез обычно клинически проявляется только при генерализованной инфекции. Птица становится вялой, яйценоскость снижается, прогрессирует истощение.

Для постановки диагноза используют лабораторную диагностику и аллергические исследования.

Для аллергической диаг-

ностики используют сухой, очищенный туберкулин (ППД) для млекопитающих. Туберкулин вводят внутрикожно и через 72 часа проводят учет реакции по толщине кожной складки на месте инъекции.

Животное считается положительно реагирующим при толщине кожной складки 3 мм и более.

Известно, что положительную реакцию на туберкулин могут вызвать и непатогенные, атипичные формы микобактерий, а также ряд других факторов, таких, как сопутствующие заболевания, микобактерии птичьего вида, что приводит к необходимости диагностического убоя здоровых по туберкулезу животных.

Животных, реагирующих на туберкулин, немедленно изолируют от другого поголовья, таврят буквой "Т" и в течение 15 дней сдают на убой, независимо от племенной и производственной ценности (ВП 13.3.1325-96).

Несмотря на наличие широкого спектра методов диагностики заболевания, обнаружение возбудителя и дифференциальная диагностика на ранних стадиях заражения, а также выявление микобактерий, персистирующих в организме больных с остаточными туберкулезными изменениями представляет собой серьезную проблему.

Это связано с медленным ростом возбудителя в лабораторных условиях, а также со сложностью его выделения непосредственно из клинического мате-



риала.

Обнаружение персистирующего возбудителя туберкулеза осложняется возможностью образования атипичных форм, находящихся на различных стадиях L-трансформации. Отсутствие надежных методов выделения из организма и идентификации атипичных форм микроорганизмов, характеризующихся измененной антигенной структурой и пониженным уровнем метаболизма, не только сужает возможности диагностики, но и ограничивает исследование фундаментальных механизмов персистенции и, в частности, персистенции возбудителя туберкулеза.

Перспектива создания быстрых и специфических методов обнаружения как обычных, так и атипичных

форм *M. Tuberculosis* связана с использованием ПЦР – полимеразной цепной реакции.

ПЦР не только значительно сокращает время определения возбудителя туберкулеза, но обладает более высокой специфичностью, чувствительностью и надежностью, чем применяемые методы диагностики. Метод ПЦР успешно используется также для обнаружения других видов патогенных микобактерий. ПЦР позволяет быстро и достоверно выявить ДНК микобактерий (*M. Bovis* + *M. Tuberculosis*) в любом исследуемом биоматериале и объектах окружающей среды.

М. А. Маркова,
ветеринарный врач

АЛГОРИТМ прижизненной диагностики туберкулеза с помощью метода ПЦР

1. Проведение плановой туберкулинизации.

1.1. Реагирующих животных не выявлено 0 никаких других исследований не проводят.

1.2. Выявлены животные, реагирующие на туберкулин, – забор крови шприцом "Моновет" от всех реагирующих животных для исследования методом ПЦР.

2. Исследование методом ПЦР.

2.1. По всей группе получены отрицательные результаты – диагностический убой и дальнейшие исследования проводят, как в благополучных по туберкулезу хозяйствах.

2.2. Выявлены животные, дающие положительную реакцию на ПЦР, – всех таких животных в соответствии с пунктом 3 прика-

за департамента ветеринарии Минсельхозпрода России от 06.03.2000 № 5 подвергают диагностическому убою.

2.2.1. При обнаружении патологических изменений, свойственных туберкулезу, диагноз считается установленным.

2.2.2. При отсутствии патологоанатомических изменений, свойственных туберкулезу, отбирают материал, предусмотренный действующим наставлением по диагностике туберкулеза, для проведения бактериологического и биологического исследований. По результатам этих исследований делают окончательное заключение по туберкулезу.

Б. И. Антонов,
заслуженный ветврач РФ



МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ ЛЕЙКОЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

(Окончание.
Начало на 1-й стр.)

В странах Западной Европы, благодаря радикальным методам борьбы с ВЛКРС-инфекцией, в 70-80 годах XX в. prevalence вызванной ВЛКРС инфекции была значительно снижена. Исследование всего поголовья серологическими методами стало экономически нецелесообразным. Развитие иммуноферментного анализа (ИФА), как более чувствительного по сравнению с РИД метода серологической диагностики, открыло новые возможности для контроля за оздоровлением скота. Было установлено, что ИФА можно с успехом применять для исследования биологических жидкостей, титр антител в которых низок, например, сыворотки крови на ранней стадии развития инфекции, индивидуальных проб молока или сборных проб молока или сыворотки крови. Контроль благополучия стад при исследовании методом ИФА сборных проб сыворотки крови или молока экономически более выгоден, чем проведение поголовных исследований. Если результат исследования сборной пробы отрицательный, стадо считается благополучным. В случае получения положительного результата проводят индивидуальные исследования всего поголовья. В странах с высоким уровнем инфицирования скота ВЛКРС применение ИФА позволяет избежать дорогостоящих

мероприятия в более короткий срок по сравнению с РИД.

К сожалению, в нашей стране, несмотря на большое количество лабораторных образцов иммуноферментных диагностикумов, серийный их выпуск до сих пор не налажен.

Вместе с тем, многие исследователи отмечают, что ИФА имеет более низкую специфичность, чем РИД. Поэтому такая



проблема, как появление единичных положительных результатов ИФА при снижении prevalence ВЛКРС на заключительных стадиях оздоровления, требует проведения подтверждающих тестов, основанных на принципах специфической идентификации инфекционного агента или отдельных

прямого диагностического метода полезно для установления диагноза у телят моложе шести месяцев, когда антителосинтез, кроме персистенции вируса, может быть обусловлено и колостральными антителами, полученными от инфицированной ВЛКРС матери. В этом случае серологические методы бесполезны до тех пор, пока материнские антитела не

исчезнут из организма телят. Кроме этого, существенным тормозом в оздоровлении являются инфицированные животные, у которых длительное время (возможно, несколько лет) титры антител не выходят на уровень чувствительности серологических методов. Эти животные служат источником

здорового поголовья. Разработка в конце 80-х годов полимеразной цепной реакции (ПЦР), ставшей основой нового направления диагностики наследственных болезней, вирусных инфекций и идентификации личности в криминалистике, несомненно, дала новый импульс развитию диагностики ВЛКРС-инфекции. В основе метода лежит амплификация фрагментов ДНК или РНК in vitro. В случае ВЛКРС-инфекции ПЦР позволяет выявить фрагменты провирусной ДНК, встроенные в геном инфицированного животного, тем самым представляя собой прямой метод диагностики в отличие от непрямых серологических методов РИД и ИФА. В этом смысле значение метода ПЦР трудно переоценить. Известно, что особенностью ВЛКРС-инфекции является отсутствие (за крайне редким исключением) в организме инфицированного животного вируса или его антигенов, и наиболее характерным признаком инфекции, вплоть до появления гематологических изменений, служит наличие антител к структурным белкам ВЛКРС. ПЦР позволяет осуществлять диагностику ВЛКРС-инфекции независимо от наличия или отсутствия антител с высокой степенью специфичности и чувствительности. По-видимому, ПЦР превосходит по всем параметрам ранее существовавшие прямые методы выявления ВЛКРС.

Кроме указанных выше слу-

чения ПЦР является исследование импортного скота, находящегося в карантине, поскольку завоз лейкоза из одной страны в другую невозможно контролировать только серологическими методами. Однако существенным ограничением применения метода ПЦР является его высокая стоимость и трудоемкость, поэтому в настоящее время этот метод целесообразно применять только для исследования высокоценных животных. Вместе с тем, ПЦР дополнила методы прижизненной диагностики лейкоза, сделав ее всеобъемлющей.

Таким образом, в настоящее время комплекс методов прижизненной диагностики при лейкозе крупного рогатого скота позволяет не только установить факт инфицирования животного, выявить наличие возбудителя, определить стадию заболевания, но и эффективно проводить оздоровительные мероприятия, контролируя при этом достигнутое благополучие.

М.И. Гулюкин,
заведующий лабораторией,
доктор ветеринарных наук,
профессор;
Н.В. Замонова,
Л.А. Иванова,
кандидаты
биологических наук;
К.П. Грек, А. В. Симонов,
ВИЭВ
Н.В. Баркова,
Департамент ветеринарии
МСХ РФ

КАК ПРАВИЛЬНО ТРАКТОВАТЬ

положительные результаты ПЦР при диагностике туберкулеза крупного рогатого скота

Использование метода полимеразной цепной реакции при диагностике заболеваний сельскохозяйственных и домашних животных предполагает прежде всего его правильную интерпретацию.

Верная оценка полученных результатов важна для последующих действий ветеринарных специалистов. Нередко, сталкиваясь с практикующими ветеринарными врачами, слышишь: "Положительный результат ПЦР – животное больное". Это в корне неверное заявление.

В задачу ПЦР не входит установление диагноза, данная методика позволяет выявить ДНК-возбудителя, то есть небольшой участок генома, который является маркером данного возбудителя.

Всегда ли сам факт обнаружения возбудителя в организме говорит о наличии инфекционного процесса?

Чтобы правильно трактовать полученный в ПЦР результат, рассмотрим формы проявления инфекции при внедрении возбудителя в организм животного:

1. Инфекционная болезнь – это наиболее яркая форма проявления инфекции. Эта форма характеризуется функциональными расстройствами и морфологическими повреждениями тканей и в большинстве случаев сопровождается клиническими проявлениями. Проявления зависят от количества и степени патогенности возбудителя, восприимчивости хозяина и условий содержания и кормления.

2. Иммунизирующая субинфекция – при этой форме

попавшие в организм животного микробы вызывают лишь специфическую перестройку иммунитета. Функциональных расстройств в организме животного не происходит, сами возбудители при этом погибают. В этом случае животное не является источником возбудителя инфекции.

3. Носительство наличие возбудителя в органах и тканях клинически здорового животного не приводит к патологическому состоянию и не сопровождается иммунологической перестройкой организма. При данной форме инфекции опасность заключается в том, что данные животные-микробоносители, сами не заражаясь, являются потенциальными источниками возбудителя.

Встречается несколько вариантов носительства:

- транзитный путь инфекции – возбудитель проходит через организм животного, не вызывая никаких функциональных расстройств;
- abortивное течение – встречается в том случае, когда степень патогенности возбудителя слишком мала для развития инфекционного процесса, то есть организм способен сам ликвидировать возбудителя.

Исходя из вышеизложенного, можно говорить о том, что далеко не всегда наличие возбудителя в организме говорит об инфекционном процессе. При всех указанных формах проявления инфекции можно получить положительный результат по ПЦР за счет 100% специфичности и 97% чувствительности метода.

Диагностику любого инфекционного заболевания проводят комплексно, и ПЦР лишь дополняет традиционные методы диагностики. Для установления окончательного диагноза необходимо использование всего спектра диагностики, что дает возможность правильно дифференцировать формы инфекционного процесса. Ни один из применяемых методов диагностики не может полностью заменить другие.

ПЦР позволяет ветеринарным специалистам выйти на качественно другой уровень диагностики и правильно спланировать последующие шаги после получения положительного результата.

Диагностике на туберкулез КРС с помощью ПЦР подвергают не всех животных, а только тех, которые дали положительную аллергическую реакцию на туберкулин. Здоровое поголовье на ферме не исследуют.

Животные, давшие положительные результаты в ПЦР по туберкулезу, формируют группу максимального риска по инфекционному заболеванию, и их следует в первую очередь подвергнуть диагностическому убою с обязательным дальнейшим комплексным обследованием традиционными методами диагностики.

Болезнь всегда легче предупредить, чем с ней бороться. Следует подчеркнуть профилактическую направленность ПЦР-диагностики.

И. В. Ефимьев,
руководитель
ветеринарного отдела

МЫ ПРЕДЛАГАЕМ

В настоящее время Центр проводит диагностику из одной пробы следующих возбудителей широко распространенных заболеваний животных:

1. Туберкулез КРС (*Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium tuberculosis*).
2. Бруцеллез (*Brucella melitensis*, *Brucella abortus*, *Brucella suis*).
3. Лейкоз КРС (BLV – бычий лейкозный вирус).
4. Иерсиниоз (*Yersinia pseudotuberculosis*, *Yersinia enterocolitica*).
5. Хламидиоз (*Chlamydia psittaci*).
6. Листерииоз (*Listeria monocytogenes*).
7. Токсоплазмоз (*Toxoplasma gondii*).
8. Сальмонеллез (*Salmonella* spp. Toxin).
9. Кандидоз собак (*Candida albicans*).
10. Стрептококкоз (*Streptococcus pyogenes*).
11. Геликобактериоз (*Helicobacter pylori*).
12. Лептоспироз (*Leptospira interrogans*).
13. Кампилобактериоз (*Campylobacter jejuni*).
14. Чума плотоядных (*P. Carnivorum*).
15. Вирусная диарея (*D. Viral*is bovis).

Эти инфекции являются причиной различных заболеваний, в том числе заболеваний, общих для человека и животных. Эти заболевания животных приводят к преждевременной выбраковке, их убою, недополучению приплода, продукции животноводства, преждевременной гибели животного. Раннее выявление возбудителя и лечение позволяют предотвратить развитие болезни.