

ВЕТЕРИНАРИЯ И ЗООТЕХНИЯ

УДК 619:616.9-036.22

Р.И. Шангараев, М.Е. Горбунова, Р.Ф. Сафина,
К.А. Осянин, Н.И. Хаммадов, К.В. Усольцев

DOI: 10.53083/1996-4277-2023-219-1-58-64

R.I. Shangaraev, M.E. Gorbunova, R.F. Safina,
K.A. Osyenin, N.I. Khammadov, K.V. Usoltsev

МОНИТОРИНГ ЭПИЗООТИЧЕСКОЙ СИТУАЦИИ ЛЕЙКОЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА В РЕСПУБЛИКЕ ТАТАРСТАН С ПРИМЕНЕНИЕМ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ И СЕРОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ДИАГНОСТИКИ

MONITORING EPIZOOTIC SITUATION OF BOVINE LEUKEMIA IN THE REPUBLIC OF TATARSTAN USING MOLECULAR GENETIC AND SEROLOGICAL DIAGNOSTIC METHODS

Ключевые слова: ВЛ КРС, энзоотический лейкоз, провирусная ДНК, мониторинг, антитела, ИФА, РИД, ПЦР-РВ.

При организации противолейкозных мероприятий наиболее эффективно использование серологических и молекулярно-генетических диагностических методов в комбинации. Выбор данного подхода можно объяснить особенностями развития инфекционного процесса при лейкозе крупного рогатого скота (КРС). В инкубационном периоде заболевания серологические методы малоэффективны, так как в крови отсутствуют специфические антитела или синтезируются в малых количествах. Однако определение наличия возбудителя лейкоза КРС возможно в случае применения молекулярно-генетических методов для выявления специфического участка генома вируса. Особенности инфекционного процесса данного заболевания подразумевают периоды, при которых ни генетические, ни серологические маркеры не способны идентифицировать патоген, такую ситуацию можно преодолеть, применив подход, в котором каждое животное с отрицательной реакцией проверяется повторно через 3 месяца. При таком подходе (в том числе при совместном применении серологических (ИФА) и генетических исследований) возможно оздоровить хозяйство в кратчайшие сроки. В статье приведены данные по сравнительной диагностической оценке серологических и молекулярно-генетических методов лабораторной диагностики лейкоза КРС. С помощью РИД выявлено 21,5% инфицированного КРС,

ПЦР-РВ – 22,3%, ИФА – 22,0%. Также был проведен эпизоотический мониторинг по лейкозу КРС в хозяйствах Республики Татарстан за 2011-2021 гг. Установлено, что пик зараженности был в 2013 г. С 2014 г. отмечается нисходящий тренд процента инфицированности КРС. В 2017 г. зарегистрировано незначительное увеличение числа больных животных. В последующие годы количество больного крупного рогатого скота уменьшается.

Keywords: Bovine leukemia virus (BLV), enzootic leukemia, proviral DNA, monitoring, antibodies, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), Agar Gel Immunodiffusion Assay (AGID), real-time PCR.

During organizing anti-leukemic procedures, combined use of serological and molecular genetic diagnostic methods is the most effective. The choice of this approach may be explained by the peculiarities of development of bovine leukemia infection. During incubation period of disease, serological methods are ineffective since there are no specific antibodies in the blood, or they are synthesized in small quantities. However, the determination of bovine leukemia causative agent presence is possible if molecular genetic methods are used to identify a specific region of virus genome. The peculiarities of the infection process of this disease implies periods when neither genetic nor serological markers are not able to identify the pathogen; this may be overcome by retesting each negative animal in 3 months. By using this approach (including combined use

of serological (ELISA) and genetic studies) it is possible to recover herd health in shortest possible time. This paper presents the data of comparative diagnostic evaluation of serological and molecular genetic methods of laboratory diagnosis of bovine leukemia. *Agar Gel Immunodiffusion Assay* (AGID) detected 21.5% of infected cattle, real-time PCR - 22.3%, ELISA - 22.0%. Epizootic monitoring of bo-

vine leukemia was also carried out on the farms of the Republic of Tatarstan from 2011 through 2021. It was found that the peak of infection occurred in 2013. Since 2014, downward trend of cattle infection percentage was revealed. A slight increase of infected animal number was registered in 2017. In subsequent years the number of infected cattle was decreasing.

Шангараев Рафкат Искандарович, к.в.н., науч. сотр., ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности», г. Казань, Российская Федерация, e-mail: rafkat.shangaraev@mail.ru.

Горбунова Мария Евгеньевна, мл. науч. сотр., ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности», г. Казань, Российская Федерация, e-mail: maria.metax@bk.ru.

Сафина Регина Фанисовна, мл. науч. сотр., ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности», г. Казань, Российская Федерация, e-mail: 4.11.1992@mail.ru.

Осянин Константин Анатольевич, к.б.н., ст. науч. сотр., ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности», г. Казань, Российская Федерация, e-mail: kostja-2003@yandex.ru.

Хаммадов Наиль Ильдарович, к.б.н., вед. науч. сотр., ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности», г. Казань, Российская Федерация, e-mail: nikhammadov@mail.ru.

Усольцев Константин Валерьевич, к.в.н., вед. науч. сотр., ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности», г. Казань, Российская Федерация, e-mail: ukv3@mail.ru.

Shangaraev Rafkat Iskandarovich, Cand. Vet. Sci., Researcher, Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety, Kazan, Russian Federation, e-mail: rafkat.shangaraev@mail.ru.

Gorbunova Mariya Evgenevna, Junior Researcher, Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety, Kazan, Russian Federation, e-mail: maria.metax@bk.ru.

Safina Regina Fanisovna, Junior Researcher, Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety, Kazan, Russian Federation, e-mail: 4.11.1992@mail.ru.

Osyenin Konstantin Anatolevich, Cand. Bio. Sci., Senior Researcher, Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety, Kazan, Russian Federation, e-mail: kostja-2003@yandex.ru.

Khammadov Nail Ildarovich, Cand. Bio. Sci., Leading Researcher, Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety, Kazan, Russian Federation, e-mail: nikhammadov@mail.ru.

Usoltsev Konstantin Valerevich, Cand. Vet. Sci., Leading Researcher, Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety, Kazan, Russian Federation, e-mail: ukv3@mail.ru.

Введение

Первый случай лейкоза крупного рогатого скота (КРС) был зарегистрирован на территории России в 1953 г. в совхозе «Раменское» Московской области. По документальным данным установлено, что после окончания Второй мировой войны скот из Восточной Пруссии поступал в хозяйства СССР, в том числе и в совхоз «Раменское» [1]. В Республике Татарстан распространение лейкоза произошло после завоза животных черно-пестрой и голштино-фризской пород из неблагополучных по лейкозу стран Европы [2].

За период с 2011-2021 гг. эпизоотическая ситуация по лейкозу КРС в Российской Федерации

(РФ), в том числе и в Республике Татарстан (РТ), характеризуется эндемичностью. По данным литературы, в 2011 г. в Краснодарском крае зараженность КРС лейкозом составила 6,5% [3]. В Республике Башкортостан количество инфицированных лейкозом КРС составляло 1,3%. В Самарской области показатели инфицированности КРС были в пределах от 1 до 30%. В Центральном федеральном округе в 2014-2015 гг. наибольшее количество неблагополучных пунктов по лейкозу КРС зарегистрировано в Курской, Смоленской и Ярославской областях. В 2016 г. максимальные значения коэффициента очаговости выявлены во Владимирской, Калужской и Московской областях [4]. В 2018 г. по Централь-

ному федеральному округу зараженность КРС лейкозом составила 4,9%. По количеству неблагополучных пунктов лидировали Калужская, Тверская и Московская области. В этом же году в Республике Марий Эл, Пермском крае и Новосибирской области было установлено максимальное число новых неблагополучных пунктов [5]. В Курганской области в 2016 г. выявлено 97 неблагополучных пунктов с 12,2%-ной инфицированностью. В Алтайском крае в 2014 г. инфицированность КРС возбудителем лейкоза составила 4,6% [6]. В РТ в 2010 г. инфицированность КРС лейкозом варьировала от 0,1 до 30,1%, в 2015 г. – 14% [7].

В РФ за 2021 г. исследовано 1398704 гол. КРС, выявлено 15096 положительно реагирующих, сдано на убой 15611 животных. В 2021 г. в РТ зарегистрированы новые неблагополучные пункты по лейкозу КРС [7].

При оздоровлении хозяйства наиболее эффективно сочетанное применение различных методов диагностики, таких как реакция иммунодиффузии (РИД), иммуноферментный анализ (ИФА), полимеразная цепная реакция (ПЦР). Остается открытым вопрос, какой именно метод или их комбинация максимально результативны для выявления инфицирования вирусом лейкоза крупного рогатого скота (ВЛ КРС).

Целью исследования являлось проведение мониторинга эпизоотической ситуации по энзоотическому лейкозу КРС в РТ и сравнение различных методов выявления ВЛ КРС, применяющихся в ветеринарных лабораториях для индикации данного возбудителя и диагностики энзоотического лейкоза.

Объекты и методы исследования

Исследования были проведены в лаборатории молекулярно-генетического анализа ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ». Объектом исследования послужили 4449 образцов крови и сыворотки крови от КРС из хозяйств Республики Татарстан.

Мониторинг эпизоотической ситуации по лейкозу КРС в РТ проводили по статистическим отчетным данным Главного Управления ветеринарии Кабинета Министров РТ [7].

Нуклеиновые кислоты исследуемых образцов выделяли с помощью коммерческих наборов «ДНК-сорб Б» (ООО «Интерлабсервис», Россия) и «Рибо-преп» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия) согласно инструкциям производителей. Для постановки ПЦР-РВ использовали разработанную ранее праймерную комбинацию к гену *p24* ВЛ КРС с соответствующим ей протоколом постановки, с использованием амплификатора BIO-RAD CFX 96 [8, 9].

При исследовании сывороток крови методом ИФА применяли прямой твердофазный неконкурентный вариант [10]. Учет результатов ИФА устанавливали с помощью Multiskan GO (Thermo Scientific, США).

РИД осуществляли по общепринятой методике [11].

Результаты исследований

Результаты мониторинга эпизоотической ситуации по энзоотическому лейкозу КРС в РТ за 2011-2021 гг. представлены на рисунке 1.

Инфицированным считают КРС, давший положительный результат по серологическим исследованиям (РИД). Животных, имеющих характерные для лейкоза симптомы и гематологические изменения, признают больными.

Из данных, представленных на рисунке 1, следует, что наибольшее количество инфицированного КРС зарегистрировалось в 2014 г. (137615 гол., 17,9%). Также в этом же году отмечено наибольшее число больного КРС (6760 гол., 2,5%). Наименьшее число инфицированных животных за исследованный период зарегистрировано в 2021 г. – 34505 гол. (5,1% от общего числа обследованного поголовья), а также отмечено наименьшее количество больного скота – 2872 гол. (0,43% от общего числа обследованных животных).

С 2016 по 2021 гг. нами было проведено исследование 4449 проб крови и сыворотки крови от КРС в различных хозяйствах РТ методами ПЦР-РВ, ИФА и РИД (табл., рис. 2).

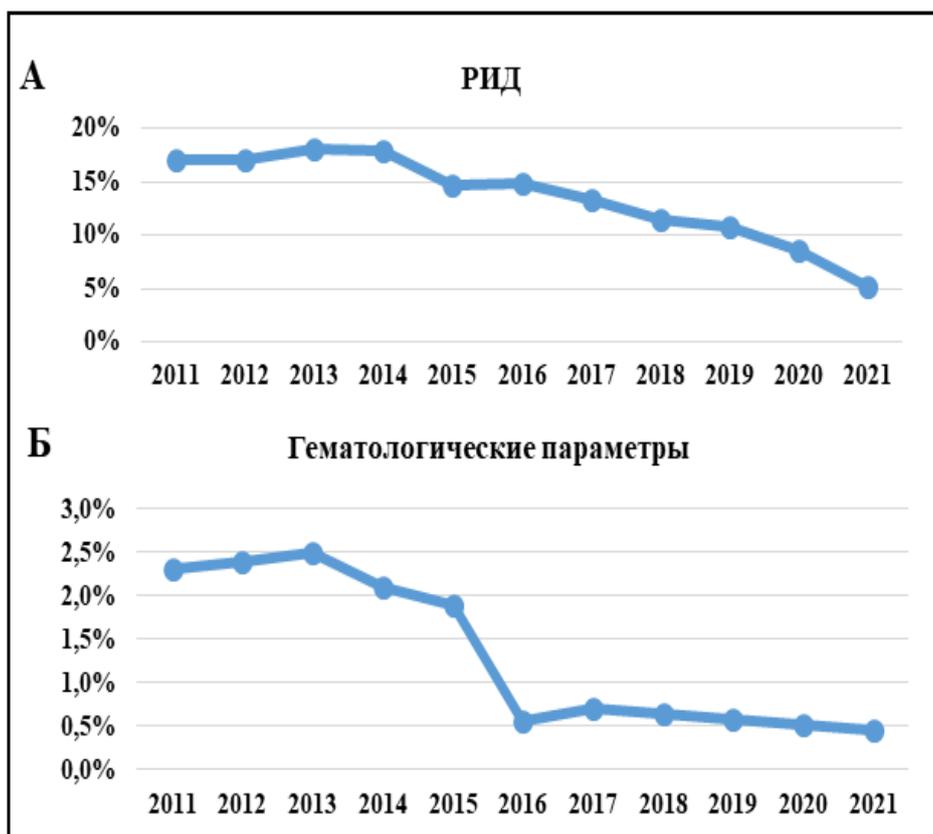


Рис. 1. Показатели инфицированности КРС возбудителем лейкоза по РИД (А) и по гематологическим показателям (Б) за период 2011-2021 гг. (в % от общего числа исследованного поголовья) [8]

Таблица

Инфицированность КРС в хозяйствах РТ на основании серологических (ИФА, РИД) и молекулярно-генетических (ПЦР-РВ) исследований

Год	Число проб	Положительный образец					
		ПЦР	процент инфицированности	ИФА	процент инфицированности	РИД	процент инфицированности
2016	313	129	41,2	124	39,6	122	39
2017	837	297	35,5	296	35,4	294	35,1
2018	348	96	27,6	94	27,0	90	25,9
2019	1062	213	20,0	213	20,0	201	18,9
2020	980	154	15,7	155	15,8	150	15,3
2021	909	103	11,3	97	10,7	98	10,8
Итого	4449	992	22,3	979	22,0	955	21,5

Заключение

На основании мониторинга эпизоотической обстановки энзоотического лейкоза КРС в РТ за 2011-2021 гг. установлено, что пик инфицированности животных приходится на 2013 г. После чего отмечается нисходящий тренд эпизоотической обстановки по лейкозу КРС.

При сравнительной оценке эффективности серологических методов установлено, что диагностика с помощью ИФА более информативна и эффективна, чем РИД. Однако метод ИФА уступает ПЦР-РВ, который позволил выявить наибольшее количество инфицированных животных в данном исследовании. Таким образом,

в организации противоэпизоотических мероприятий при лейкозе КРС необходимо использовать серологические и молекулярно-генетические способы диагностики в комбинации, что дает

возможность выявить инфицированных животных в инкубационном периоде заболевания и своевременно их выбраковать.

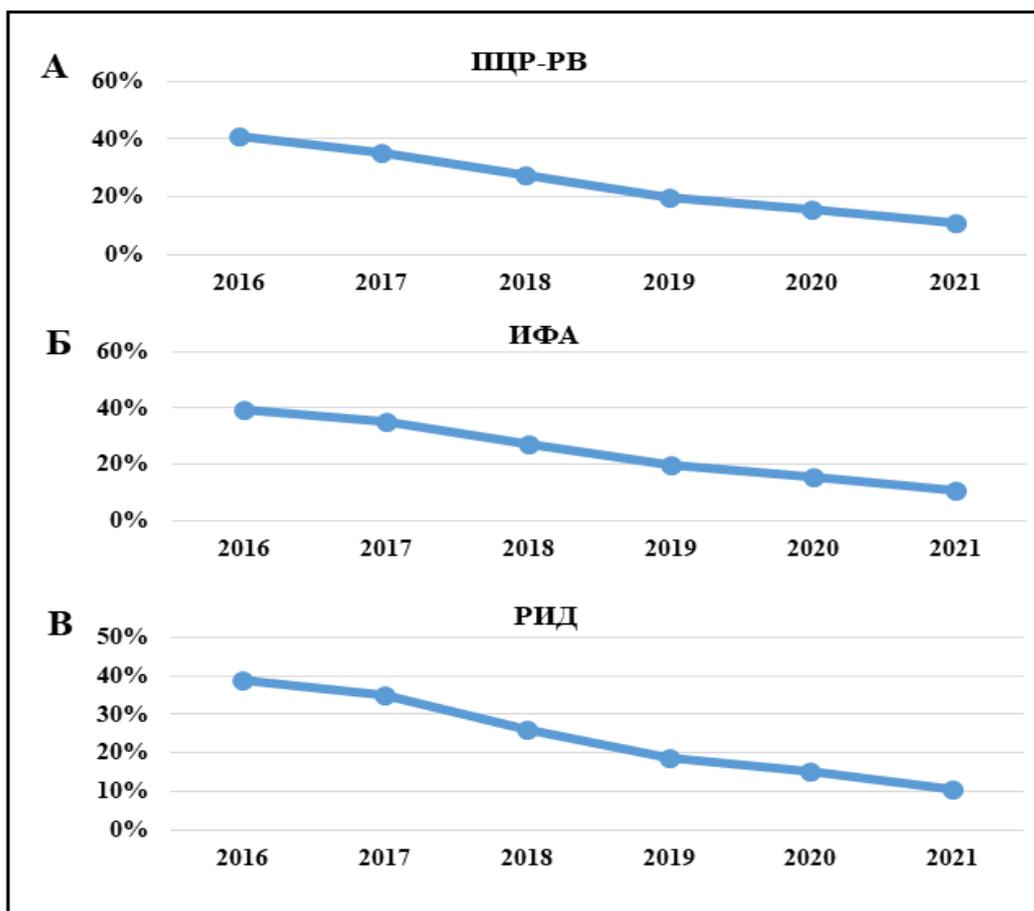


Рис. 2. Показатели инфицированности КРС возбудителем лейкоза по результатам ПЦР-РВ (А), ИФА (Б) и РИД (В) (в % от общего числа исследованного поголовья)

Библиографический список

1. Симонян, Г. А. Лейкоз крупного рогатого скота. Краткая история появления и распространения / Г. А. Симонян. – Текст: непосредственный // Farm Animals. – 2015. – № 3-10. – С. 28-31.
2. Камалов, Б. В. Эпизоотология лейкоза крупного рогатого скота в Республике Татарстан и организация оздоровительных мероприятий в хозяйствах / Б. В. Камалов. – Текст: непосредственный // Ученые Записки КГАВМ. – 2006. – Т. 182. – С. 171-177.
3. Эпизоотологические аспекты лейкоза крупного рогатого скота в Краснодарском крае / И. М. Донник, Г. А. Джаилиди, Е. В. Якубенко, С. В. Тихонов. – Текст: непосредственный // Ветеринария Кубани. – 2014. – № 2. – С. 15-18.

4. Гулюкин, М. И. Распространение лейкоза крупного рогатого скота и генетические варианты возбудителя на территории животноводческих хозяйств Центрального федерального округа Российской Федерации / М. И. Гулюкин, Н. Г. Козырева. – Текст: непосредственный // Ветеринария Кубани. – 2017. – № 6. – С. 4-9.
5. Самохвалов, С. В. Эпизоотическая ситуация по особо опасным и экономически значимым инфекционным заболеваниям в Российской Федерации / С. В. Самохвалов, З. А. Литвинова. – Текст: непосредственный // Проблемы зоотехнии, ветеринарии и биологии животных на Дальнем Востоке: сборник научных трудов. – Благовещенск, 2020. – С. 63-66.

6. Разумовская, В. В. Ретроспективный анализ эпизоотической ситуации по инфекции, вызываемой вирусом лейкоза крупного рогатого скота в Алтайском крае / В. В. Разумовская. – Текст: непосредственный // Аграрная наука – сельскому хозяйству: сборник материалов: в 2 книгах / XIII Международная научно-практическая конференция. – (15-16 февраля 2018 г.). – Барнаул: РИО Алтайского ГАУ, 2018. – Кн. 2. – С. 453-454.

7. Эпизоотическая ситуация в Российской Федерации, 2021 год. ФГБУ ВНИИЗЖ ИАЦ Управления ветнадзора г. Владимир. Информационно-аналитический центр Россельхознадзора: [сайт] – 2021. – URL: <https://fsvps.gov.ru/fsvps-docs/ru/iac/operative-messages/2021-09-02.pdf> (дата обращения: 24.05.2022). – Текст: электронный.

8. Патент 2644233 Рос. Федерация. № 2016109396 / 16. Способ экспресс-диагностики лейкоза КРС: / Никитин А. И.; заявл. 15.03. 2016; опубл. 02.08. 2018, Бюл. №4 14 с. – Текст: непосредственный.

9. Gorbunova, M.E., Safina, R.F., Usoltcev, K.V., et al. (2022). A New Approach to the Diagnosis of Enzootic Leukosis by Genetic Markers of Bovine Leukemia Virus. *Biointerface Research in Applied Chemistry*. 12 (4): 4448-4462. DOI: <https://doi.org/10.33263/BRIAC124.44484462>.

10. Инструкция по применению набора для выявления антител к вирусу лейкоза крупного рогатого скота в сыворотке крови и молоке иммуноферментным методом (вариант № 2 скрининг): утв. зам. руков. Россельхознадзора от 10.07.2010. – 6 с. – Текст: непосредственный.

11. Общая фармакопейная статья ОФС.1.8.2.0001.15 Иммунодиффузия в геле: принята Минздравом РФ 28.10.2015 // Государственная фармакопея Российской Федерации. – 2015. Изд. XIII. – Т. II. – Текст: непосредственный.

References

1. Simonian, G.A. Leikoz krupnogo rogatogo skota. Kratkaia istoriia poiavleniia i rasprostraneniia

/ G.A. Simonian // Farm Animals. – 2015. – No. 3-10. – S. 28-31.

2. Kamalov, B.V. Epizootologii leikoza krupnogo rogatogo skota v Respublike Tatarstan i organizatsiia ozdorovitelnykh meropriatii v khoziaistvakh / B.V. Kamalov // Uchenye Zapiski KGAVM. – 2006. – Т. 182. – С. 171-177.

3. Epizootologicheskie aspekty leikoza krupnogo rogatogo skota v Krasnodarskom krae / I.M. Donnik, G.A. Dzhailidi, E.V. Iakubenko, S.V. Tikhonov // Veterinariia Kubani. – 2014. – No. 2. – С. 15-18.

4. Guliukin, M.I. Rasprostranenie leikoza krupnogo rogatogo skota i geneticheskie varianty vzbuditelia na territorii zhivotnovodcheskikh khoziaistv Tsentralnogo federalnogo okruga Rossiiskoi Federatsii / M.I. Guliukin, N.G. Kozyreva // Veterinariia Kubani. – 2017. – No. 6. – С. 4-9.

5. Samokhvalov, S.V. Epizooticheskaia situatsiia po osobo opasnym i ekonomicheski znachimym infektsionnym zabolevaniiam v Rossiiskoi Federatsii / S.V. Samokhvalov, Z.A. Litvinova // Problemy zootekhnii, veterinariii i biologii zhivotnykh na Dalnem Vostoke: sbornik nauchnykh trudov. – Blagoveshchensk, 2020. – С. 63-66.

6. Razumovskaia, V.V. Retrospektivnyi analiz epizooticheskoi situatsii po infektsii, vyzvaemoi virusom leikoza krupnogo rogatogo skota v Altaiskom krae / V. V. Razumovskaia // Agrarnaia nauka – selskomu khoziaistvu: sbornik materialov: v 2 kn. / XIII Mezhdunarodnaia nauchno-prakticheskaiia konferentsiia (15-16 fevralia 2018 g.). – Barnaul: RIO Altaiskogo GAU, 2018. – Кн. 2. – С. 453-454.

7. Epizooticheskaia situatsiia v Rossiiskoi Federatsii, 2021 god. FGBU VNIIZh IATs Upravleniia vetnadzora g. Vladimir. Informatsionno-analiticheskii tsentr Rosselkhoznadzora: [sait] – 2021. – URL: <https://fsvps.gov.ru/fsvps-docs/ru/iac/operative-messages/2021-09-02.pdf> (data obrashcheniia: 24.05.2022).

8. Sposob ekspress-diagnostiki leikoza KRS: pat. 2644233 Ros. Federatsiia. No. 2016109396 / 16 / Nikitin A.I.; zaiavl. 15.03. 2016; opubl. 02.08. 2018, Biul. No.4. 14 s.

9. Gorbunova, M.E., Safina, R.F., Usoltcev, K.V., et al. (2022). A New Approach to the Diagnosis of Enzootic Leukosis by Genetic Markers of Bovine Leukemia Virus. *Biointerface Research in Applied Chemistry*. 12 (4): 4448-4462. DOI: <https://doi.org/10.33263/BRIAC124.44484462>.

10. Инструксия по применениу нabora дlia vyavleniia antitel k virusu leikoza krupnogo rogatogo

skota v syvorotke krovi i moloke immunofermentnym metodom (Variant No. 2 skринing): utv. Zam. Rukov. Rosselkhoz nadzora ot 10.07.2010. 6 s.

11. Obshchaia farmakopeinaia statia OFS.1.8.2.0001.15 Immunodiffuziia v gele: priniata Minzdravom RF 28.10.2015 // Gosudarstvennaia farmakopeia Rossiiskoi Federatsii, XIII izdanie. Tom II. 2015.



УДК 619:614.31:619:576.89:636.22/.28
DOI: 10.53083/1996-4277-2023-219-1-64-70

Н.А. Лунева, О.В. Кроневальд
N.A. Luneva, O.V. Kronewald

МОНИТОРИНГ ЭПИЗООТИЧЕСКОГО БЛАГОПОЛУЧИЯ АЛТАЙСКОГО КРАЯ ПО ПИЩЕВЫМ ПАРАЗИТАРНЫМ ЗООНОЗАМ

MONITORING OF EPIZOOTIC WELFARE OF THE ALTAI REGION IN TERMS OF FOOD-BORNE PARASITIC ZOO NOTIC DISEASES

Ключевые слова: эпизоотический мониторинг, ветеринарно-санитарная экспертиза, финноз, крупный рогатый скот, неблагополучные пункты, Алтайский край.

Приоритетным направлением деятельности ветеринарной службы должен быть мониторинг безопасности продукции животного происхождения и эпизоотологический надзор за зоонозными патологиями. Среди зоонозов, циркулирующих на территории России помимо инфекционных болезней серьезную угрозу человеку, также несут гельминтозы. Многолетние исследования свидетельствуют о том, что заражение животных зоонозными гельминтозами ежегодно регистрируется в Алтайском крае. При этом темпоральный процент инвазированности крупного рогатого скота цестодозами свидетельствует о тенденции к росту экстенсивности инвазии. Цель исследования – провести мониторинг эпизоотического благополучия Алтайского края по пищевым паразитарным зоонозам на основании результатов ветеринарно-санитарной экспертизы, на примере финноза крупного рогатого скота. Мониторинг за эпизоотической ситуацией по финнозу крупного рогатого скота по средствам ветеринарно-санитарной экспертизы осуществляли с 2016 по 2020 гг. Данные регистрации финноза были собраны и проанализированы на основании статистических данных испытательного центра КГБУ «Алтайский краевой ветеринарный центр по

предупреждению и диагностике болезней животных». Финноз ежегодно регистрируется при проведении ветеринарно-санитарной экспертизы туш крупного рогатого скота. Финны обнаруживают в мышцах головы, сердца, межреберья, языка, а также в головном мозге. Интенсивность инвазии в большинстве случаев низкая. Зараженные туши направляют на промораживание с дальнейшей промышленной переработкой в колбасные изделия. Финноз регистрируется в центральной части края, с максимальным охватом в двенадцать районов. Данные эпизоотического мониторинга свидетельствуют о уменьшении количества неблагополучных районов, поэтому можно сделать вывод о том, что ветеринарная служба края успешно ведет работу по предотвращению распространения инвазии. На примере финноза крупного рогатого скота мы подтвердили, что мониторинг результатов ветеринарно-санитарной экспертизы позволяет оценить эпизоотическую ситуацию по пищевым паразитарным зоонозам и скорректировать меры борьбы и профилактики.

Keywords: epizootic monitoring, veterinary and sanitary examination, cysticercosis, cattle, contamination areas, Altai Region.

The priority activity of the veterinary service should be monitoring the safety of products of animal origin and epidemiological surveillance of zoonotic pathologies. Among