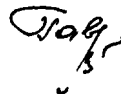


На правах рукописи



Гаврилова Галина Антоновна

ЭПИЗООТИЧЕСКИЙ ПРОЦЕСС ТУБЕРКУЛЕЗА И ЛЕЙКОЗА
КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА НА ДАЛЬНЕМ ВОСТОКЕ
И СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ МЕТОДОВ ДИАГНОСТИКИ

16. 00. 03 - ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология,
микология с микотоксикологией и иммунология

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени
доктора ветеринарных наук

Москва - 2005

Работа выполнена в Государственном учреждении Дальневосточном зональном научно-исследовательском ветеринарном институте

Научные консультанты:

доктор ветеринарных наук,
профессор, член-корреспондент РАСХН
заслуженный деятель науки РФ
Макаров Юрий Анатольевич

доктор ветеринарных наук,
профессор, член-корреспондент РАСХН
Гулюкин Михаил Иванович

Официальные оппоненты:

Доктор ветеринарных наук Найманов Али Хусинович (ВИЭВ)
Доктор биологических наук Букова Наталия Константиновна (ВГНКИ)
Доктор биологических наук,
профессор Валихов Алексей Федорович (МГУПБ)

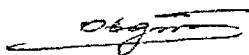
Ведущая организация - Всероссийский научно-исследовательский институт бруцеллеза и туберкулеза животных (г. Омск)

Защита состоится «29» июня 2005 г. в 14 часов на заседании диссертационного совета Д 006.033.01 в ГНУ Всероссийском научно-исследовательском институте экспериментальной ветеринарии им. Я.Р. Коваленко (109428, Москва, Рязанский проспект, 24, кор. 1.)

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ВИЭВ

Автореферат разослан «24» мая 2005 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
профессор



Овдиенко Н.П.

Общая характеристика работы

Актуальность темы. Лейкоз и туберкулез продолжают оставаться наиболее сложно решаемыми проблемами инфекционной патологии животных. Несмотря на то, что для борьбы с ними предложены экономически обоснованные и высокоэффективные мероприятия, проблема лейкоза и туберкулеза еще далека от окончательного решения. Это связывают с тем, что в последние десятилетия всё отчетливее проявляются изменения в характере инфекционных заболеваний, связанные с сущностью причинно-следственных отношений, складывающихся между микро- и макроорганизмом (Г.Ф. Коромыслов и др., 1993; П.Н. Смирнов и соавт., 1992; А.М. Смирнов, 1998; В.П. Шишков, 1998; М.И. Гулюкин и соавт., 1999; А.С. Донченко и соавт., 2004).

В оздоровленных от туберкулеза хозяйствах часто регистрируются повторные вспышки туберкулеза (А.И. Кузин, 1977, 1980, 1987, 1990; Д.Д. Новак, 1977; В.П. Урбан, 1980, 1982, 1995; В.С. Федосеев и соавт., 1980, 1981, 1985; В.С. Федосеев, 1986; К. Neilicek et. al 1970, 1982), успех ликвидации болезни во многом зависит от своевременной комплексной диагностики (А.С.Донченко и соавт., 2004).

Серьезной проблемой является ассоциативное течение лейкозной инфекции с вирусными (Ю.П. Царев, 2001) и бактериальными инфекциями (М.С. Аянитова, 2001; Ю.П. Смирнов, 2004), в том числе с туберкулезом (Д.Д. Яблоков и соавт., 1971; Е.Д. Пономарева и соавт., 1972; В.В. Смирнова, 1986; 1992; В.И. Пионтовский, 2001; В.В. Храмцов и соавт., 2001). Установлено, что в подавляющем большинстве случаев как первичные так и вторичные формы туберкулеза протекали очень тяжело с генерализацией лейкозного процесса и осложнения туберкулезного процесса лейкозом (Д.Д. Яблоков и соавт., 1971; Е.Д. Пономарева и соавт., 1972). В.В. Смирновой (1992) отмечено, что при ассоциации туберкулеза с лимфоидным лейкозом, лимфосаркомой и лимфогранулематозом изменения, характерные для обоих заболеваний, развивались независимо одно от другого с преобладанием изменений, характерных для гемобластозов, особенно это выражено в лимфатических узлах. Автор делает вывод, что сочетанное течение туберкулеза и лейкоза приводит к более злокачественному течению заболеваний, поскольку оба они связаны с поражением (вовлечением в патологический процесс) органов иммунной системы и изменением реактивности организма в целом.

Описаны многочисленные морфологические варианты микробактерий, отличающиеся от типичной палочковидной формы, среди которых особого внимания заслуживают бактерии, дефектные по клеточной стенке - Л-формы (З.Н. Кочемасова с соавт., 1980; З.С. Земскова и соавт., 1984; В.И. Голышевская и соавт., 1989; В.И. Голышевская, 2004). Повреждения,

связанные с дефектом или частичной утратой клеточной стенки, вызывают глубокие морфологические и функциональные изменения микроба, при этом он сохраняет способность длительно персистировать в макроорганизме, а также реверсировать в исходный микробный вид, вызывая при определенных условиях развитие эпизоотического процесса.

С изменением патоморфологии туберкулеза, сочетающей как специфические, так и неспецифические морфологические реакции с выраженным аллергическим компонентом и персистенцией возбудителя в Л-форме (И.Р. Дорожкова, 1974; А.И. Струков и соавт., 1986; В.И. Голышевская, 2004) все большее значение приобретают методы лабораторной диагностики, из которых основным является бактериологическое исследование. Метод позволяет контролировать состояние стада по туберкулезу путем исследования биоматериала от убитых с диагностической целью животных, имеющих аллергические реакции или характерные для туберкулеза патологоанатомические изменения.

Особо важное значение бактериологический метод приобретает при установлении диагноза на туберкулез в зонах, где широко регистрируют аллергические реакции на введение туберкулина без характерных для туберкулеза поражений органов и тканей, а также поражений, носящих локальный характер (В.Е. Щуревский, 1970, 1980, 1981; В.П. Урбан, 1980; В.П. Урбан и соавт., 1984; Н.П. Овдиенко, 1986,1989; Н.П. Овдиенко с соавт., 1990).

Эффективность бактериологических исследований в большинстве случаев не превышает 40-50 %. Исследования, проведенные А.И. Кузиным (1977, 1980, 1987), М.А. Сафиным (1980,1981,1985,1986), А.С. Донченко и соавт. (1980), И.В. Коваленко (1986, 1989), Ю.А. Макаровым и соавт. (1991), Ю.А. Макаровым (1991,1993, 1995, 1997) показали, что эффективность лабораторной диагностики можно повысить до 90-100 %, если при исследовании биоматериала учитывать не только типичные бактериальные, но и измененные (Л-) формы возбудителя туберкулеза.

Отсутствие достаточных знаний о роли Л-форм микобактерий туберкулеза не позволяет пока оценить истинное значение этих форм в эпизоотическом процессе и эффективности противотуберкулезных мероприятий. Сущность проблемы заключается в том, что возбудитель туберкулеза, проникший в организм животного в момент его первичного инфицирования, может изменять свои морфологические и биологические свойства, превращаясь в Л-формы или близкие им варианты, способные длительно существовать в организме. Снижение реактивности организма хозяина или воздействие каких-либо других неблагоприятных факторов могут способствовать реверсии Л-форм в вирулентную бактериальную культуру со свойственными ей особенностями метаболизма, размножения и тд. (Ю.А. Макаров, 1995,1997) и, как следствие, непрерывности эпизоотического процесса.

В связи с этим разработка более надежных методов и средств диагностики туберкулеза остается важнейшей задачей исследователей. Особый интерес представляет

бактериологический метод диагностики Л- форм микобактерий туберкулеза, пока не нашедший применения в лабораторной практике. Не менее важна проблема прижизненной диагностики лейкоза крупного рогатого скота, основанная на базе имеющихся методов серологического исследования, позволяющая диагностировать заболевание животных лейкозом с учетом развития инфекционного процесса.

Цель работы - изучить особенности проявления эпизоотического процесса туберкулеза и лейкоза крупного рогатого скота на Дальнем Востоке и усовершенствовать методы их диагностики для повышения эффективности противоэпизоотических мероприятий

Основные задачи исследований:

- изучить особенности проявления эпизоотического процесса туберкулеза и лейкоза крупного рогатого скота на Дальнем Востоке;
- изучить роль Л-форм микобактерий туберкулеза, выделенных из биоматериала от реагирующих на туберкулин животных, в проявлении аллергических реакций и рецидивах туберкулеза крупного рогатого скота в оздоровленных хозяйствах;
- выявить связь тканевых проявлений при скрыто протекающей туберкулезной инфекции с появлением персистирующих форм возбудителя туберкулеза;
- определить диагностическую ценность культурального метода и метода биологических пассажей для выявления скрыто протекающих форм туберкулезной инфекции у крупного рогатого скота;
- выявить зависимость между загрязнением окружающей среды и кормов пестицидами, нитратами и нитритами и инфицированностью крупного рогатого скота ВЛКРС и туберкулезом;
- изучить взаимосвязь титров антител к антигенам ВЛКРС при серологической (РИД) диагностике лейкоза крупного рогатого скота с гематологическими показателями инфицированных животных и возможность использования РИД для выявления больных лейкозом животных;
- выяснить влияние инфицированности вирусом лейкоза на проявление туберкулиновых реакций у крупного рогатого скота при исследовании на туберкулез.

Научная новизна. Получены экспериментальные данные, подтверждающие роль Л-форм возбудителей туберкулеза в проявлении аллергических реакций у крупного рогатого скота.

Подтверждена реверсия культур Л-форм микобактерий туберкулеза в исходный бактериальный вид, доказана возможность использования культурального метода и метода многократных повторных биологических пассажей биоматериала для лабораторной диагностики скрыто протекающих форм туберкулеза.

Установлено, что Л-формы микобактерий туберкулеза обладают способностью вызывать у экспериментальных животных латентный туберкулезный процесс с четко выраженным неспецифическим компонентом, не свойственным типичной туберкулезной инфекции.

Показано, что персистенция Л-форм возбудителей туберкулеза в организме крупного рогатого скота обуславливает латентное (скрытое) течение туберкулезного процесса.

Установлено, что повторные вспышки туберкулеза крупного рогатого скота связаны с наличием в организме животного Л-форм микобактерий туберкулеза, длительно персистирующих в макроорганизме и реверсирующих в исходное состояние при стрессовых ситуациях.

Проведен анализ пестицидной нагрузки на сельскохозяйственные угодья, где в течение 35 лет объемы применения химических средств защиты на 1 га пашни превышали средний показатель по России. Установлено загрязнение почвы, продукции растениеводства остаточными количествами гербицидов, ртутью, кормов и воды - нитратами.

Выявлено негативное влияние загрязнителей на организм крупного рогатого скота и показана зависимость между их содержанием в кормах и воде и инфицированностью животных ВЛКРС.

Впервые получены экспериментальные данные, показывающие, что при спонтанном инфицировании животных вирусом лейкоза в раннем возрасте или в пренатальный период происходит постепенное нарастание титра антител к антигенам вируса лейкоза крупного рогатого скота в возрастной динамике с параллельным изменением гематологических показателей в сторону их увеличения, что указывает на развитие инфекционного процесса.

Научно обоснован способ выявления больных лейкозом животных с использованием РИД, определена его диагностическая ценность. Совпадение высоких титров антител с выходящими за пределы нормы относительными и абсолютными показателями лимфоцитов периферической крови серопозитивных животных является прямым подтверждением развивающейся в организме животных лейкозной патологии

Установлено, что инфицированных ВЛКРС животных, реагирующих при исследовании РИД в разведении 1: 8 и выше, следует относить к больным лейкозом независимо от их гематологических показателей. Это подтверждено тем, что у инфицированных ВЛКРС животных, реагирующих в указанных титрах (1: 8 и >), даже при отсутствии повышенного количества лейкоцитов крови и, естественно, не превышающем норму содержания абсолютного количества лимфоцитов, относительное содержание лимфоцитов выше допустимой нормы, что отражает последовательное развитие болезни.

В широком производственном опыте показано отсутствие влияния инфицированности вирусом лейкоза на проявление туберкулиновых реакций у крупного рогатого скота при исследовании на туберкулез.

Практическая значимость. Дополнение лабораторной диагностики туберкулеза двумя новыми диагностическими тестами - методом культивирования и методом многократных биологических пассажей биоматериала на морских свинках для выделения Л-форм микобактерий - повышает информативность и практическую ценность диагностики туберкулеза, позволяет своевременно диагностировать скрытое течение туберкулезной инфекции (латентный микробизм) и надежно контролировать эпизоотическую ситуацию по туберкулезу крупного рогатого скота.

Способ выявления больного лейкозом крупного рогатого скота с использованием РИД упрощает выявление больных лейкозом животных, сокращает срок нахождения их в стаде, тем самым способствует снижению напряженности эпизоотической ситуации по лейкозу, дает возможность при однократном взятии для серологического в РИД исследования крови крупного рогатого скота на лейкоз повторного использования испытуемых положительно прореагировавших в РИД сывороток крови, прост в выполнении, не требует больших материальных затрат, дополнительных реактивов и времени на проведение гематологических исследований, доступен любой ветеринарной лаборатории.

Полученные материалы в совокупности с данными ряда других научных учреждений явились основой для разработки научных и практических рекомендаций по совершенствованию лабораторной диагностики туберкулеза с учетом Л-трансформации микобактерий и серологической диагностики лейкоза крупного рогатого скота.

Основные положения, выносимые на защиту:

- особенности эпизоотической ситуации по туберкулезу и лейкозу крупного рогатого скота в регионе Дальнего Востока;
- результаты научных исследований о роли Л-форм микобактерий в проявлении аллергических туберкулиновых реакций, скрыто протекающей туберкулезной инфекции, рецидивах туберкулеза;
- данные о возможности использования серологического теста РИД для выявления больных лейкозом крупного рогатого скота животных;
- материалы о влиянии инфицированности животных ВЛКРС на проявление туберкулиновых реакций.

Реализация результатов исследований.

Материалы исследований вошли в следующие разработки и нормативные документы:

1. Дифференциация туберкулиновых реакций у крупного рогатого скота (рекомендации). Утверждены и одобрены для внедрения НТС АПК Амурской области (1989).

2. Бактериологический контроль при проведении аллергических исследований на туберкулез крупного рогатого скота (рекомендации). Утверждены и одобрены для внедрения НТС АПК Амурской области, секцией ветеринарии ДВО ВАСХНИЛ (1990).

3. Методические рекомендации. Проведение ветеринарных мероприятий в Амурской области. ВАСХНИЛ: Сиб. отд.-ние. ДальЗНИВИ. Благовещенск, 1988.- 60 с.

4. Выделение и индикация Л-форм микобактерий туберкулеза (рекомендации). Утверждены и одобрены для внедрения НТС АПК Амурской области, секцией ветеринарии ДВО РАСХН (1991).

5. Наставление по диагностике туберкулеза животных. М.: Утверждено Деп. ветеринарии МСХ РФ, 2002.

6. Способ выявления больных лейкозом крупного рогатого скота животных: Пат. 2200955 РФ: МнК⁷ G 01 N 33/53/ X° 2001106465/13; Заявл.07.03.01. Опубл.20.03.03., Бюл. № 8. - 4 с.

7. Методические рекомендации. Выявление больного лейкозом крупного рогатого скота с использованием РИД (рассмотрены Бюро ОВМ РАСХН, 2002). РАСХН: ДВНМЦ. ДальЗНИВИ. - Благовещенск, 2004. - 13 с.

8. Заявка 2004107917 Российская Федерация, МПК⁷ G 01N 33 / 48. Способ выявления больных лейкозом крупного рогатого скота животных при алейкемическом и лейкопеническом проявлениях болезни /Ю.А. Макаров, Г.А. Гаврилова, Ю.А. Гаврилов, С.В. Бахметьева; заявитель Дальневост. зон. науч. - исслед. ветеринар, ин - т. - № 2004107917 / 15 ; заявл. 17. 03. 04.

Внедрение материалов диссертации позволило оздоровить 120 неблагополучных пунктов в Амурской области, Хабаровском и Приморском краях, исключить заболевание туберкулезом в 11 хозяйствах Амурской области, Приморском и Хабаровском краях, диагностировать рецидивы туберкулеза в 12 хозяйствах Приморского края. Усовершенствованный способ выявления больных лейкозом крупного рогатого скота животных с использованием РИД ускоряет выявление больных лейкозом животных, сокращает срок нахождения их в стаде, тем самым способствует снижению напряженности эпизоотической ситуации по лейкозу.

Апробация работы. Материалы диссертации доложены и обсуждены на областной научно-производственной конференции "Ветеринарная наука на службе АПК" (г. Благовещенск, 1988); на региональной научно-производственной конференции "Профилактика и ликвидация основных болезней сельскохозяйственных животных на Дальнем Востоке" (г. Благовещенск, 1989); на заседании ОНКвет (г. Москва, 1990); на секции животноводства и ветеринарки Президиума ДВО РАСХН (г. Хабаровск, 1991); на научно-практической конференции "Основные научные исследования по проблеме туберкулеза и

бруцеллеза сельскохозяйственных животных, профилактика и организация мероприятий по ликвидации болезней в регионе Сибири" (г. Новосибирск, 1995); на научной сессии Президиума ДВО РАСХН (г. Благовещенск, 1995); на Международной научно-производственной конференции, посвященной 100-летию В.Г. Котова "Экологические аспекты эпизоотологии и патологии животных" (г. Воронеж, 1999); на международной науч. конф. "Болезни животных Дальнего Востока" (г. Благовещенск, 1999); на Втором международном симпозиуме "Миграция тяжелых металлов и радионуклидов в звене: почва-растения (корм, рацион) — животное - продукты животноводства" (г. Великий Новгород, 2000); на международной конференции "Теоретические и практические аспекты возникновения и развития болезней животных и защита их здоровья в современных условиях" (г. Воронеж, 2000); на республиканской научно-практической конференции "Роль сельскохозяйственной науки в стабилизации и развитии агропромышленного производства Крайнего Севера" (г. Якутск, 2001); на Второй научной конференции с международным участием "Проблемы инфекционной патологии в регионах Сибири, Дальнего Востока и Крайнего Севера" (г. Новосибирск, 2002); на совместном заседании Бюро ОВМиЗ РАСХН "Опыт и стратегия борьбы с лейкозом крупного рогатого скота в племенных хозяйствах России" (г. Москва, 2002); на международной научно-практической конференции "Современные проблемы диагностики и профилактики туберкулеза животных" (г. Москва, 2003); на выездном заседании совета ДВНМЦ РАСХН и научно-практической конференции "О племенной работе в животноводстве Дальнего Востока" (г. Южно-Сахалинск, 2003); на научной сессии ДВНМЦ РАСХН «Аграрная наука Дальнего Востока: проблемы и пути их решения» - к 75-летию образования РАСХН (г. Благовещенск, 2004); на международной научно-практической конференции «Биологические ресурсы Российского Дальнего Востока» (г. Благовещенск, 2004); ученых советах ДальЗНИВИ (1986 - 2004 гг.), экспертных советах АПК Амурской области (1996 - 2001, 2003 гг.).

Материалы диссертации опубликованы в 43 научных работах, рекомендациях, методических рекомендациях, имеется патент РФ на изобретение.

Структура и объем работы. Диссертация изложена на 374 страницах компьютерного текста на русском языке. Содержит введение, обзор литературы, собственные исследования, обсуждение полученных результатов, выводы, рекомендации производству, библиографический указатель использованной литературы и приложения. Список использованной литературы включает 688 источников, в том числе 101 иностранных авторов. Работа иллюстрирована 51 таблицей и 20 рисунками.

Отдельные исследования выполнены в соавторстве с Ю.А. Макаровым, Г.А. Васильченко, С.Г. Хариной, Ю.А. Гавриловым, С.В. Бахметьевой, А.А. Григоренко.

СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Материал и методы исследований

Работа выполнена в 1986-2004 гг. в лаборатории эпизоотологии, диагностики и профилактики туберкулеза сельскохозяйственных животных и лаборатории вирусологии ДальЗНИВИ, в хозяйствах Дальнего Востока в соответствии с государственными научно-техническими заданиями, планами НИР ДальЗНИВИ (№№ гос. рег. 01.87.0089878; 01.87.0089879; 01.9.10.050202; 01.99.0010757; 01.2.00306833) и договорами с АПК Амурской области (№ 4-х; № 10-99; № 10-01).

Использовали эпизоотологический, бактериологический, серологический (РИД), гематологический, патоморфологический методы исследований и биологических пассажей.

Для выяснения эпизоотического состояния хозяйств Дальнего Востока по туберкулезу крупного рогатого скота изучали статистические данные ветеринарной отчетности и мясокомбинатов, аллергических исследований. Принимали непосредственное участие в проведении аллергических исследований крупного рогатого скота на туберкулез. Ветеринарно-санитарной экспертизе подвергли 1332 туши крупного рогатого скота, реагировавшие и не реагировавшие на туберкулин. Аллергические и патологоанатомические исследования проводили по общепринятым методикам.

Бактериологически материал исследовали согласно "Наставлению по диагностике туберкулеза животных" (1986), "Методическим рекомендациям по выделению Л-форм микобактерий туберкулеза", утв. МЗ СССР (1984).

При выполнении экспериментов провели выделение микобактерий туберкулеза и Л-форм микобактерий туберкулеза методом посева из органов и тканей крупного рогатого скота, реагирующего на туберкулин, с поражениями, характерными для туберкулеза и без видимых туберкулезных поражений.

При экспериментальном изучении степени патогенности выделенных культур Л-форм микобактерий использовали ранее разработанные и изученные модели патологических процессов, вызываемых типичными формами микобактерий. Опыт поставлен на 119 морских свинках. Для заражения использовали выделенные культуры Л-форм возбудителя туберкулеза бычьего вида, а также штамм "Vallee" микобактерий туберкулеза бычьего вида.

Бактериологическое исследование проводили как с целью выделения типичных бактериальных, так и Л-форм микобактерий туберкулеза.

При изучении эпизоотической ситуации использованы методики эпизоотологического обследования, описанные И.А. Бакуловым и соавт. (1974, 1979, 1982), С.И. Джупиной, В.А. Ведерниковым (1981), С.И. Джупиной (1991, 1994, 1998).

Количественную оценку напряженности эпизоотической ситуации определяли с использованием рекомендаций М.Г. Таршис с соавт. (1972) и И.А. Бакулова (1979). Приуроченность инфекции к определенной территории выясняли путем сопоставления показателей заболеваемости животных. Доказательство корреляционной зависимости эпизоотического процесса от различных этиологических факторов подтверждали математическими методами, где учитывали усредненный показатель достоверности различий при альтернативном варьировании, корреляцию рангов вариационных рядов (М.Г. Таршис, В.М. Константинов, 1975; А.Т. Лебедев, 1976).

Для выполнения экспериментальной части работы при изучении латентного микробизма *я* качестве биоматериала использовали гиперплазированные лимфатические узлы от животных с положительной реакцией на туберкулин без видимых туберкулезных поражений. Применен метод биологических пассажей на морских свинках.

Экспериментальную работу осуществляли в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных», утвержденных приказом № 755 МЗ СССР от 12.07.1977. Животных содержали в виварии института. Порядок и правила забора биоматериала изложены в наставлении по диагностике туберкулеза животных (ГУВ МСХ СССР 25.02.86). Для повышения чувствительности лабораторных животных к ослабленным микобактериям туберкулеза в ряде пассажей использовано внутримышечное введение морским свинкам 12,5 мг кортизона.

Для заражения использовали *M.bovis* (шт. Vallee), нестабильные (Серышево-88) и условно-стабильные культуры Л-форм *M. bovis* (Серышево-87). В качестве экспериментальной модели было взято 119 морских свинок с массой 250 - 300 г. Их разделили на 4 группы. Первая группа (24 гол.) заражена по 0,5 мл суспензии, содержащей 0,001 мг полусухого веса культуры *M. bovis* (шт. Vallee), вторая (35 гол.) - по 0,5 мл суспензии из расчета 5 колоний нестабильной культуры *M. bovis* (Серышево, 88) третья (30 гол.) - по 0,5 мл суспензии из расчета 10 колоний условно-стабильной культуры *M. bovis* (Серышево, 87) каждому животному. Четвертая группа - контрольная (30 морских свинок). Инфект вводили подкожно в паховую область. Продолжительность опыта - 4 месяца. Через сутки, а далее каждые две недели, проводилось обескровливание трех морских свинок из каждой группы, включая контрольную. Морфологические изменения в органах животных изучали на вскрытии и гистологически.

Многочисленные биологические пассажи выполнены на 89 морских свинок. Животных заражали подкожно гомогенатом субстрата и подвергали эвтаназии после предварительной постановки туберкулиновых проб через 1,5 - 3 мес. после заражения.

Параллельно проводили микробиологическое исследование материала, которое включало бактериоскопию окрашенных по Цилю-Нильсену мазков и серию культуральных исследований согласно наставлению по диагностике туберкулеза животных (1986).

Для культивирования бактериальных форм микобактерий туберкулеза использовали плотные питательные среды Левенштейна-Иенсена, Финн-2. Для культивирования Л-форм микобактерий ютовили полужидкую среду Школьниковой (И.Р. Дорожкова, 1984).

Бактериологически исследован биоматериал от 507 животных. Проведено 2656 посевов биоматериала на наличие бактериальных и Л-форм микобактерий туберкулеза.

Исследование на Л-формы микобактерий туберкулеза проводили согласно "Методическим указаниям по выделению Л-форм микобактерий туберкулеза из патологического материала" (И.Р. Дорожкова и соавт., 1980). Выделенные культуры Л-форм микобактерий пассировали на среде Школьниковой с целью получения реверсии. При отсутствии реверсии в течение 5 - 6 последовательных пассажей культуры относили к условно-стабильным. Все выделенные при посеве или полученные в результате реверсии культуры микобактерий изучали согласно приказу № 558 от 08. 06. 78. "Об унификации микробиологических исследований при туберкулезе".

При изучении эпизоотологических аспектов лейкоза использовали рекомендации И.А. Бакулова (1979), ретроспективные и экспериментальные приёмы и способы исследований (В.А. Бусол.1988). Используются данные ветеринарной отчетности, материалы областных и краевых ветеринарных лабораторий, данные мясокомбинатов, убойных пунктов, собственных исследований. Исследования проводили согласно методическим указаниям по диагностике лейкоза крупного рогатого скота (1989,2000).

Для выявления инфицированных животных использовали реакцию иммунодиффузии (РИД) в агаровом геле согласно наставлению (1987). Применяли наборы Курской биофабрики. Для гематологических исследований использовали стабилизированную 10 %-ным раствором трилона Б кровь. Количество лейкоцитов определяли в камере Горяева, лейкоцитарную формулу выводили в мазках крови, окрашенных по Паппенгейму. Показатели абсолютного количества лимфоцитов оценивали по "лейкозному ключу".

При обнаружении в испытуемой сыворотке крови антител к антигенам ВЛКРС серологические исследования повторяли после её разведения, начиная с разведения 1:2. Исследовано 7287 проб крови крупного рогатого скота, в том числе от коров — 4797, телок разного возраста - 1997, бычков - 493 гол.

Для изучения распространения ВЛКРС-инфекции среди быков-производителей работа проведена в 73 хозяйствах 9 районов Приамурья, представленных колхозами, ООО, ТОО, СХА, агрофирмами, СП, ЗАО, СПК, КФХ, ОПХ, учхозом, частным сектором и подсобным

хозяйством. Исследовано 188 имеющих статус племенных быков-производителей 4 пород. При обнаружении антител к вирусу лейкоза серологические исследования проводили в титрах до предельного разведения.

Уровень естественной резистентности животных оценивали по содержанию общего белка сыворотки крови, который определяли биуретовой реакцией, белковых фракций сыворотки крови - турбометрически, фагоцитарной активности нейтрофилов (ФА), фагоцитарного индекса (ФИ), фагоцитарного числа (ФЧ) по Емельяненко (1980), лязоцимной активности (ЛА) сыворотки крови по Дорофейчику (1968), циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) методом преципитации в 3,5%- ном растворе полиэтиленгликоля. Выполнено 990 анализов.

Для изучения неспецифических защитных факторов и специфического иммунного ответа у животных, находящихся на разных стадиях инфекционного процесса лейкоза, провели исследование 27 коров. Кроме вышеперечисленных показателей определяли титр нормальных антител (ТНАТ), элиминирующую способность крови (ЭСК). Исследования проведены в трехкратной повторности.

Исследования по изучению динамики титров антител к антигенам ВЛКРС выполнены в базовом хозяйстве № 2 (колхоз «Искра» Ивановского района Амурской области). В производственном опыте было 174 телочки, которых в двухмесячном возрасте метили жидким азотом порядковыми номерами от № 1 до № 174. Содержание и кормление групповое. Наблюдения и серологические (РИД) исследования крови проводили на одних и тех же животных от рождения до 39-месячного возраста. При обнаружении антител к антигенам вируса лейкоза отбирали сыворотки крови, положительно прореагировавшие в РИД, проводили их разведение в 2, 4, 8, 16 и т. д. раз до предельного разведения, при котором обнаруживались антитела к антигенам ВЛКРС. Проведено 12803 исследования.

Оборудование и реактивы. Для разведения испытуемой положительной в РИД нативной сыворотки крови дополнительно к перечисленному в разделе 2.1.4. «Методических указаний по диагностике лейкоза крупного рогатого скота» (2000) оборудованию требуются стандартные планшеты для серологических реакций.

Разведение сыворотки крови. Физиологический раствор разливали в лунки стандартных планшетов для серологических реакций (количество лунок соответствует числу необходимых разведений). В первую лунку с физраствором вносили такой же объем испытуемой положительной в РИД сыворотки крови, тщательно перемешивали, той же пипеткой в том же объеме переносили в следующую лунку, затем после тщательного перемешивания — в следующую лунку и т.д. В результате в первой лунке испытуемая положительная сыворотка разведена в 2 раза, во второй - в 4 раза, в третьей - в 8 раз, в четвертой - в 16 раз. С разведенной сывороткой дополнительно проводили РИД.

Постановка РИД в разведениях. Антиген, контрольные сыворотки и испытуемую положительную сыворотку крови, разведенную физраствором, вносили в лунки одной фигуры пастеровскими или автоматическими пипетками как при постановке РИД с нативной сывороткой крови. Отличием являлось то, что все 4 периферические лунки одной фигуры в чашке Петри заполняли разведенной в 2, 4, 8, 16 раз испытуемой положительной сывороткой крови одного животного. Лунки заполняли доверху, не допуская переливания жидкости через край. После заполнения всех лунок чашки Петри закрывали крышками и инкубировали во влажной камере при температуре 22 - 27° С.

Учет и оценка результатов реакции. Реакцию учитывали как при учете РИД с нативной сывороткой: не ранее, чем через 48 ч и не позднее, чем через 96 ч. Чашки просматривали на темном фоне, направляя сфокусированный луч осветителя на дно чашки под углом 30 - 45°. Специфичность реакции оценивали по контрольной линии преципитата. Специфическая линия преципитации, формируемая контрольной сывороткой и антигеном, должна быть четкой, иметь форму прямой, располагаться на одинаковом расстоянии от лунок с антигеном и контрольной сывороткой. При оценке реакции учитывали то максимальное разведение, при котором образуется специфическая линия преципитации, которая соединяется с полосой преципитации контрольной сыворотки, образуя непрерывную линию.

Если испытуемая сыворотка крови при ее разведении в 16 раз имела положительную реакцию, продолжали ее разведение в 32 и т.д. раза.

Проведен предубойный осмотр 46 серопозитивных животных, в т.ч. с гематологическими изменениями и патологоанатомическая экспертиза органов. Кусочки сердца, печени, почек, селезенки, лимфатических узлов отбирали для гистологического исследования. После фиксации материала в 10%-ном водном растворе нейтрального формалина и заливки в парафин изготовлено и изучено 386 препаратов, окрашенных гематоксилин-эозином.

Выяснение влияния инфицированности животных вирусом лейкоза на проявление туберкулиновых реакций у крупного рогатого скота проводили путем анализа и сопоставления результатов исследования на лейкоз и на туберкулез. Наблюдали 415 коров. Аллергические исследования на туберкулез проводили согласно наставлению по диагностике туберкулеза животных (1986), на лейкоз - РИД в соответствии с методическими указаниями по диагностике лейкоза крупного рогатого скота (2000)

Основные экологические исследования выполнены в Приамурье. Интенсивность химизации изучали на основании анализа ежегодных отчетов агрохимических служб о количестве вносимых на поля минеральных удобрений, отчетов станций защиты растений о применении пестицидов и результатов собственных исследований.

Комплексные исследования по изучению накопления, миграции и воздействия пестицидов, тяжелых металлов, нитратов и нитритов на компоненты агроэкосистем по схеме почва - растение (корма) - животное проводились в двух базовых хозяйствах : № 1 - ОПХ ВНИИ сои Тамбовского района; № 2 - колхоз "Искра" Ивановского района Амурской области.

Содержание ртути в почве, растениях определяли по методике ГКСЭН на универсальном ртутном газоанализаторе АГП-01. Тяжелые металлы в почве, растениях определяли согласно методическим указаниям ГКСЭН атомно-абсорбционным методом на атомно-абсорбционном спектрофотометре "Хитачи" модель 180 (ГОСТ 26929-94, 1993; МУ, 1992).

Для определения загрязнения растений, кормов, почвы исследования проводились на полях кормовых севооборотов и пастбищах. Исследовали многолетние травы, кукурузу, зерносмеси, сенаж, силос, зерно на фураж.

В течение вегетационного периода отбирали образцы зеленых растений для определения возможности накопления нитратов в кормах. Воду из водоёмов, расположенных рядом с пастбищами и полями, анализировали на содержание нитратов и нитритов. Содержание нитратов определяли колориметрическим методом (МУ, 1981; В.И. Антонов и соавт., 1989).

Для определения остаточных количеств гербицида 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты (2,4-Д) на полях с зерновыми культурами отобрано 356 образцов зерна и соломы. Исследования проводили по методике из сборника «Методы определения микроколичеств пестицидов в продуктах питания, кормах и внешней среде» (1983). Содержание 2,4-Д в растительном материале определяли методами тонкослойной хроматографии на пластинках "Силуфол", газожидкостной хроматографии с термоионизационным детектором на хроматографе "Сигма-2" (М.А. Клисенко и соавт., 1992). Выполнено 1566 анализов.

Химии отоксикологический анализ крови животных на содержание нитратов, нитритов, метгемоглобина проводили при каждом контрольном исследовании.

Статистическая обработка полученных данных проведена по И.А.Ойвину (1960). Полученные данные обработаны с помощью методов альтернативного варьирования и вариационной статистики. Среднее геометрическое (М. геом.), среднее арифметическое (М), ошибка средней (σ), показатель достоверности (t) рассчитывались по общепринятым формулам (И.П. Ашмарин и соавт., 1962; Л.С. Каминский, 1964; И.Т. Шевченко с соавт., 1970).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

1. Влияние некоторых факторов экологического фона на проявление инфекционного и эпизоотического процессов

На полях Среднего Приамурья применялось более 40 наименований пестицидов различного спектра действия. Ежегодно в агроэкосистемы вносилось от 73,8 до 215 т различных инсектицидов, 40-91,6 т фунгицидов, 110-284 т протравителей, 1500-2500 т гербицидов. Препаратами обрабатывалось 500-850 тыс. га сельскохозяйственных угодий. В течение более 45 лет наиболее широко применялись гербициды.

Средняя нагрузка гербицидов на 1 га пашни составляла 2,0 -3,3 кг. Распределение её по сельскохозяйственным районам не равномерное. Максимальную нагрузку несут пахотные угодья Тамбовского, Ивановского, Константиновского, Михайловского и Благовещенского районов. По годам она различается и в среднем за 15 лет составляет 2,6-4,0 кг/га.

С 1993 г. гербицидная нагрузка в Приамурье снизилась до 0,7 - 1,0 кг / га. Это произошло из-за применения более токсичных препаратов. Показатели пестицидной нагрузки на пашне превышают средний показатель по России и в США. Только гербицидная нагрузка составляла в течение 20 лет от 2,5 до 4,7 кг / га. Среднее Приамурье обладает весьма низким биоклиматическим потенциалом, не обеспечивающим быстрое разложение химических средств защиты растений в окружающей среде. Поэтому происходит загрязнение почвы и продукции растениеводства остаточными количествами пестицидов.

Пестициды. Из всего ассортимента гербицидов более 80 % приходилось на аминную соль 2,4-Д под зерновые культуры. В 1981 — 1985 гг. обрабатывалось 300 тыс. га посевов зерновых, вносилось более 550 т 2,4-Д. С 1986 г. объем применения гербицида возрос. 2,4-Д обрабатывали 300-370 тыс. га посевов зерновых культур. Расход препарата составлял до 600 - 700 т ежегодно.

С 1963 года в Приамурье широко используются для протравливания семян зерновых культур препараты, содержащие ртуть. Это агронал, агрозан, радосан, фенилмеркурацетат и гранозан. Наиболее широко применялись фенилмеркурацетат и гранозан. Ежегодно в течение 25 лет в почву вносилось от 200 до 400 тонн препаратов. Максимальные объемы применения были в 60-е годы. В 1963 г. использовано 179 т агронала, 273,4 т гранозана. В 1964 г. семена обрабатывали агроналом, радосаном и гранозаном, применено 326,3 т препаратов, в 1965 г. - 364,4 т, в 1966 г. - 295,3 т, в 1967 г. - 339,8 т различных ртуть содержащих веществ.

Объемы применения гранозана резко снизились с 1989 г. Однако и в последние годы он в небольших количествах используется. За 36 лет в почву пахотных угодий внесено 420 т агронала, агрозана, радосана, 480 т этилмеркурхлорида, 6500 т гранозана, что соответствует

160 т ртути. Максимальное количество ртути внесено на пахотных угодьях аграрных районов Амурской области - Тамбовского, Ивановского, Константиновского, Михайловского и Благовещенского, где ежегодно применялось от 16 до 40 т гранозана.

При загрязнении аграрных районов важны не столько уровни загрязнителей в почве, сколько оценки негативных последствий их воздействия на сельскохозяйственные культуры, животных и человека.

2,4-Д. В хозяйстве № 1 во всех образцах зерна ячменя, пшеницы, соломы, отобранных с полей, присутствуют остаточные количества гербицида 2,4-Д. Их концентрация составляет 0,1 - 0,4 мг / кг. Комбикорма для животных и фуражное зерно содержат до 0,35 мг / кг 2,4-Д (3,5 ПДК). В хозяйстве № 2 в соломе и зерне ячменя, в смеси зерна пшеницы и овса, в размоле 2,4-Д обнаружено 0,15-0,2 мг / кг (1,5 - 2 ПДК).

Таким образом, все исследуемые образцы кормов в обоих хозяйствах загрязнены остатками 2,4-Д в количествах, превышающих ПДК.

Ртуть. С пестицидами в почву попадает 3-4 г / га ртути в год. В нашей стране ПДК для тяжелых металлов разработаны не для всех видов кормов. Пределы токсичности не установлены. В своих исследованиях мы руководствовались данными из справочного пособия А.С. Кольцова (1995). Автор отмечает, что если загрязнение почвы не носит антропогенный характер, то верхние пределы содержания тяжелых металлов в почвах большая редкость, за исключением марганца.

В хозяйстве № 1 согласно грациям уровней загрязнения почв ртутью, предложенным В.И. Морозовым и др. (1995), образцы с полей 4 (кормовой севооборот) сильно загрязнены ртутью - 1,07 мг / кг; 3 (КОРМОВОЙ СЕВООБОРОТ) - средние - 0,3 мг / кг; поле прифермское (зерносенаж) и поле с многолетними травами на сенаж - слабо - 0,04 мг / кг. На поле, где возделывали культуры на зерносенаж, содержание ртути низкое - меньше 0,02 мг / кг. Установлено наличие ртути в отдельных кормах в количествах, превышающих ПДК: в пшенице на фураж - в 2,3 раза, в комбикорме - в 2,4 раза.

В хозяйстве № 2 при исследовании двух партий зерносмеси (овес, ячмень, пшеница) в обоих выявлена ртуть в количестве 0,1 - 1,78 мг / кг (при ПДК ртути в зерне и зернофураже - 0,03 мг / кг). Исследованием образцов почв с полей, где произрастали зерновые культуры, составляющие исследуемой зерносмеси, установлено наличие ртути в образцах почвы с поля 5-6 - 120 мг / кг, в образцах с поля II -1 - 320 мг / кг. Таким образом, установлено наличие ртути в кормах, используемых крупному рогатому скоту.

Минеральные удобрения. Наличие нитратов в растениях - нормальное явление. Азот наряду с фосфором и калием составляют основу питания растений, но когда поступление нитратов превышает потребности органического синтеза, они начинают накапливаться в растениях (Джамбулатов М.М. и соавт., 1999). Проблема накопления нитратов в

растениеводческой продукции имеет место, доказано модифицирующее действие нитратов на канцерогенез (А.П. Андрианов и соавт., 1989; Ю.П. Смирнов, 1995 и др.).

Работа выполнена в базовых хозяйствах № 1 и № 2, которые являются зеркальным отражением других хозяйств аграрных районов Приамурья. При исследовании кормов, воды на содержание нитратов и нитритов выполнен 1481 анализ. ПДК нитратов для крупного рогатого скота во влажных кормах - 500 мг / кг, в сухих (сено) - 1000 мг / кг (СанПИН, 1996).

В хозяйстве № 1 в 1998 г. из 32 проб кормов в 19 %, а в 1999 г. из 37 проб в 51 % выявлено повышенное количество нитратов, в основном во влажных кормах (зерносенаж из овса и ячменя - 950 мг / кг; в силосе - на пределе ПДК (425 и 437 мг / кг), в зеленом корме из рапса - 219 мг / кг, в зеленой массе кукурузы при закладке в силосные ямы - 407 - 438 мг / кг. Из сухих кормов только в одном образце сея из многолетних трав содержалось 590 мг / кг нитратов (0,6 ПДК).

В 1999 г. превышение ПДК нитратов было в зеленых кормах из рапса - 1000 мг/кг, амаранта — 1000 мг / кг, в зерносенаже - 646 мг / кг, в зеленом корме из многолетних трав - 661, 619, 617 мг / кг, в зеленом корме из пайзы - 1202, 871 мг / кг, в сенаже из пайзы и люцерны - 5617 мг / кг (11 ПДК), в зеленом корме из суданской травы и сои - 781 мг/кг.

В хозяйстве № 2 в 1998 г. из 40 образцов кормов 35 % имели превышение ПДК нитратов в основном во влажных кормах: в зеленых кормах из пайзы, заготовленных в начале июля (6,5 и 78 ПДК), в зеленых кормах из кострца, многолетних трав, пшеницы (соответственно 6,3; 3,5; 14,1 ПДК). В зеленой массе кукурузы на зеленую подкормку и закладку в силосные ямы содержание нитратов достигало 3,7 ПДК. Обнаружены нитраты в картофеле (389 мг/кг при ПДК 300 мг/кг), несмотря на то, что анализ его проводили 4 апреля, когда обычно их содержание в картофеле при оптимальных условиях хранения снижается на 70 % от исходного уровня (Зинченко В.А. и соавт., 1980). Из сухих кормов только сено из кострца содержало 770 мг/кг нитратов (0,77 ПДК).

В 1999 г. из 58 образцов кормов превышение ПДК было в 48 % случаев и только во влажных кормах. Максимальное содержание достигало 1497 мг / кг (3,0 ПДК). В рапсе и редьке - 1445 и 1259 мг/кг соответственно (2,9 - 2,5 ПДК), в смеси кукурузы и куриного проса - 1104 мг / кг (2,2 ПДК).

Установлено, что в базовом хозяйстве № 2 максимальное количество нитратов во влажных и в сухих кормах выше, чем в базовом хозяйстве № 1.

В базовом хозяйстве № 1 в эти же годы содержание азота нитратов и нитритов не превышало предельно допустимую концентрацию ни в грунтовых водах скважин, ни в реке Алим, хотя их концентрация была выше экологического норматива.

В базовом хозяйстве № 2 количество нитратного и нитритного азота в образцах воды из открытых водоемов не превышало гигиенический норматив, но в десятки раз превышало

экологическую норму (0,3 - 0,3). Самое высокое содержание азота нитратов было 6 мг / л. В образцах воды, отобранных в июле, содержание азота нитратов превышало предельно допустимую концентрацию в 1,5 - 2 раза. Повторный отбор образцов воды в сентябре показал заметное снижение содержания азота нитратов, но в придонном слое его концентрация оставалась в 1,5 раза выше предельно допустимой. В зимний период животные с питьевой водой получали гораздо меньшее их количество: в грунтовых водах скважин содержание нитратного азота было 3,3 и 0,4 мг / л, а нитритного - до 0,01 мг / л.

Среднее содержание азота нитратов в воде открытых водоемов в базовом хозяйстве № 2 было выше, чем в базовом хозяйстве № 1. В результате животные базового хозяйства № 2 подвергаются более высокой нитратной нагрузке.

Таким образом, длительное поступление в организм животных с кормами ртути и 2,4-Д, которые по данным ЮНЕСКО входят в десятку главных экотоксикантов природной среды, а также нитратов может привести к снижению резистентности животных, что служит предпосылкой для возникновения у них инфекционных заболеваний.

Результаты исследований по неспецифической резистентности крупного рогатого скота на фоне загрязнения кормов. Цель — выяснить влияние остаточных количеств средств химизации сельского хозяйства в кормах на организм инфицированных и свободных от ВЛКРС-инфекции животных.

Исследования выполнены в базовом хозяйстве № 2 и в учхозе ПГСХА Приморского края, где загрязнение кормов средствами химизации сельского хозяйства превышает НДК, инфицированность крупного рогатого скота вирусом лейкоза составляет 46,7 и 83,1 % соответственно.

Результаты отражены в таблице 1. Содержание сегментоядерных нейтрофилов у РИД (+) животных базового хозяйства № 2 снижено, у РИД (•) находится на нижней границе физиологической нормы. Фагоцитарная активность нейтрофилов у РИД (+) животных достоверно ($P < 0,001$) на 9 % ниже, чем у серонегативных.

При сравнении фагоцитарной активности нейтрофилов в абсолютных единицах у серопозитивных животных при высоком уровне лейкоцитов значительно больше циркулирующих нейтрофилов и меньшее их количество участвует в фагоцитозе, при этом агрессивность нейтрофилов у них ниже, чем у серонегативных. Активность лизонима у животных обеих групп минимальная, уровень ЦИК практически не отличается.

Уровень общего белка сыворотки крови РИД (+) животных на 4 % выше верхней границы физиологической нормы, у РИД (-) приближается к ней. Наряду с выраженной гиперпротеинемией отмечается диспротеинемия. Уровень альбуминов сыворотки крови РИД (+) и РИД (-) животных в 1,6 и 1,4 раза меньше нижней границы физиологической нормы соответственно. У животных обеих групп количество α -глобулинов находится на нижней

границе, Р-глобулинов - в 1,4 раза выше верхней границы физиологической нормы. Содержание у-глобулиновой фракции белков укладывается в рамки физиологической нормы, но приближается к её верхней границе. У РИД (+) животных белков этой фракции на 12 % больше, чем у РИД (-).

Таблица 1 - Иммунологические и морфологические показатели крови крупного рогатого скота на фоне загрязнения кормов в хозяйстве № 2

Показатели	РИД(+), I группа	РИД(-), II группа
Лейкоциты, 10^9 /л	16,18±3,33	7,26±0,68
Лимфоциты, %	75,51±4,34	60,80±2,25
Моноциты, %	1,5±0,51	0,6±0,35
Базофилы, %	0	0,2±0,17
Эозинофилы, %	6,33±0,93	10,2±1,34
Нейтрофилы, %		
-сегментоядерные	16,0±3,30	27,8±2,21
-палочкоядерные	0,66±0,45	0,40±0,21
-юные	0	0
ФА, %	65,33±1,21	74,2±1,33
ФИ, ед.	33,49±1,79	44,57±1,26
ФЧ, ед.	21,8±0,91	31,8±1,36
Общий белок, г/л	90,0±2,0	82,8±1,6
Альбумины, г/л	21,9±2,4	23,3±1,6
α-глобулины, г/л	12,3±1,1	11,3±0,4
β-глобулины, г/л	19,7±1,2	18,7±1,0
γ-глобулины, г/л	35,9±1,6	29,4±1,6
А/Г	0,32	0,39
Лизоцим, %	5,0±0,40	4,6±0,21
ЦИК, ед.	20,3±2,49	19,4±4,34

У животных обеих групп установлена гиперпротеинемия, которая связана с гиперглобулинемией и сопровождается снижением альбумин-глобулинового коэффициента до 0,32 и 0,39 соответственно. В данном случае он снижен в 2,5-3 раза, что указывает на серьёзное нарушение белкового обмена, связанного, видимо, с хронической интоксикацией.

Таким образом, поступающие в организм с кормами экотоксиканты оказывают негативное влияние на белковый обмен, иммунный статус животных. Их отрицательное влияние в большей степени проявляется у РИД (+) животных.

При сопоставлении показателей уровня инфицированности крупного рогатого скота вирусом лейкоза и его заболеваемости лейкозом с показателями применения гербицидов в Приморском крае с 1995 по 2000 год, установлено, что увеличение гербицидной нагрузки в текущем году способствует закономерному увеличению в последующем показателя уровня серопозитивности крупного рогатого скота и его заболеваемости лейкозом. И наоборот, снижение в текущем году нагрузки характеризуется снижением в последующем году уровня

серопозитивности животных и их заболеваемости лейкозом. Также следует отметить, что в агрорайонах Приморского края с инфицированностью животных ВЛКРС до 30 % средняя нагрузка минеральных удобрений на 1 га пашни с 1985 по 2000 год составляла в среднем 59,2 кг, выше 30 % – 66,8 кг. • •

В учхозе ПГСХА Приморского края при контрольном обследовании на лейкоз 83,1 % коров были РИД-положительными. При их гематологическом исследовании у 48,7 % установлен лимфоцитоз (77 - 91 %). Результаты биохимических и иммунологических исследований крови серопозитивных и серонегативных коров на фоне загрязнения кормов в учхозе аналогичны результатам, полученным при исследовании животных хозяйства № 2 в Амурской области. Установлено нарушение минерального обмена веществ. Содержание общего кальция в сыворотке крови в 1,13 - 1,25 раза меньше нижней границы физиологических показателей, а количество неорганического фосфора укладывается в границы нормы.

Следовательно, у животных, получающих загрязненные экотоксикантами корма, происходит нарушение белкового, минерального обмена веществ. Пестициды, тяжелые металлы, обладая кумулятивным действием, при поступлении в организм животного даже в количествах, не превышающих ЦДК, оказывают негативное воздействие на обмен веществ, снижают иммунный статус, способствуют развитию иммунодефицитного состояния, особенно выраженному у инфицированных ВЛКРС.

Длительное воздействие загрязнителей на организм животных является причиной возникновения у них иммунодефицитного состояния (Р.М. Хаитов с соавт., 1995), которое служит предпосылкой для возникновения любого инфекционного заболевания, в том числе туберкулеза и лейкоза крупного рогатого скота - хронических инфекционных заболеваний, которые не всегда проявляются клинически, а снижение резистентности организма приводит к развитию болезни. Под влиянием «конфликта», возникшего между организмом животных и условиями его существования, могут происходить изменения в инфекционном и эпизоотическом процессах по наиболее распространенным хроническим инфекциям, из которых на Дальнем Востоке имеют место туберкулез и лейкоз крупного рогатого скота.

2. Эпизоотический процесс туберкулеза крупного рогатого скота на Дальнем Востоке и совершенствование методов его диагностики

Многолетние наблюдения за распространением туберкулеза крупного рогатого скота на Дальнем Востоке, обследование эпизоотических очагов инфекции, проведение многочисленных диагностических исследований биоматериала и проб из объектов внешней среды позволили определить неоднозначность эпизоотической ситуации по туберкулезу в краях и областях региона.

2.1. Особенности проявления эпизоотического процесса туберкулеза крупного рогатого скота в Приморском крае

Приморский край был оздоровлен от туберкулеза крупного рогатого скота в 1996 г. С 1998 г. появились рецидивы заболевания, в 2001 г. количество неблагополучных пунктов выросло до 13.

Ретроспективный анализ эпизоотической ситуации по туберкулезу крупного рогатого скота в Приморском крае позволил установить ряд закономерностей, к которым относится цикличность течения эпизоотии в неблагополучных хозяйствах. С 1980 по 2004 год в Приморском крае отмечено четыре вспышки заболевания крупного рогатого скота туберкулезом (1980-1983; 1985-1986; 1988-1995; 1998 - по настоящее время). Низкий уровень ведения животноводства обостряет эпизоотический процесс. Большинство (86,3 %) неблагополучных по туберкулезу хозяйств в крае оздоравливают методом повторных туберкулиновых исследований с удалением реагирующих животных в течение 3....6 лет.

Крупный рогатый скот инфицирован микобактериями бычьего и человеческого видов, установлены случаи сенсибилизации атипичными микобактериями. Из-за несовершенства методов диагностики в стадах после спада эпизоотии в ряде случаев, видимо, остаются латентные микробоносители. При воздействии стресс-факторов у животных возникают новые вспышки инфекции с увеличением интенсивности эпизоотического процесса.

2.1.1. Частота обнаружения туберкулезных поражений

Количество случаев туберкулеза, обнаруживаемого при убойе животных на мясоперерабатывающих предприятиях Приморского края, в процентном отношении имеет значительные колебания по годам. При ветеринарно-санитарной экспертизе установлены туберкулезные изменения во внутренних органах в 1985 г. у 26 % реагирующих животных, в 1995 г. - у 13,1 %, в 2000 - у 8,4 %. За 15 лет совпадение положительных результатов аллергического и патологоанатомического методов имело место у 12,6 % животных от числа убитых для комиссионного вскрытия.

По мере оздоровления хозяйств от туберкулеза уменьшилось количество случаев выявления патологоанатомически выраженного процесса. В период с 1995 по 2000 год заболеваемость снизилась до 0,7-0,4 на 100 тыс. животных, количество случаев патологоанатомически выраженного туберкулеза соответственно уменьшилось до 12,3-6,4 %.

При сравнении показателей послеубойного осмотра реагировавших животных и результатов аллергического исследования на туберкулез за 16 лет (1986-2001 гг.) в целом по Приморскому краю выявлена прямая корреляция ($r = +0,56$).

Схема корреляционной связи показывает, что максимальное (46,01 %) число случаев обнаружения туберкулеза с помощью патологоанатомического исследования наблюдалось при заболеваемости от 8 до 10 и минимальное (12,21 %) при заболеваемости до 1. Коэффициент корреляции указанных показателей является достоверным ($P < 0,05$).

Послеубойный осмотр 262 животных, у которых отмечался патологоанатомически выраженный туберкулезный процесс, показал, что наиболее часто наблюдалось у больного скота поражение лимфатических узлов (61,8 %). Туберкулезные изменения в легких с одновременным поражением средостенных и бронхиальных лимфоузлов установлены у 26 % животных, поражение нескольких внутренних органов одновременно - у 10,3 %, поражение печени или селезенки - у 1,9 % животных (табл. 2).

Таблица 2 - Данные о локализации туберкулезных изменений у больных животных

Изменения в различных органах	Частота поражения	
	число случаев	%
Распространенный процесс (поражение нескольких органов)	27	10,3
Поражение легких и регионарных лимфатических (средостенных и бронхиальных)	68	26,0
Изменения в других органах (печень, селезенка)	5	1,9
Изменения в лимфоузлах:	162	61,8
- несколько групп лимфоузлов	81	50,0
- средостенных	51	31,5
- заглоточных	13	8,0
- мезентериальных	15	9,3
- других лимфоузлов	2	1,2

При распространенном туберкулезе чаще отмечались изменения в легких, печени, почках, на серозных оболочках и в лимфатических узлах. Патологические изменения в лимфатических узлах у остальных исследованных животных были менее выражены и характеризовались наличием разного количества и размера туберкулезных бугорков лимфоидной ткани. У остальных животных в лимфоузлах отмечалась только гиперплазия лимфоидной ткани.

Снижение за последние годы случаев патологоанатомически выраженного туберкулеза у реагирующего на туберкулин скота можно объяснить выполнением плановых профилактических мероприятий, убойом животных на мясокомбинатах сразу после учета результатов туберкулинизации, проявлением латентного микробизма.

2.1.2. Результаты изучения причин повторных вспышек болезни в хозяйствах, оздоровленных от туберкулеза

Причиной повторных вспышек болезни в ранее оздоровленных хозяйствах были инфицированные животные, которые остались невыявленными при аллергических исследованиях на туберкулез, который может протекать скрытно в виде так называемого латентного микробизма, при котором чувствительность животных к туберкулину выражена более слабо. При исследовании методом посева биоматериала от животных из трех хозяйств Амурской области с различной степенью неблагополучия по туберкулезу наряду с бактериальными формами микобактерий были выделены нестабильные и условно-стабильные Л-формы микобактерий. Изучение патоморфологических реакций у морских свинок при введении им этих измененных культур микобактерий туберкулеза показало, что, персистируя в организме экспериментальных животных, они проявляют свои патогенные свойства. Высокий (42,3) процент высеваемости условно-стабильных Л-форм микобактерий из тканей и органов морских свинок через 4 месяца после их заражения (срок наблюдения) свидетельствует о длительном их персистировании в организме. Следовательно, эта скрытая форма инфекции представляет серьезную опасность в эпизоотологическом отношении: под влиянием неблагоприятных факторов внешней среды латентный микробизм может переходить в прогрессирующий активный туберкулез.

Во многих хозяйствах Приморского края болезнь возникала повторно с длительным сохранением возбудителя во внешней среде вследствие недостаточного обеззараживания животноводческих помещений. При бактериологическом исследовании 36 проб из объектов внешней среды животноводческих помещений, загонов, пастбищ неблагополучного по туберкулезу ОАО «Жариковский» Пограничного района Приморского края была выделена 1 культура, которую мы отнесли к измененным беспигментным микобактериям. В пассажном материале выделили 7 культур, из которых 2 были отнесены к типичным микобактериям, остальные 5 - к измененным, 1 из которых образовывала пигмент.

В отдельных случаях длительное неблагополучие по туберкулезу хозяйств Приморского края было обусловлено этими двумя причинами одновременно.

Особенно большую опасность латентный микробизм представляет у молодняка, так как выявить указанную форму инфекции у этой возрастной группы намного сложнее. На протяжении 15 лет из 48,3 тысяч исследованного молодняка на введение туберкулина прореагировало всего 42 головы и только у двух из них после убоя и комиссионного вскрытия были обнаружены единичные изменения туберкулезного характера.

Приведенные данные позволяют утверждать, что аллергическая реактивность телят на введение туберкулина выражена более слабо по сравнению с взрослыми животными. Поэтому

инфицированность ремонтного молодняка подтверждается нередко через 2 - 4 года, то есть после перевода в группу коров

Основным фактором, влияющим на течение эпизоотии туберкулеза, наряду с больными животными, являются животные с латентным течением туберкулеза. Часть таких животных не реагирует на туберкулин. Вопрос повторных вспышек туберкулеза крупного рогатого скота в хозяйствах Приморского края мы объясняем скрытым течением туберкулеза (латентный микробизм), связанным с наличием в организме животного нестабильных или условно-стабильных Л-форм микобактерий туберкулеза, длительно персистирующих в макроорганизме и реверсирующих в исходное состояние при наличии экстремальных условий. В связи с этим следует дополнить регламентированную лабораторную диагностику туберкулеза исследованиями на наличие Л-форм микобактерий туберкулеза в биоматериале от реагирующих на туберкулин животных.

2.2. Особенности проявления эпизоотического процесса туберкулеза крупного рогатого скота в Хабаровском крае

Хабаровский край благополучен по туберкулезу крупного рогатого скота с 1994 года. Рецидивов заболевания нет. При плановых диагностических исследованиях на туберкулез после оздоровления ежегодно выявляются реагирующие на туберкулин животные в пределах 0,02 - 0,25 %. В 2000 году процент реагирующих составил 0,08. При убое с диагностической целью у живых патологоанатомических изменений не выявлено, при бактериологических исследованиях* культуры не выделены.

Ретроспективный анализ состояния стад крупного рогатого скота по туберкулезу с 1977 по 1988 гг. позволил наблюдать динамику эпизоотического процесса и установить его цикличность. Продолжительность цикла в различных хозяйствах составила 7 - 9 лет. Туберкулез крупного рогатого скота наибольшее распространение получил в южной природно-экономической зоне края. Высокий уровень напряженности эпизоотической ситуации (0,66 - 0,93) установлен в Вяземском и Хабаровском районах. Усредненный показатель её по краю составил 0,44. Туберкулез крупного рогатого скота регистрировался как спорадически так и стационарно. В первом случае появление новых пунктов было связано с заносом возбудителя инфекции из неблагополучных пунктов.

Оздоровление неблагополучных пунктов проведено в течение 5 лет. От пораженных животных из неблагополучных хозяйств изолировали микобактерий бычьего (60 %) и человеческого (5 %) видов. Атипичные микобактерии от крупного рогатого скота изолированы в хозяйствах, где проявлялись парааллергические реакции. В 1,5 % случаев изолированы Л-формы микобактерий. В неблагополучных пунктах атипичные микобактерии и Л-формы микобактерий выделены не были. Из объектов окружающей среды выделено 14,8

% атипичных микобактерий. В неблагополучных по туберкулезу хозяйствах из среды обитания инфицированных животных атипичные микобактерии не выделяются.

Незначительный процент реагирующих на туберкулин животных указывает на сенсибилизацию их атипичными микобактериями или персистенцию измененных форм возбудителей туберкулеза.

2.3. Особенности проявления эпизоотического процесса туберкулеза крупного рогатого скота в Амурской области

Амурская область благополучна по туберкулезу крупного рогатого скота с 1996 года. Рецидивов заболевания после оздоровления нет. При плановых диагностических исследованиях на туберкулез количество реагирующих на туберкулин колебалось в пределах 0,27 - 0,09 % скота общественного стада и 0,12 - 0,009 % скота частного сектора. В 2000 году в Амурской области количество реагирующих на туберкулин снизилось до минимума во всех категориях хозяйств и половозрастных группах животных и составило 0,08% скота общественного стада и 0,01% - частного. При контрольном убое реагирующих на туберкулин животных поражений, свойственных туберкулезу, не обнаружено. Результаты бактериологического исследования также отрицательны.

В 1986 - 1988 гг. заболевание регистрировалось в 46 пунктах 28 хозяйств пяти районов. По уровню распространения заболевания среди животных большинство неблагополучных пунктов относилось к категории пунктов с массовым распространением туберкулеза.

Для определения территориальной приуроченности туберкулеза крупного рогатого скота в области был использован средний показатель заболеваемости животных по районам за 1986 -1988 годы.

Заболеваемость была разбита на три группы. К первой группе отнесены районы с показателем заболеваемости от 0,3 - 2,3 %; ко второй - с показателем заболеваемости от 2,3 до 7,3; к третьей группе - с показателем заболеваемости от 22,3 до 36,2 %.

Установлено, что туберкулез крупного рогатого скота в Амурской области был приурочен к южной и центральной природно-хозяйственным зонам с наибольшей интенсивностью эпизоотического процесса в центре.

В 1986 г. в 11,3 % хозяйств области у крупного рогатого скота были зарегистрированы парааллергические реакции на ППД-туберкулин для млекопитающих. При этом установлена закономерность заболеваемости и проявления парааллергических реакций. Крупный рогатый скот различных возрастов, сенсибилизированный атипичными микобактериями, реагировал на туберкулин от 0,3 до 13,4 %. Заболеваемость в неблагополучных пунктах и показатель сенсибилизации коров были выше, чем молодняка.

Проведение в полном объеме заключительных оздоровительных мероприятий по уничтожению возбудителя туберкулеза во внешней среде и контроль эпизоотической ситуации позволили не допустить возникновения рецидивов заболевания животных туберкулезом в оздоровленных неблагополучных пунктах Амурской области длительное время после их оздоровления (8-15 лет).

Внедряемые в настоящее время противотуберкулезные мероприятия в Амурской области в основном обеспечивают полный объем профилактики этой болезни среди стад крупного рогатого скота. Однако в свободных от туберкулеза и оздоровленных хозяйствах при плановых диагностических исследованиях выявляются реагирующие на туберкулин животные.

При контрольном убое реагирующих на туберкулин животных поражений, свойственных туберкулезу, не обнаружено. При бактериологическом исследовании биоматериала от убитых с диагностической целью реагирующих на туберкулин животных на наличие кислотоустойчивых микроорганизмов из исследуемого материала в некоторых случаях выделяются измененные кислотоустойчивые и частично утратившие кислотоустойчивость микроорганизмы, которые, как правило, не учитываются. Это приводит к определенным трудностям при постановке диагноза на туберкулез. Наличие в культуре различных по кислотоустойчивости популяций микроорганизмов говорит об изменении свойств миксобактерий, которые происходят в процессе их выживания. Следует отметить, что при лабораторных исследованиях не в полной мере учитываются биоморфологические формы возбудителя, средства и методы лабораторной диагностики для их индикации недостаточно совершенны. Это и предопределило проведение дальнейших более обстоятельных исследований эпизоотического состояния по туберкулезу крупного рогатого скота в зоне наивысшей интенсивности эпизоотического процесса — в хозяйствах Серышевского района, результаты которых изложены в разделе 2.5.

2.4. Особенности проявления эпизоотического процесса туберкулеза крупного рогатого скота в Сахалинской и Камчатской областях

Крупный рогатый скот Сахалинской и Камчатской областей длительное время свободен от туберкулезной инфекции. Однако, среди крупного рогатого скота Сахалинской области зарегистрированы парааллергические реакции, обусловленные атипичными микобактериями 3 и 4 групп по классификации Раньона. Всего в области выявлено 9 совхозов с выявлением реагирующих животных, сенсibilизированных атипичными микобактериями, от 0,02 до 0,2 % к исследованному поголовью.

При исследовании биоматериала от крупного рогатого скота, реагировавшего на туберкулин и проб из объектов внешней среды изолировано 4 вида атипичных микобактерий, которые вызывали сенсибилизацию организма животных и затрудняли диагностику туберкулеза.

Таким образом, характеризуя эпизоотический процесс туберкулеза крупного рогатого скота на Дальнем Востоке, отмечаем длительное благополучие по туберкулезу крупного рогатого скота в Сахалинской, Камчатской областях, с 1994 г. - в Хабаровском крае, с 1996 г. - в Амурской области.

В Приморском крае в 1998 г. появились рецидивы заболевания. Повторные вспышки туберкулеза, выявление в благополучных и оздоровленных хозяйствах реагирующих на туберкулин животных, не имеющих туберкулезных поражений, мы склонны объяснить скрытым течением туберкулезной инфекции. Наличие антропогенных факторов способствует снижению адаптационных возможностей животных, что активизирует отношения популяций хозяина и паразита, находящегося в организме в различных биоморфологических формах, одной из которых являются Л-варианты микобактерий туберкулеза, способные при определенных условиях реверсировать в исходный бактериальный вид.

В силу этих обстоятельств и исходя из имеющихся возможностей более предметно провести микробиологические (культуральные) исследования биоматериала в зависимости от эпизоотической ситуации по туберкулезу, была проведена работа по выяснению роли Л-форм микобактерий туберкулеза в проявлении аллергических реакций и рецидивах туберкулеза крупного рогатого скота в оздоровленных хозяйствах.

2.5. Выделение Л-форм микобактерий туберкулеза методом посева биоматериала от животных, реагирующих на туберкулин с поражениями, характерными для туберкулеза и не имеющих туберкулезных изменений

Исследование на Л-формы проводили согласно «Методическим рекомендациям по выделению Л - форм микобактерий туберкулеза из патологического материала» (1980). Выделенные культуры пассировали на полужидкой среде Школьниковой с целью получения реверсии. При отсутствии реверсии в течение 5 - 6 последовательных пассажей культуры относили к условно-стабильным. Все выделенные при посеве или полученные в результате реверсии культуры микобактерий изучали согласно приказу № 558 от 08.06.1978 г. "Об унификации микробиологических исследований при туберкулезе".

С целью выделения бактериальных и Л-форм возбудителя туберкулеза одновременно с посевом проводили заражение морских свинок путем подкожного введения 0,1 мл биоматериала в паховую область.

Для выполнения поставленных задач провели целенаправленную комплексную диагностику туберкулеза крупного рогатого скота в Серышевском районе Амурской области.

При Ероведении аллергических исследований одно хозяйство района отнесли к категории пунктов с массовым распространением туберкулеза. Все остальные хозяйства, имеющие с ним экономические и хозяйственные связи, были взяты на учет. Во всех хозяйствах была проведена однократная внутрикожная туберкулинизация скота. Провели диагностический убой 344 животных с последующим культуральным лабораторным исследованием биоматериала. При ветеринарно-санитарной экспертизе туберкулезные изменения обнаружены в 70 % случаев, из которых в девяти отмечалась генерализованная форма инфекции. Более 45 % туш с генерализованной формой туберкулезной инфекции выявлено в двух хозяйствах.

Одно из них было отнесено к категории хозяйств с массовым распространением туберкулеза, другое - хозяйство-поставщик телок для всего района. Независимо от того, обнаруживали на секции туберкулезные изменения или их не обнаруживали, брали материал для лабораторных исследований.

Наибольший интерес представляли результаты лабораторных исследований биоматериала от животных, не имеющих туберкулезных изменений. Лимфоидная ткань большинства лимфатических узлов таких животных была гиперплазирована и в 18 случаях содержала очажки, имевшие размер просыаного зерна.

Микобактерии туберкулеза были выделены из биоматериала без видимых туберкулезных изменений у 25,7 % животных, их ассоциации с Л-формами - у 18,8 %, а одни только Л-варианты микобактерий у 7,9 % обследованных животных. Из восьми выделенных Л-вариантов в трех (2,9 %) случаях были выделены условно-стабильные, а в пяти (4,9 %) - нестабильные Л-варианты (табл.3).

Таблица 3 - Частота выделения различных микобактерий туберкулеза из биоматериала от реагировавших на туберкулин животных без туберкулезных поражений

Биоматериал	Количество животных, гол.	Выделены методом посева			
		МТБ	МТБ + Л-формы	Л-формы	
				условно-стабильные	нестабильные
Лимфатические узлы:					
- гиперплазированные	83	20	12	1	2
- казеинофицированные	18	6	7	2	3
Всего	101	26	19	3	5

Параллельно с исследованием биоматериала от животных, не имеющих туберкулезных изменений, провели исследование биоматериала от животных 3 хозяйств с различной степенью неблагополучия в отношении туберкулеза, которую определяли с учетом характера течения инфекции в стаде и уровня распространения заболевания среди животных.

Первое хозяйство с ограниченным распространением туберкулеза - в течение 12 месяцев с заболеваемостью животных туберкулезом до 10 % от среднегодового их наличия в хозяйстве. Второе - со значительным процентом заболеваемости (до 25 %). Третье хозяйство — заболеваемость превышала 25 %.

После первичной аллергической диагностики бактериологическая характеристика хозяйств представлена следующим образом. В первом хозяйстве из биоматериала от 58 реагирующих животных у 10 с очаговым, у восьми с инфильтративным туберкулезом и у трех без поражений отмечалось выделение бактериальных форм микобактерий (36,2 %). Ассоциация бактериальных и Л — форм микобактерий была обнаружена у трех животных с очаговым и у семи с инфильтративным туберкулезом (17,2 %). Л-формы (18,9 %) были выделены из биоматериала от восьми животных, не имеющих туберкулезных поражений и от трех с поражениями, носившими очаговый характер (табл. 4).

Таблица 4 - Характеристика бактериальных популяций в биоматериале от животных после первичной аллергической диагностики

Хозяйства	Количество животных, гол.	Выделен возбудитель		
		МТБ	МТБ + Л-формы	Л-формы
1	58	21	10	11
2	60	13	20	11
3	85	34	19	5
Итого:	203	68	49	27

Во втором хозяйстве из биоматериала от 60 реагировавших на туберкулин животных сочетание бактериальных и Л-форм микобактерий выделено от шести больных животных с очаговым, у восьми с инфильтративным туберкулезом и у шести - без поражений туберкулезного характера (33,3 %). Бактериальные формы в чистом виде выделены от восьми животных с очаговым и от пяти с инфильтративным характером поражений (21,6 %). Л-формы были определены у четырех больных с очаговым туберкулезом и у семи - без поражений (18,3 %).

В третьем хозяйстве из биоматериала от 85 животных, реагировавших на туберкулин, ассоциация бактериальных и Л-форм микобактерий была выявлена у 19 (22,3 %) животных, а именно у 13 - с инфильтративным и у шести - с крупно-очаговым туберкулезом внутренних органов. Только Л-формы, в трех случаях нестабильные, вегетировали у двух больных животных с инфильтративным и у трех - с диссеминированным туберкулезом (5,8 %). Бактериальные формы микобактерий были обнаружены в биоматериале от 21 животного с очаговым от восьми - с диссеминированным течением туберкулеза и у пяти животных, не имеющих поражений туберкулезного характера (40 %).

Через 45 - 60 дней животные всех трех хозяйств были подвергнуты повторной туберкулинизации, реагирующих убили на мясокомбинате. На секции у реагирующих на туберкулин животных поражения были однородными очагово-инфильтративной формы, за исключением поражений, зарегистрированных у двух животных третьего хозяйства - крупно-очагового характера. Отмечено, что во втором и третьем хозяйствах на этом фоне произошло увеличение количества животных, у которых не обнаружено изменений туберкулезного характера. При повторном исследовании биоматериала методом посева отмечено снижение выделения микобактерий классических форм и биологически измененных Л-вариантов во всех трех хозяйствах (табл. 5)

Таблиц 5 - Характеристика бактериальных популяций в биоматериале от животных после вторичной туберкулинизации

Хозяйства	Количество животных, гол	Выявлен возбудитель		
		МТБ	МТБ + Л-формы	Л-формы МТБ
1	46	18	6	3
2	58	10	20	3
3	76	7	15	4
Итого:	180	35	41	10

Проведенные исследования подтвердили факт персистенции Л-форм микобактерий туберкулеза в организме крупного рогатого скота, обуславливающей скрытое течение туберкулезного процесса. Длительная персистенция Л-форм микобактерий туберкулеза в организме и их реверсия в исходный вид при стрессовых ситуациях, снижающих сопротивляемость животные обеспечивает рецидивы туберкулеза в оздоровленных хозяйствах.

Здесь можно говорить об увеличении результативности этого метода исследований биоматериала на туберкулез от животных, реагировавших на туберкулин, но не имеющих видимых на секции поражений туберкулезного характера.

Применяемые в настоящее время бактериоскопия и посев не всегда позволяют получить адекватную информацию об истинном наличии возбудителя в биоматериале. А поскольку отрицательный результат * микробиологических исследований является в определенной степени критерием специфичности аллергической реакции, то выявление нерегистрируемых культуральным методом вариантов возбудителя имеет важное значение в оценке эпизоотического состояния животных по туберкулезу.

2.6. Патоморфологические реакции при персистировании в организме лабораторных животных Л-форм микобактерий туберкулеза

Цель - изучить в экспериментальных условиях патогенность культур нестабильных и условно-стабильных Л-форм микобактерий туберкулеза крупного рогатого скота для выявления тканевых реакций при скрыто протекающей туберкулезной инфекции с появлением персистирующих форм возбудителя туберкулеза.

В опыте было 119 морских свинок с массой тела 250 - 300 г. Их разделили на 4 группы. Для заражения использовали *M. bovis* (шт. Vallee), нестабильную культуру Л-форм *M. bovis* (Серышево,88), условно-стабильную культуру Л-форм *M. bovis* (Серышево, 87).

Первая группа (24 морских свинки) была заражена по 0,5 мл суспензии, содержащей 0,001 мг полусухого веса культуры *M. bovis* (шт. Vallee), вторая (35 морских свинок) - по 0,5 мл суспензии, содержащей 5 колоний нестабильных Л-форм *M. bovis* (Серышево - 88), третья (30 морских свинок) - по 0,5 мл суспензии из расчета 10 колоний условно-стабильной культуры *M. bovis* (Серышево,87) каждому животному. Четвертая группа - контрольная (30 морских свинок). Заражение проводили путем подкожного введения взвеси инфекта в паховую область.

Патоморфологическое исследование позволило проследить реакции органов и тканей этих экспериментальных животных в динамике заболевания, сопоставить их и установить, что Л-формы микобактерий обладают определенными патогенными свойствами.

Под влиянием условно-стабильных культур Л-форм микобактерий туберкулеза в организме очень рано (1 сутки) появляются скудные гематогенные отсевы бугорков. Гематогенная ограниченная диссеминация сохранилась на протяжении эксперимента после введения культур условно-стабильных Л-форм, имея волнообразное течение. При этом животные оставались практически здоровыми. Условно-стабильные Л-формы вызывали также волнообразно протекающий летучий неспецифический альвеолит и генерализованный васкулит с фибринозным набуханием и дезорганизацией соединительной ткани, с

плазморрагией и формированием лимфоидно- макрофагальных инфильтратов в стенке кровеносных сосудов. Под влиянием условно-стабильных Л-форм микобактерий у экспериментальных животных развивается хронический гломерулонефрит. Указанные неспецифические реакции относятся к разряду аллергических.

Нестабильные Л-формы микобактерий туберкулеза сохраняли выраженные патогенные свойства своего вида, вызывая прогрессирующий туберкулез с летальным исходом. В то же время Л-варианты микобактерий приобретают особые свойства по сравнению с типичными микобактериями. Нестабильные Л-формы вызывают экспериментальный милиарный туберкулез с острой (одни сутки) гематогенной генерализацией продуктивных бугорков с дальнейшим прогрессированием и развитием специфического васкулита. Терминальное воспаление при этом отмечается острым гнойно-некротическим распадом туберкулезных бугорков и очагов и развитием полиморфной неспецифической пневмонии. Особый интерес представляет тот факт, что у экспериментальных животных, зараженных нестабильными Л-формами, возникает летучая неспецифическая лимфомоноцитозидная и макрофагальная пневмония, альвеолит, неспецифический васкулит и гломерулонефрит.

Продолжительное наблюдение за экспериментальными животными позволило установить длительное персистирование возбудителя в организме экспериментальных животных в виде типичных Л-форм и других биоморфологических форм. Прежде всего отмечено длительное персистирование условно-стабильных Л-форм микобактерий бычьего вида в организме инфицированных животных. Определенный интерес представляет отмеченная Л-трансформация части популяции микобактерий туберкулеза бычьего вида в первые сутки после инфицирования ими морских свинок. Удалось наблюдать персистирование условно-стабильных Л-форм микобактерий в органах (легкие, печень, селезенка, почки) морских свинок на протяжении всего эксперимента, т.е. в течение четырех месяцев. Можно предположить, что подобное персистирование имеет место и на протяжении более длительного промежутка времени, о чем свидетельствует высокий процент высеваемости Л-форм из органов и тканей морских свинок 3-й группы (11 из 26 посевов) через 4 месяца после заражения.

Весьма интересно, на наш взгляд, то обстоятельство, что в организме инфицированных Л-формами морских свинок проявлялись различные переходные формы и морфологические структуры, отсутствующие в суспензии, которой инфицировались животные, весьма близкие по своей морфологии структурам, образующимся в процессе Л-трансформации микобактерий туберкулеза *in vitro* и выделяющимся из организма.

Таким образом, экспериментальное заражение морских свинок условно-стабильными и нестабильными Л-формами микобактерий туберкулеза крупного рогатого скота позволило установить, что Л-формы микобактерий туберкулеза обладают определенными патогенными

свойствами. Они проявились в способности условно-стабильных Л-форм микобактерий вызывать латентный туберкулезный процесс с четко выраженным неспецифическим компонентом, тогда как нестабильные Л-формы вызывали бурно прогрессирующее туберкулезное воспаление с ярко выраженными аллергическими проявлениями, не свойственными типичной туберкулезной инфекции у морских свинок, зараженных бактериальными формами туберкулеза бычьего вида.

Характерно, что и специфический и неспецифический компоненты воспаления развивались волнообразно. Между ними отмечалась некоторая обратная взаимосвязь. При максимальном развитии неспецифических реакций (2 недели) специфические изменения полностью исчезали и, наоборот, при максимальном развитии специфических изменений (1 месяц) проявления неспецифического воспаления резко уменьшались.

Описанные морфологические реакции, возникшие у чувствительных к туберкулезной инфекции животных в ответ на введение условно-стабильных Л-форм микобактерий, как ранние туберкулоподобные образования (через одни сутки после заражения), так и более поздние туберкулезные изменения (через один месяц после заражения), а также наблюдавшиеся в более поздние сроки (через 2 - 3 месяца) бугорки с неполным заживлением, часто локализовались периваскулярно, что указывает на гематогенное течение инфекции.

Наряду с этим отмечено несвойственное обычному течению экспериментального туберкулеза вовлечение в процесс мелких и крупных кровеносных сосудов.

Продолжительное наблюдение за экспериментальными животными позволило установить факт длительного персистирования возбудителя туберкулеза в организме экспериментальных животных в виде типичных Л-форм и других переходных форм Л-цикла.

3. ЭПИЗООТИЧЕСКИЙ ПРОЦЕСС ЛЕЙКОЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА НА ДАЛЬНЕМ ВОСТОКЕ И СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ МЕТОДОВ ЕГО ДИАГНОСТИКИ

3.1. Особенности проявления эпизоотического процесса лейкоза крупного рога того скота на Дальнем Востоке

Дальний Восток РФ, включающий 6 краев и областей и в их числе одну автономную область (ЕАО), не является исключением в отношении вируслейкозной инфекции.

Анализ материалов ветеринарной статистической отчетности, научных публикаций прошлых лет, собственных исследований показал, что лейкозы крупного рогатого скота на Дальнем Востоке регистрируются на протяжении длительного промежутка времени с различной степенью пораженности стад ВЛКРС.

3.1.1. Особенности проявления эпизоотического процесса лейкоза крупного рогатого скота в Приморском крае

Развитие эпизоотического процесса лейкоза крупного рогатого скота с 1995 по 2001 год характеризуется в основном подъемом с незначительными спадами. Уровень инфицированности вирусом лейкоза в среднем за этот период составил $38,2 \pm 1,7$ %, средний показатель заболеваемости равнялся $3,5 \pm 0,7$ ($P < 0,001$) на 1000 голов. В 2001 г. заболеваемость снизилась до 3,3 на 1000 голов, что в 2,1 раза ниже показателя заболеваемости в 1995 г. (табл. 6).

Таблица 6 - Показателя интенсивности проявления лейкоза крупного рогатого скота в Приморском крае, %

Показатели	Годы							Средний показатель	P<
	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001		
Заболеваемость	0,69	0,16	0,24	0,18	0,49	0,35	0,33	$0,35 \pm 0,07$	0,01
Превалентность	30,2	39,3	44,2	38,9	41,3	35,6	38,2	$38,2 \pm 1,7$	0,001

В динамике заболеваемости к 2002 г. произошло снижение этого показателя по сравнению с 1995 г. в 2,1 раза, однако в разные годы он характеризуется подъемами и незначительными спадами. Подтверждено постоянное наличие в стадах источника ВЛКРС-инфекции.

В настоящее время агрорайонов, свободных от ВЛКРС-инфекции, в Приморском крае нет. С 1995 по 2001 г. ВЛКРС-инфекция стационарно отмечается во всех 25 районах края. На 01.01. 2002 г. пораженность крупного рогатого скота вирусом лейкоза в разных агрорайонах колеблется от 1,1 до 72,5 %, в том числе коров от 1,4 до 83,6 %, при этом наибольшее количество агрорайонов края (14 из 25) относится к группе районов с пораженностью животных ВЛКРС свыше 30 %.

При комплексном исследовании на лейкоз коров дойного гурта черно-пестрой породы в учхозе ПГСХА с целью установления пораженности животных ВЛКРС в отдельно взятом хозяйстве серопозитивными к вирусу лейкоза были 83,1 %. Из них у 48,7 % отмечен лимфоцитоз (77 - 91%). Абсолютное количество лимфоцитов колебалось в пределах 12,4 - 27,5 тыс/мкл. У части серопозитивных животных отмечался лимфоцитоз выше 70 % на фоне лейкопении. Не исключается наличие других хозяйств с аналогичным уровнем пораженности стад ВЛКРС.

К особенностям эпизоотической ситуации по лейкозу крупного рогатого скота в Приморском крае следует отнести давность неблагополучия по лейкозу, высокие показатели заболеваемости, поражения убойных животных и утилизации туш по причине лейкоза, наличие большого количества вирусоносителей (источника ВЛКРС-инфекции): 56 % районов относятся к группе районов с инфицированностью поголовья крупного рогатого скота выше 30 %. Установлена прямая корреляционная зависимость заболеваемости крупного рогатого скота лейкозом от пораженности стад вирусом лейкоза ($r = +0,382$).

3.1.2. Особенности проявления эпизоотического процесса лейкоза крупного рогатого скота в Хабаровском крае

Результаты исследования отражены в таблицах 7-8. Напряженность эпизоотического процесса лейкоза крупного рогатого скота в крае с 1995 по 2000 год характеризовалась достоверно высокими средними показателями инфицированности крупного рогатого скота ВЛКРС ($37,4 \pm 2,44 \%$) и его заболеваемости лейкозом ($0,82 \pm 0,15 \%$) при низком охвате поголовья серологическими (РИД) исследованиями (до 48,1 % коров и до 10,7 % молодняка).

Таблица 7 - Показатели интенсивности проявления лейкоза крупного рогатого скота в Хабаровском крае, %

Показатели	Годы						Средний показатель	Р <
	1995	1996	1997	1998	1999	2000		
Заболеваемость	1,33	1,23	0,61	0,75	0,31	0,68	$0,82 \pm 0,15$	0,01
Преvalентность	44,7	31,9	39,0	49,7	25,7	33,1	$37,4 \pm 2,44$	0,001

Таблица 8 - Охват поголовья крупного рогатого скота серологическими исследованиями в РИД на лейкоз в Хабаровском крае в динамике

Год	Исследовано в РИД, %	
	Всего	в т.ч. молодняка
1995	44,6	8,5
1996	34,5	1,8
1997	27,3	7,7
1998	30,9	10,7
1999	39,0	3,2
2000	48,1	1,3

Показатели инфицированности и заболеваемости подтверждают постоянное присутствие в стадах источника ВЛКРС-инфекции и больных лейкозом животных.

3.1.3. Особенности проявления эпизоотического процесса лейкоза крупного рогатого скота в Сахалинской области

В Сахалинской области лейкоз крупного рогатого скота регистрируется с 70-х гг. прошлого века. В 1995 - 2002 гг. пораженность крупного рогатого скота ВЛКРС не превышала 10 % и в среднем по области составляла $6,2 \pm 0,48$ %. В 2002 г. серопозитивность равнялась 5,7 %, это на 1,2 % выше 1995 г. (табл. 9).

Заболеваемость скота лейкозом в 2002 году увеличилась в 4,7 раза по сравнению с 1995 г. Просматривается прямая зависимость показателей инфицированности и заболеваемости крупного рогатого скота лейкозом: увеличение первого показателя влечет за собой увеличение второго и наоборот.

Таблица 9 - Показатели интенсивности проявления лейкоза крупного рогатого скота в Сахалинской области, %

Показатели	Год								Средний показатель	Р<
	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002		
Заболеваемость	0,07	0,14	0,1	0,16	0,13	0,37	0,19	0,33	$0,18 \pm 0,04$	0,01
Преvalентность	4,5	8,3	6,9	6,5	6,7	6,6	4,1	5,7	$6,2 \pm 0,48$	0,001

Несмотря на невысокие показатели серопозитивности крупного рогатого скота вирусом лейкоза в целом по области, в ряде районов просматривается большая пораженность коров ВЛКРС: Южно-Сахалинский район - 26,7 %, Углегорский - 18,2 %, Тымовский - 14,5 %, т.е. в двух первых она приближается к 30 - 20 %, в третьем превысила 10 %. Пораженность молодняка в двух первых районах составляет соответственно 5 и 3,0 %, в Тымовском районе молодняк не исследовали.

На фоне увеличения числа гематологически больных животных увеличивается количество туш с поражениями лейкозного характера: в 2002 г. на мясокомбинатах при убое гематологически больных было выявлено 19,5 % туш с поражениями, 17,5 % утилизировано. Ежегодное выявление инфицированного вирусом лейкоза и больного лейкозом скота указывает на наличие растущей в Сахалинской области ВЛКРС-инфекции и заболеваемости лейкозом.

3.1.4. Особенности проявления эпизоотического процесса лейкоза крупного рогатого скота в Камчатской области

Показатели интенсивности эпизоотического процесса лейкоза в области показаны в таблице 10. Инфицированность крупного рогатого скота вирусом лейкоза с 1995 по 2002 год составила в среднем $5,0 \pm 0,5$ %, заболеваемость - $0,11 \pm 0,02$ % ($P < 0,001$).

Таблица 10 - Показатели интенсивности проявления лейкоза крупного рогатого скота в Камчатской области в динамике за 8 лет, %

Показатели	Год								Средний показатель	P<
	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002		
Заболеваемость	0,04	0,09	0,2	0,09	0,02	0,05	0,24	0,14	$0,11 \pm 0,02$	0,001
Преvalентность	5,2	7,5	6,0	4,9	5,3	2,9	4,2	3,7	$5,0 \pm 0,5$	0,001

Динамике эпизоотического процесса характерно снижение показателя серопозитивности крупного рогатого скота к 2002 г. на 1,5 % (с 5,2 % в 1995 г. до 3,7 % в 2002 г.) с одновременным увеличением показателя заболеваемости в 3,5 раза (с 0,04 % в 1995 г. до 0,14 % в 2002 г.). Неполный охват серологическими (РИД) исследованиями всего поголовья (21,6 - 47,8%), неполное и непоследовательное проведение противолейкозных мероприятий способствуют сохранению источника инфекции и увеличению заболеваемости животных лейкозом.

3.1.5. Особенности проявления эпизоотического процесса лейкоза крупного рогатого скота в Амурской области

В Амурской области более четко выражено молочно-мясное направление скотоводства с разведением в основном симментальской и черно-пестрой пород (А.Ф. Гудкин с соавт., 1983). В 90-е годы в связи с резким уменьшением численности молочного скота начато создание отрасли мясного скотоводства за счет завоза чистопородного скота и проведения промышленного скрещивания маточного поголовья симментальской и черно-пестрой пород с быками мясных пород.

Область считалась благополучной по лейкозу крупного рогатого скота. Случаи обнаружения лейкоза у крупного рогатого скота в отдельных хозяйствах, по-видимому, не принимались во внимание. Практически до 2000 г. серологические (РИД) исследования на

лейкоз проводились в объеме 10 % поголовья. Невысокий процент выявленного серопозитивного скота приводил к тому, что его, как правило, выводили из стада. Считалось, что на этом мероприятия по борьбе с лейкозом были выполнены. Оказалось, что такой подход к борьбе с лейкозом не оправдывает себя.

В Амурской области в 2003 г. инфицированность крупного рогатого скота вирусом лейкоза превысила 10% - ный барьер и составила 11,7% (табл. 11).

Таблица 11 - Показатели интенсивности проявления лейкоза крупного рогатого скота в Амурской области в динамике за 4 года, %

Показатели	Год				Средний показатель	P<
	2000	2001	2002	2003		
Заболееваемость	0,17	0,41	0,48	0,59	0,41 ± 0,08	0,05
Превалентность	8,0	9,9	10,4	11,7	10,0 ± 0,76	0,001

Динамике эпизоотического процесса лейкоза крупного рогатого скота характерно ежегодное стабильное увеличение показателя серопозитивности животных на 1,2 % с параллельным ежегодным увеличением показателя заболеваемости с 0,17 % в 2000 г. до 0, 59 % в 2003 г.

Неполный охват (табл. 12) поголовья серологическими (РИД) исследованиями (до 67,6 %, в т. ч. коров - до 52,9 %) не дает полной картины пораженности стад вирусом лейкоза. Незначительный объем исследований молодняка (12,0 - 58,0 %) также способствует развитию эпизоотического процесса лейкоза.

Таблица 12 - Охват поголовья крупного рогатого скота серологическими (РИД) исследованиями на лейкоз в Амурской области (2000 - 2003 гг.)

Год	Исследовано в РИД, %	
	всего	в т.ч. коров
2000	64,3	46,2
2001	46,8	19,4
2002	67,6	40,4
2003	64,4	52,9

В настоящее время в Амурской области районов, где крупный рогатый скот свободен от ВЛКРС-инфекции, нет.

Таким образом, на Дальнем Востоке просматривается тенденция распространения лейкоза. Следовательно, существуют пути и механизм передачи вируса, которые обеспечивают непрерывности и развитие эпизоотического процесса. К такому механизму передачи ВЛКРС мы предположительно отнесли быков-производителей, ' использование

которых стали практиковать в хозяйствах Дальнего Востока в 90-е годы для осеменения коров и телок наряду с искусственным осеменением.

3.1.5.1. Результаты исследования на лейкоз быков-производителей

Работа проведена в 73 хозяйствах различных форм собственности 9 районов Приамурья. Исследовано 188 быков-производителей четырех пород. Инфицированность быков-производителей вирусом лейкоза в обследованных районах колеблется в пределах 6,25 - 56,3 % (табл. 13). Из 73 хозяйств инфицированные ВЛКРС быки-производители были выявлены в 37 (50,7%).

Таблица 13 - Результаты серологического исследования быков-производителей на лейкоз по районам Приамурья

Район	Обследовано хозяйств	Исследовано быков, гол.	Выявлено РИД (+), гол.	Инфицированность, %
Серышевский	7	16	9	56,3
Ивановский	7	21	11	52,4
Тамбовский	11	41	15	36,6
Белогорский	10	22	7	31,8
Ромненский	4	10	3	30,0
Константиновский	13	21	5	23,8
Октябрьский	11	31	7	22,6
Свободненский	6	10	1	10,0
Благовещенский	4	16	1	6,25
Всего	73	188	59	

В хозяйствах обследованных районов в количественном соотношении преобладают быки герефордской породы (77 гол.), затем по убывающей черно-пестрой (47 гол.), красно-пестрой (27 гол.), симментальской (21 гол.). Вирусом лейкоза наиболее инфицированы быки-производители черно-пестрой породы (48,9 %), инфицированность быков остальных пород составила в среднем 26,5% (табл.14)

Таблица 14 - Инфицированность быков-производителей в зависимости от породы

Район	П о р о д а			
	черно-пестрая	красно-пестрая	герефорд	симментальская
Тамбовский	19 / 10	11 / 2	10 / 3	1 / 0
Константиновский	6 / 3	9 / 2	4 / 0	2 / 0
Благовещенский	породный состав не учитывался			
Ивановский	7 / 4	нет	12 / 6	2 / 1
Белогорский	4 / 3	4 / 2	10 / 2	4 / 0
Октябрьский	10 / 3	Нет	12 / 1	9 / 3
Серышевский	нет	2 / 1	13 / 8	1 / 0
Свободненский	нет	1 / 0	8 / 1	1 / 0
Ромненский	1 / 0	Нет	8 / 2	1 / 1
Всего	47 / 23	27 / 7	77 / 23	21 / 5

Примечание: числитель - исследовано в РИД, голов; знаменатель - инфицировано, голов

Таким образом, в производственном опыте установлено, что быки-производители, зараженные ВЛКРС, являются одновременно и источником лейкозной инфекции и региональным механизмом её передачи. В то же время полученные данные говорят о том, что быки-производители являются группой повышенного риска в отношении лейкоза.

Анализируя эпизоотическую ситуацию по лейкозу крупного рогатого скота на Дальнем Востоке, отмечаем, что заболевание начали регистрировать в шестидесятые годы в хозяйствах Приморского края, в семидесятые - Амурской, Сахалинской областей и Хабаровского края с клиническим проявлением среди завезенного голштинизированного крупного рогатого скота черно-пестрой породы, затем у местной симментальской породы.

С разработкой и внедрением серологического (РИД) метода диагностики лейкоза увеличилось число выявляемых ВЛКРС-инфицированных животных во всех краях и областях региона, наблюдается рост уровня инфицированное™ КРС вирусом лейкоза и больных лейкозом.

Установлена неоднозначность эпизоотического статуса территорий региона по лейкозу крупного рогатого скота: в Приморском и Хабаровском краях инфицированность крупного рогатого скота вирусом лейкоза превышает 30 %, в Амурской области уровень инфицированности в 2003 г. превысил 10 % - ный барьер, в Сахалинской и Камчатской областях этот показатель находится в пределах 10 %.

При определении характера развития эпизоотического процесса лейкоза у крупного рогатого скота в регионе Дальнего Востока можно сделать заключение, что в Приморском и Хабаровском краях он определяется как стабильно высокий, в Сахалинской и Амурской областях как стабильно растущий, в Камчатской области как волнообразный.

Средний показатель заболеваемости крупного рогатого скота лейкозом колеблется в пределах 1,4 в Камчатской области до 5,9 на 1000 животных в Амурской. Увеличивается пораженность лейкозом убойных животных и число случаев утилизации туш по причине лейкоза.

Посташное выявление на протяжении длительного времени инфицированных вирусом лейкоза животных указывает на наличие постоянно тлеющей на территории Дальнего Востока ВЛКРС-инфекции. Неполный охват серологическими (РИД) исследованиями взрослого поголовья, незначительный объем исследований молодняка крупного рогатого скота, отсутствие систематических целенаправленных на искоренение лейкоза мероприятий способствуют дальнейшему распространению ВЛКРС-инфекции среди животных и росту их заболеваемости лейкозом.

3.1.6. Динамика титров антител к ВЛКРС и клинико-гематологические показатели у инфицированных животных в возрастном аспекте

Цель исследования - изучить динамику титра антител к антигенам вируса лейкоза крупного рогатого скота в возрастном аспекте.

Исследования выполнены в базовом хозяйстве № 2 (колхоз «Искра» Ивановского района Амурской области. Для изучения титров антител к вирусу лейкоза сформировали опытную группу телочек по мере отела как серопозитивных так и серонегативных коров. Было подобрано 174 телочки, которых в двухмесячном возрасте метили жидким азотом порядковыми номерами от № 1 до № 174. Содержание и кормление телят групповое. Наблюдения за животными и серологические исследования крови проводили на одних и тех же животных от рождения до 39-месячного возраста. Использовали реакцию иммунодиффузии в агаровом геле согласно наставлению (1987). Применяли наборы Курской биофабрики. При обнаружении антител к вирусу лейкоза серологические исследования в РИД проводили до предельного разведения сыворотки крови.

При первичном обследовании 330 коров на лейкоз реакцией иммунодиффузии антитела к вирусу лейкоза обнаружены у 154, инфицированность по стаду составила 46,6%. В сыворотке крови телят, полученных от РИД (+) коров и исследованных в возрасте 1-26 дней, антитела к вирусу лейкоза были выявлены в 87,5% случаев. В возрасте 5,5 мес. антитела выявили у 37,5% животных. Телята, полученные от РИД (-) коров и исследованные первично в возрасте 1-21 день, проявили серопозитивность в 35,5% случаев. При исследовании их в возрасте 4,5-5,5 мес. антитела к ВЛКРС не выявлялись.

В дальнейшем до 39-месячного возраста исследовали только телочек, которые были получены как от серонегативных так и от серопозитивных коров (табл. 15).

Таблица 15-Динамика титра антител к ВЛКРС в крови молодняка крупного рогатого скота в зависимости от возраста

Возраст Животных	Титр антител $M \pm m$
1-26 дн.	1 : 4,0 $\pm$ 1,30
2,5-5,5 мес.	1 : 3,0 $\pm$ 0,59
13 мес.	1 : 5,8 $\pm$ 0,80
18-19 мес.	1 : 5,5 $\pm$ 3,57
22 мес.	1 : 6,62 $\pm$ 2,29
26 мес.	1 : 9,7 $\pm$ 1,37
30 мес.	1 : 7,55 $\pm$ 0,91
36 мес.	1 : 9,0 $\pm$ 1,66
39 мес.	1 : 13,7 $\pm$ 3,15

При изучении титра антител к ВЛКРС в возрастной динамике у крупного рогатого скота установлено достоверное их нарастание. В 39-месячном возрасте (срок наблюдения) титр антител к вирусу лейкоза составил $1:13,7 \pm 3,15$ ($P < 0,001$).

Параллельное изучение гематологических показателей у опытных серопозитивных и серонегативных в отношении ВЛКРС животных по достижении ими двух- и трехлетнего возраста (табл. 16) показало, что увеличение титра антител сопровождается увеличением абсолютного количества лимфоцитов.

Таблица 16 - Гематологические показатели у крупного рогатого скота в возрастной динамике

Показатели	2 года		3 года	
	РИД (+)	РИД (-)	РИД (+)	РИД (-)
Лейкоциты, $10^9/\text{л}$	$13,97 \pm 3,75$	$7,98 \pm 0,48$	$13,61 \pm 1,29$	$7,74 \pm 0,69$
Абсолютное число лимфоцитов, $10^9/\text{л}$	$11,00 \pm 3,55$	$5,70 \pm 0,11$	$12,00 \pm 1,31$	$5,57 \pm 0,49$

3.1.7. Выявление больных лейкозом крупного рогатого скота животных с использованием РИД

Цель исследований - установление возможной корреляционной зависимости гематологических показателей, характерных лейкозу, с титром антител к антигенам вируса лейкоза, выявляемых в РИД.

Опыт был продолжен в условиях базового хозяйства № 2. У опытных животных в 39-месячном возрасте титр антител к антигенам ВЛКРС составил $1:13,7 \pm 3,15$.

При таком высоком титре антител ($1:13,7 \pm 3,15$) количественные показатели лейкоцитов и абсолютного числа лимфоцитов в единице объема крови по «лейкозному ключу» соответствуют показателям гематологически больных животных (табл. 17).

Таблица 17 - Корреляционная зависимость между уровнем антител к ВЛКРС и содержанием лейкоцитов и лимфоцитов в крови животных

Титр антител	Количество лейкоцитов, $10^9/\text{л}$	r_1	Количество лимфоцитов, $10^9/\text{л}$	r_2
$1:13,7 \pm 3,15$	$13,61 \pm 1,29$	$+0,46 \pm 0,17$	$12,0 \pm 1,31$	$+0,50 \pm 0,17$

Примечание: r_1 - коэффициент корреляции между уровнем антител и содержанием лейкоцитов; r_2 - коэффициент корреляции между уровнем антител и содержанием лимфоцитов

При выявлении зависимости между этими биологическими явлениями (титр антител - лейкоцитоз и титр антител - абсолютный лимфоцитоз) отмечается прямая умеренная связь титра антител к вирусу лейкоза и количеством лейкоцитов крови ($P < 0,05$) и прямая значительная связь титра антител к вирусу лейкоза с абсолютным количеством лимфоцитов крови ($P < 0,01$).

На следующем этапе исследований из возможного числа опытных животных 2 - 4 - летнего возраста подобрали серопозитивных телок и молодых коров в количестве 27 голов и такого же возраста серонегативных животных. Сыворотку крови серопозитивных животных продолжали исследовать в разведениях, начиная с 1 : 2 до предельного разведения. Параллельно с постановкой РИД в разведениях провели гематологические исследования. Полученные данные сравнили с показателями "лейкозного ключа" для крупного рогатого скота 2 - 4-летнего возраста (табл. 18,19).

Таблица 18 - Гематологические показатели крови крупного рогатого скота 2 - 4-летнего возраста, серопозитивного и серонегативного в РИД к ВЛКРС

Группа	Отношение животных к ВЛКРС в РИД	Количество лейкоцитов, $10^9/\text{л}$	Абсолютн. количество лимфоцитов, $10^9/\text{л}$	Больные лейкозом животные по «лейкозному ключу»		Здоровые животные по «лейкозному ключу»	
				кол-во лейкоцитов, $10^9/\text{л}$	абс. кол-во лимфоцитов, $10^9/\text{л}$	кол-во лейкоцитов, $10^9/\text{л}$	абс. кол-во лимфоцитов, $10^9/\text{л}$
1	РИД (-) (n = 8)	7,31±0,46	5,46±0,35			до 11,0	до 7,7
2	РИД (+) - нагивная, 1:2, 1:4 (n = 10)	8,95±0,92	7,28±0,62				
	1:8 - 1:64 (n = 17)	17,1±1,44 $P < 0,001$	15,53±1,53 $P < 0,001$	>11,0	>10,0		

Примечание. РИД (-) - животные, не зараженные ВЛКРС;

РИД (+) - животные, зараженные ВЛКРС;

P - (уровень доверительной вероятности) определяли в группе РИД(+) животных

У серопозитивных животных при выявлении специфических преципитирующих антител к антигенам вируса лейкоза в титрах 1:8 - 1:64 достоверно увеличивается количество лейкоцитов и абсолютное количество лимфоцитов до показателей, свойственных больным лейкозом животных по «лейкозному ключу». В нативной сыворотке и в разведениях до 1:4 гематологические показатели спонтанно зараженных вирусом лейкоза животных соответствуют по «лейкозному ключу» показателям здоровых животных.

Таблица 19 - Корреляционная связь уровня антител к ВЛКРС и содержанием лейкоцитов и абсолютного количества лимфоцитов в крови крупного рогатого скота

Титр антител к ВЛКРС в РИД	Количество лейкоцитов, $10^9/\text{л}$	r_1	Абсолютное количество лимфоцитов, $10^9/\text{л}$	r_2
1:7,07±1,25	14,44±1,41	+ 0,45 ± 0,17 (P < 0,05)	12,47 ± 1,25	+ 0,61 ± 0,15 (P < 0,001)

Примечание, r_1 - коэффициент корреляции между уровнем антител и количеством лейкоцитов; r_2 - коэффициент корреляции между уровнем антител и абсолютным количеством лимфоцитов

У зараженных вирусом лейкоза животных, сыворотка крови которых дает положительную РИД в разведении 1 : 8 и выше, выявляется прямая умеренная связь титра антител с количеством лейкоцитов крови (P < 0,05) и прямая значительная связь титра антител с абсолютным количеством лимфоцитов крови (P < 0,001).

Параллельное исследование крупного рогатого скота на лейкоз серологическим (РИД) и гематологическим методами проведено в Приморском крае на базе учебно-опытного хозяйства ПГСХА, в Хабаровском крае на базе опытно-производственного хозяйства «Восточное» ДальНИИСХА, в Амурской области на базе колхоза «Луч», ОПХ ВНИИИсон, СХА «Согласие», КФХ «Зенит» и «Баскиаз» на поголовье 2783 голов.

Приводим результаты проверки способа выявления больных лейкозом животных с использованием РИД в двух хозяйствах. В одном из них при исследовании 297 голов выявлено инфицированных ВЛКРС 85 (28,6 %). Серопозитивных животных по титру антител к антигенам вируса лейкоза разделили на 2 группы. В первую включили 67 голов, прореагировавших в РИД в нативной сыворотке и при её разведении в 2 - 4 раза, во вторую - 18 голов, которые прореагировали в РИД при разведении сыворотки крови в 8 - 16 раз.

Из 67 серопозитивных животных первой группы 57 с количеством лейкоцитов $6,71 \pm 0,24 \cdot 10^9/\text{л}$ и содержанием лимфоцитов $61,40 \pm 1,44\%$ по «лейкозному ключу» относятся к здоровым животным. У остальных 10 голов этой группы выявлено повышенное содержание лейкоцитов в крови $14,90 \pm 1,01 \cdot 10^9/\text{л}$, но процент лимфоцитов ($63,10 \pm 3,65$) и абсолютное их количество ($9,40 \pm 0,74 \cdot 10^9/\text{л}$) были в пределах нормы и по «лейкозному ключу» также соответствовали показателям здоровых животных.

Из 18 животных второй группы, сыворотка крови которых прореагировала в РИД при её разведении в 8 - 16 раз, у 8 голов было выявлено нормальное количество лейкоцитов в крови - $8,09 \pm 0,64 \cdot 10^9/\text{л}$, абсолютное количество лимфоцитов также находится в пределах нормы и составляет $6,11 \pm 0,63 \cdot 10^9/\text{л}$, т.е. в данном случае гематологические показатели

(количество лейкоцитов, абсолютное количество лимфоцитов) по «лейкошому ключу» находятся в пределах показателей здоровых животных кроме процента лимфоцитов, который в данном случае, согласно «Методическим указаниям по диагностике лейкоза крупного рогатого скота» (2000) не определяется и соответственно не учитывается при постановке диагноза на лейкоз. У этих 8 голов выявляется достоверно ($P < 0,001$) высокое процентное содержание лимфоцитов ($75,50 \pm 2,28$), превышающее таковое у здоровых животных и указывающее на развитие инфекционного процесса при лейкозе крупного рогатого скота, несмотря на «спокойные» показатели «лейкозного ключа».

У 10 остальных коров этой группы, также прореагировавших в РИД при разведении сыворотки крови в 8 - 16 раз, отмечен лейкоцитоз ($19,15 \pm 1,94 \cdot 10^9/\text{л}$), относительный ($87,20 \pm 1,62$ %) и абсолютный лимфоцитоз ($16,70 \pm 1,90 \cdot 10^9/\text{л}$), т.е. все показатели по «лейкошому ключу» соответствуют показателям больных лейкозом животных.

В другом хозяйстве на поголовье дойного гурта 142 голов 3 - 6-летнего возраста выявлено 114 серопозитивных коров (80,3%). В этом стаде отдельные животные реагировали в РИД при предельном разведении сыворотки крови 1:64. Из числа РИД-положительных коров выявили 5 голов (4,38 %) с лейкопенией.

После проведения количественного и качественного подсчета лейкоцитов всех серопозитивных животных в зависимости от титра антител и гематологических показателей разделили на 5 групп.

1 группа. Сюда вошли 42 серопозитивные коровы, реагирующие в нативной сыворотке и при её разведении в 2 - 4 раза с неизменными гематологическими показателями, соответствующими по «лейкошому ключу» здоровым животным.

2 группа. Сюда вошли 11 коров, реагирующих в РИД аналогично первой группе (нативная-1:4), но с лейкоцитозом ($21,22 \pm 2,74 \cdot 10^9/\text{л}$) и абсолютным лимфоцитозом $13,70 \pm 1,41 \cdot 10^9/\text{л}$, при этом процентное содержание лимфоцитов находилось в пределах физиологической нормы ($64,6 \pm 1,35$ %).

3 группа. Сюда вошли 24 коровы, реагирующие в РИД при разведении сыворотки крови в 8 - 64 раза, с лейкоцитозом ($20,80 \pm 1,37 \cdot 10^9/\text{л}$), относительным ($77,20 \pm 1,72$ %) и абсолютным лимфоцитозом ($16,10 \pm 1,69 \cdot 10^9/\text{л}$), соответствующие по «лейкошому ключу» больным лейкозом животным.

4 группа. Сюда вошли 32 головы крупного рогатого скота, реагирующие в РИД при разведении сыворотки крови в 8 - 64 раза с нормальным количеством лейкоцитов в крови ($7,95 \pm 0,24 \cdot 10^9/\text{л}$) и абсолютного содержания лимфоцитов ($5,73 \pm 1,09 \cdot 10^9/\text{л}$) при относительном лимфоцитозе ($72,2 \pm 1,11$ %).

5 группа. Сюда вошли 5 голов крупного рогатого скота, реагирующих при разведении сыворотки крови 1 : $6 \pm 0,9$ с лейкопенией ($3,53 \pm 0,47 \cdot 10^9/\text{л}$) и лимфопенией ($2,76 \pm 0,42$ %).

10⁹/л). У животных этой группы выявляется достоверно высокое процентное содержание лимфоцитов (**77,80 ± 3,30 %**), превышающее норму для здоровых животных и указывающее на развитие лейкозного процесса на фоне выявления антител к антигенам ВЛКРС в титре 1: **6,0 ± 0,9**, лейко- и лимфоении.

Таким образом, у животных, сыворотка крови которых реагирует при исследовании в РИД на лейкоз при её разведении в 8 и более раз, происходит развитие инфекционного процесса и их можно относить к больным лейкозом независимо от гематологических показателей.

3.1.8. Уровень антител и оценка специфических и неспецифических иммунологических показателей организма крупного рогатого скота при ВЛКРС-инфекции и лейкозе

Цель исследования - изучить неспецифические защитные факторы и специфический иммунный ответ у животных, находящихся на разных стадиях инфекционного процесса при лейкозе.

Использовали некоторые тесты, с помощью которых возможно оценить естественную резистентность инфицированного и больного лейкозом крупного рогатого скота. У серопозитивных животных, которые дают реакцию в РИД с цельной сывороткой крови и в разведении 1:2 — 1:4, не отмечается характерных лейкозу изменений крови. У РИД - положительных животных, сыворотка крови которых реагирует в разведении 1:8, регистрируется повышенное содержание лейкоцитов, относительное и абсолютное количество лимфоцитов, свойственное по «лейкозному ключу» больным лейкозом животным.

Установлена зависимость некоторых показателей неспецифических защитных факторов от специфического иммунного ответа животных, инфицированных ВЛКРС, реагирующих в РИД в нативной сыворотке и при её разведениях. Происходит увеличение элиминирующей способности крови животных с высоким титром антител к структурным белкам ВЛКРС, что свидетельствует о высокой функциональной нагрузке на макрофаги.

Титр нормальных антител сыворотки крови у коров, реагирующих в РИД при её разведении в 8 раз был ниже в 1,27 и 1,22 раза по сравнению с серонегативными и серопозитивными животными, реагирующими в нативной сыворотке и при её разведении в 2 - 4 раза соответственно.

У серопозитивных в отношении ВЛКРС животных, сыворотка крови которых реагирует в РИД при её разведении в 8 и более раз повреждается функция естественной защиты, о чем свидетельствует снижение лизоцимной активности сыворотки крови ($P < 0,001$), титра нормальных антител ($P < 0,001$), увеличение элиминирующей способности крови ($P < 0,001$).

3.1.9. Патоморфологическая картина изменений у крупного рогатого скота, находящегося в состоянии персистентного лимфоцитоза

Установленное экспериментально в производственных условиях повышение титра антител к антигенам вируса лейкоза у телят в возрастной динамике, развитие персистентного лимфоцитоза, выявление корреляционной связи титра антител с гематологическими показателями у инфицированных животных подтверждает развитие инфекционного процесса лейкоза у крупного рогатого скота. Однако эти показатели не дают полного представления о патологических процессах, происходящих в тканях и органах животных в начальной стадии развития болезни. В это время отсутствует клиника болезни, а единственным признаком лейкоза является повышение общего количества лейкоцитов в 1 мкл крови с относительным лимфоцитозом и антитела к ВЛКРС.

Цель исследования - изучить гистоморфологическую картину изменений в органах и тканях серопозитивных в РИД животных, находящихся в гематологической стадии болезни (персистентный лимфоцитоз) и при ВЛКРС-инфекции.

Из 194 коров, сыворотка крови которых исследована в РИД на лейкоз, на Благовещенском мясокомбинате с диагностической целью было убито и осмотрено 46 голов, дважды прореагировавших в РИД. Для гистологического исследования брали кусочки из селезенки, лимфатических узлов, печени, почек, сердца, фиксировали в 10 %-ном водном растворе нейтрального формалина и заливали в парафин. Срезы окрашивали гематоксилин-эозином. Перед убоем у животных была взята кровь для гематологического исследования.

Из 46 проб в трех случаях обнаружены морфологические изменения картины крови свойственные сублейкемическому течению лейкоза (лейкоцитоз $19,5 - 30,0 \cdot 10^9/\text{л}$), абсолютное количество лимфоцитов $18,3 - 27,0 \cdot 10^9/\text{л}$), что дало нам основание считать их согласно «лейкозному ключу» большими лейкозом.

При патологоанатомическом исследовании в одном случае обнаружено увеличение печени, заглочных, средостенных, брыжеечных лимфоузлов. Селезенка без видимых изменений. На разрезе пульпа темно-красного цвета, рыхлая. Почки, сердце без видимых изменений.

Гистологически у трёх коров с изменениями картины крови отмечены лимфоидные инфильтраты в сердце, печени, почках, диффузная гиперплазия лимфоидной ткани в селезёнке.

В описанных случаях у инфицированных ВЛКРС животных на фоне персистентного лимфоцитоза можно предположить развитие начальной стадии очагового лимфолейкоза.

При патоморфологическом исследовании органов и тканей остальных 43 животных отмечены дистрофические изменения в сердце, печени, почках, фрагментация мышечных волокон миокарда. Отмечается очаговая гиперплазия лимфоидной ткани лимфатических узлов с

наличием четко ограниченных лимфоидных инфильтратов разных размеров. Капсула инфильтрирована лимфоидными элементами. Лимфоидные инфильтраты отмечаются в корковом веществе и в сосудах. Рисунок строения лимфатических узлов несколько стертый. Селезенка - строение сохранено, в капсуле отмечается разрастание соединительной ткани, отмечается очаговая гиперплазия лимфоидной ткани. Вокруг сосудов скопления лимфоцитов. В печени сохранено дольчатое строение, в портальных треугольниках и в строме - очаговая гистиоцитарная инфильтрация. В гепатоцитах зернистая дистрофия, в портальных треугольниках* очаговая, незначительная лимфоидная инфильтрация. В почках эпителий клубочков подвергнут дистрофическим изменениям. В просветах капилляров очаговые скопления лимфоидных клеток. Сердце - фрагментация мышечных волокон, отек стромы с единичной лимфогистиоцитарной инфильтрацией, в отдельных мышечных волокнах отмечаются лимфоидные инфильтраты.

Таким образом, в нашем небольшом наблюдении у всех серопозитивных по отношению к вирусу лейкоза коров, в том числе у трех коров с персистентным лимфоцитозом, отмечено развитие начальной стадии очагового лимфолейкоза.

Вместе с тем, у животных ни при одной из форм проявления гемобластозов не происходит ни самовыздоровления, ни излечения, следовательно, для практики форма проявления лейкоза не имеет существенного значения. Главная сущность патоморфологического исследования заключается в распознавании тех патологических процессов, которые происходят в организме животного с момента его заражения ВЛКРС в динамической последовательности и доказательстве развития у них инфекционного процесса, несмотря на отсутствие видимой патологии, появляющейся, как правило, перед гибелью животного.

4. Риск проявления реакций на туберкулин у инфицированных ВЛКРС

В условиях сложной эпизоотической ситуации по лейкозу крупного рогатого скота, обостряющейся ситуации по туберкулезу, значительного выявления реагирующих на внутрикожное введение туберкулина животных (Г.Ф. Коромыслов и соавт., 1999; М.И. Гулюкин и соавт., 2001; Ю.Я. Кассич и соавт., 2004; А.И. Кузин, и соавт., 2004; АХ. Найманов, 2004; А.М. Смирнов, 2004) возникают предположения о возможном влиянии инфицирования крупного рогатого скота вирусом лейкоза на проявление неспецифических туберкулиновых реакций при проведении диагностических исследований на туберкулез в свободных или оздоровленных от туберкулеза хозяйствах.

Цель исследования - выявить влияние инфицированности вирусом лейкоза на проявление аллергических туберкулиновых реакций у крупного рогатого скота при исследовании на туберкулез.

Наблюдали 415 коров. Исследования на туберкулез проводили согласно наставлению по диагностике туберкулеза животных (1986, 2002), на лейкоз - РИД согласно методическим указаниям (2000). Выяснение влияния инфицированности животных ВЛКРС на проявление туберкулиновых реакций проводили путем анализа результатов исследования на лейкоз и туберкулез.

При исследовании выявлено 55 голов (13,2 %), реагирующих на бычий туберкулин без подтверждения диагноза на туберкулез при ветеринарно-санитарной экспертизе и при лабораторных исследованиях и 193 головы (46,5 %), реагирующих в РИД на лейкоз. Из числа реагирующих на туберкулин у 24 голов (43,6%) реакции сопровождались увеличением кожной складки на 3 мм и более, а у 31 гол. (56,4 %) - менее 3 мм.

Из 55 голов, реагирующих на туберкулин, положительные реакции на лейкоз обнаружены у 8 (14,5 %), из них реакция на туберкулин оценивалась увеличением кожной складки на месте введения туберкулина на 1 - 2 мм у четырех голов (50%), на 3 - 5 мм также у четырех голов (50 %).

В стаде, где 46,5 % коров реагировали в РИД на лейкоз и 13, 2% на бычий туберкулин, совпадающие результаты на оба заболевания получены у 14,5 % животных, реагирующих на туберкулин и у 1,9 % животных, реагирующих на лейкоз в РИД.

Из числа совпадающих результатов исследования на оба заболевания у 5,8 % животных реакция на туберкулин оценивалась увеличением складки кожи на месте введения туберкулина в 3 мм и более, у 7,5% - менее 3 мм, что практически не учитывается. Совпадающие результаты исследований на туберкулез и лейкоз установлены только у 4 голов (0,96 %) из всего поголовья исследованного стада.

Незначительное количество совпадающих результатов исследований на лейкоз и на туберкулез (0,96%) при высоком уровне (46,5 %) инфицированности коров ВЛКРС и выявлении в стаде 13,2 % коров, реагирующих на ППД-туберкулин, позволило предположить, что инфицирование животных вирусом лейкоза не влияет на проявление аллергических туберкулиновых реакций.

Далее для выяснения влияния инфицированности крупного рогатого скота вирусом лейкоза на проявление туберкулиновых реакций сравнили результаты исследований на лейкоз и туберкулез в четырех районах Амурской области за один год в условиях благополучия по туберкулезу.

Уровень инфицированности ВЛКРС исследуемого РИД поголовья общественного и частного секторов был равен в хозяйствах Благовещенского района 8,3 и 5,3 %, Ивановского - 32,0 и 15,8 %, Константиновского - 4,1 и 0,8 %, Тамбовского - 3,8 и 2,8 % соответственно.

Процент реагирующих на туберкулин животных по Благовещенскому району составил 0,6 от исследуемого поголовья, в том числе 0,9 % коров и 0,28 % молодняка. В

Константиновском районе реакции на туберкулин выявлены у- 0,06 % исследованного поголовья, в том числе у 0,11 % коров общественного стада и 0,02 % - скота граждан. В двух других районах (Ивановский, Тамбовский) реагирующих на туберкулин животных не выявлено.

Значительная инфицированность животных вирусом лейкоза и единицы реагирующих на туберкулин или полное их отсутствие в указанных районах позволило сделать заключение, что ВЛКРС-инфекция не оказывает влияния на проявление аллергических туберкулиновых реакций у крупного рогатого скота.

При бактериологическом исследовании биоматериала от реагирующих на туберкулин животных и проб из объектов внешней среды животноводческих помещений, загонов, пастбищ на наличие кислотоустойчивых микроорганизмов выделены измененные кислотоустойчивые и частично утратившие кислотоустойчивость микробы.

По результатам наших исследований ВЛКРС-инфекция не является причиной реагирования животных при аллергическом исследовании на туберкулез, что говорит о строгой специфичности туберкулина.

ВЫВОДЫ

1. На Дальнем Востоке отмечено длительное благополучие по туберкулезу крупного рогатого скота Сахалинской, Камчатской областей, с 1994 г. - Хабаровского края, с 1996 г. - Амурской области. Приморский край в течение последних 20 лет является неблагополучным по туберкулезу крупного рогатого скота. За этот период отмечено 4 подъема энзоотии, интервал между которыми составлял 1-2 года. При очередном подъеме энзоотии в эпизоотический процесс вовлекаются как оздоровленные так и ранее благополучные хозяйства.

Туберкулезная инфекция у крупного рогатого скота может протекать в латентной форме, при которой результаты аллергических исследований не всегда подтверждаются наличием патологоанатомически выраженных туберкулезных поражений. За 15 лет совпадение результатов аллергических исследований и ветеринарно-санитарной экспертизы при установлении диагноза в среднем составило 12,6 %.

2. При бактериологическом исследовании биоматериала от реагирующих на туберкулин животных, не имеющих выраженных поражений туберкулезного характера, с использованием специальной среды и пассажей на морских свинках дополнительно выделен возбудитель туберкулеза в Л-форме у 26,7 % животных с гиперплазией лимфатических узлов, из них 18,8 % - в смеси с бактериальными.

Длительную персистенцию Л-форм микобактерий туберкулеза и их реверсию в исходный вид при стрессовых ситуациях, снижающих сопротивляемость организма животных, необходимо учитывать при оценке и прогнозировании эпизоотической ситуации в

оздоравливаемых и неблагополучных по туберкулезу пунктах. Л-формы возбудителя туберкулеза способны не только длительно поддерживать эпизоотический процесс, но и периодически его активизировать за счет перехода в бактериальные формы, что обеспечивает рецидивы туберкулеза.

3. В эксперименте на морских свинках показана патогенность нестабильных и условно-стабильных Л-форм *M. bovis*, проявляющаяся в виде тканевых реакций организма. Условно-стабильные Л-формы *M. bovis* вызывают четко выраженную неспецифическую реакцию организма, нестабильные Л-формы *M. bovis* - прогрессирующее туберкулезное воспаление с выраженными аллергическими проявлениями, несвойственными течению туберкулеза у морских свинок, зараженными бактериальными формами *M. bovis*. При этом отмечено вовлечение в процесс мелких и крупных кровеносных сосудов во внутренних органах животных.

4. Эпизоотический статус территорий региона Дальнего Востока по лейкозу крупного рогатого скота неоднозначный, по данным за 1995 - 2003 гг. в Приморском и Хабаровском краях инфицированность крупного рогатого скота вирусом лейкоза превышает 30 %, в Амурской области составляет 11,7% , в Сахалинской и Камчатской областях находится в пределах 10 %. Средний показатель заболеваемости лейкозом колеблется от 0,14% в Камчатской области до 0,59% в Амурской.

5. Уровень напряженности эпизоотического процесса лейкоза у крупного рогатого скота в Приморском и Хабаровском краях определяется как стабильно высокий, в Сахалинской и Амурской областях - стабильно растущий, в Камчатской - как волнообразный. Выявление на протяжении длительного времени инфицированных вирусом лейкоза животных указывает на наличие постоянно тлеющей на территории Дальнего Востока ВЛКРС-инфекции. Неполный охват серологическими (РИД) исследованиями взрослого поголовья, незначительный объем исследований молодняка крупного рогатого скота, отсутствие систематических целенаправленных на искоренение лейкоза мероприятий способствуют дальнейшему распространению ВЛКРС-инфекции среди животных и росту их заболеваемости лейкозом.

6. В производственном опыте установлено, что зараженность ВЛКРС быков-производителей в хозяйствах различных форм собственности Амурской области варьировала от 6,25 до 56,3%. Наиболее высокая инфицированность быков-производителей черно-пестрой породы (48,9%), ниже - симментальской (23,8%). Нахождение в стаде зараженных вирусом лейкоза быков-производителей как источника возбудителя инфекции является наиболее вероятной причиной увеличения уровня инфицированности ВЛКРС телок случного возраста. В связи с тем, что быки-производители являются группой повышенного риска в отношении лейкозной инфекции, в хозяйствах любой категории, где есть инфицированные вирусом

лейкоза животные, быков, используемых для вольной случки, необходимо исследовать на лейкоз серологически РИД не реже одного раза в квартал.

7. В регионе Дальнего Востока объемы применения химических средств защиты растений на 1 га пашни превышали средний показатель по России. Установлено загрязнение продукции растениеводства остаточными количествами 2,4-Д, почвы, кормов - ртутью, кормов и воды - нитратами. У животных, получающих загрязненные экотоксикантами корма, происходит нарушение белкового, минерального обменов веществ, снижаются показатели естественной резистентности. Наличие абиотических факторов способствует развитию инфекционного и эпизоотического процессов туберкулеза и лейкоза крупного рогатого скота

8. Впервые получены экспериментальные данные, показывающие, что при спонтанном инфицировании животных вирусом лейкоза в раннем возрасте происходит постепенное повышение титра антител к антигенам вируса лейкоза, развитие персистентного лимфоцитоза. Выявление корреляционной связи титра антител с гематологическими показателями подтверждает развитие инфекционного процесса. Ранняя диагностика лейкоза с использованием в качестве показателя титра специфических преципитирующих антител к антигенам ВЛКРС позволяет выявить инфицированных молодых животных до случайного периода.

9. Обнаружение специфических преципитирующих антител к антигенам вируса лейкоза крупного рогатого скота в титре 1 : 8 и выше позволяет достоверно выявить больных лейкозом животных. Установлено, что у животных, сыворотка крови которых реагирует при исследовании в РИД на лейкоз при её разведении в 8 и более раз, происходит развитие инфекционного процесса и их можно относить к больным лейкозом независимо от гематологических показателей.

10. Установлена зависимость показателей неспецифических защитных механизмов от специфического иммунного ответа животных, реагирующих в РИД в нативной сыворотке крови и при её разведениях. Эта зависимость выражается в достоверном ($P < 0,001$) повреждении функции естественной защиты у инфицированных ВЛКРС животных, сыворотка крови которых реагирует в титре 1: 8 и выше.

11. Научно обоснован способ выявления больных лейкозом животных с использованием РИД. Совпадение высоких титров антител к антигенам ВЛКРС при серологической (РИД) диагностике лейкоза с выходящим за пределы нормы относительным и абсолютным лимфоцитозом периферической крови серопозитивных животных является прямым подтверждением развивающейся в организме животных лейкозной патологии. Выявление в стаде серопозитивных животных с высокими (1:8 и выше) титрами антител к антигенам ВЛКРС может служить диагностическим и прогностическим признаком развития лейкозного и эпизоотического процессов.

12. Установлена возможность применения РИД для выявления не только инфицированных ВЛКРС, но и больных лейкозом животных. В этом случае на первом этапе исследования с помощью РИД выявляются инфицированные ВЛКРС животные (на это уходит 4 — 6 дней). После этого дополнительно проводят серологические исследования испытуемой положительной в РИД сыворотки крови в разведениях и при обнаружении в ней специфических преципитирующих антител к антигенам вируса лейкоза крупного рогатого скота в титре 1 : 8 и выше животное оценивают как больное лейкозом (на это требуется еще 2 - 4 дня). Такое животное затем выбраковывают.

Предлагаемый метод ускоряет выявление больных лейкозом животных, сокращает срок нахождения их в стаде, тем самым способствует снижению напряженности эпизоотической ситуации по лейкозу, прост в выполнении, доступен любой ветеринарной лаборатории.

13. В широком производственном опыте показано отсутствие влияния инфицированности вирусом лейкоза на проявление туберкулиновых реакций у крупного рогатого скота при исследовании на туберкулез.

14. Дополнение лабораторной диагностики туберкулеза двумя новыми диагностическими тестами - методом культивирования и методом многократных биологических пассажей Л-форм микобактерий - повышает информативность и практическую ценность диагностики туберкулеза, позволяет своевременно диагностировать скрытое течение туберкулезной инфекции (патентный микробизм) и надежно контролировать эпизоотическую ситуацию по туберкулезу крупного рогатого скота.

15. Способ выявления больного лейкозом крупного рогатого скота с использованием РИД упрощает выявление больных лейкозом животных, сокращает срок нахождения их в стаде, дает возможность при однократном взятии для серологического в РИД исследования крови крупного рогатого скота на лейкоз повторного использования испытуемых положительно прореагировавших в РИД сывороток крови.

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. При выявлении в благополучных по туберкулезу хозяйствах реагирующих на туберкулин животных и при отсутствии у них характерных для туберкулеза изменений следует проводить бактериологическое исследование с использованием биологических пассажей на наличие латентной формы туберкулеза.

2. При проведении оздоровительных мероприятий в их завершающей стадии перед снятием ограничений необходимо контролировать эпизоотическую ситуацию с учетом вероятности латентного течения туберкулеза как у взрослых животных, так и у молодняка.

3. Научно-обоснованный способ выявления больного лейкозом крупного рогатого скота усовершенствованным методом РИД необходимо рекомендовать для внедрения в лабораторную практику.

Основные материалы диссертации опубликованы в работах:

1. Макаров, Ю.А. Л-трансформация микобактерий туберкулеза в культуре перитонеальных макрофагов животных / Ю.А. Макаров, **Г.А. Гаврилова**, М.И. Макарова // Вопросы эпизоотологии, диагностики и мероприятия по ликвидации туберкулеза и бруцеллеза животных: сб. науч. тр. / ВАСХНИЛ, Сиб. отд. - ние. - Новосибирск, 1987. - С. 32 - 36.
2. Методические рекомендации к проведению ветеринарных мероприятий в Амурской области / А.Г. Шитый, Ю.А. Макаров, Я.Г. Диких, И.В. Нестеренко, Н.М. Городович, Н.Н. Гавриленко, Г.А. Васильченко, Г.А. Гордиенко, М.Г. Гамидов, Б.В. Березняк, Г.А. Лоншаков, Б.В. Зюман, С.М. Чебунин, Г.А. **Гаврилова**. - Благовещенск : РИО Амурского производственного объединения, 1988. - 60 с.
3. Макаров, Ю.А. Особенности эпизоотической ситуации по туберкулезу крупного рогатого скота на Дальнем Востоке / Ю.А. Макаров, **Г.А. Гаврилова** // Ветеринарная наука на службе АПК : тез. докл. обл. науч. - произв. конф. - Благовещенск, 1988. - С. 23 - 24.
4. Макаров, Ю.А. Результаты исследований на туберкулез в неблагополучном районе / Ю.А. Макаров, Г.А. Васильченко, **Г.А. Гаврилова**, Н.М. Мандро // Инфекционная патология сельскохозяйственных животных и пчел на Дальнем Востоке / ВАСХНИЛ, Сиб. отд.-ние. - Новосибирск, 1988. - С. 17 - 21.
5. Мандро, Н.М. Ускоренный метод бактериологической и биохимической идентификации микобактерий / Н.М. Мандро, **Г.А. Гаврилова**, М.Е. Михайленко // Профилактика и ликвидация основных болезней сельскохозяйственных животных на Дальнем Востоке : тез. докл. регион. науч.-произв. конф. (Благовещенск, 23 - 24 мая 1989 г.) / ВАСХНИЛ, Сиб. отд.-ние. - Новосибирск, 1989. - С. 7 - 8.
6. Макаров, Ю.А. Получение Л-форм микобактерий туберкулеза в культуре перитонеальных макрофагов белых мышей : метод, рекомендации / Ю.А. Макаров, **Г.А. Гаврилова**; ВАСХНИЛ, Сиб. отд.-ние. - Новосибирск, 1989. - 8 с.
7. Дифференциация туберкулиновых реакций у крупного рогатого скота : рекомендации / Ю.А. Макаров, А.С. Доаченко, **Г.А. Гаврилова**, Г.А. Васильченко, Н.М. Мандро, Я.Г. Диких; ВАСХНИЛ, Сиб. отд.-ние, Дальневост. зон. науч.-исслед. ветеринар. ин-т. - Новосибирск, 1989. - 8 с.

8. Неспецифические туберкулиновые реакции в хозяйствах Дальнего Востока / Ю.А. Макаров, Г.А. Васильченко, **Г.А. Гаврилова**, Г.В. Лещенко // Науч.-техн. бюл. / ВАСХНИЛ, Сиб. отд-ние, ДальЗНИВИ. - Новосибирск, 1990. - Вып. 1/2. - С. 8-11.
9. Бактериологический контроль при проведении аллергических исследований на туберкулез крупного рогатого скота : рекомендации / **Г.А. Гаврилова**, Ю.А. Макаров, Г.А. Васильченко, А.С. Кобяков, Н.П. Овдиенко; РАСХН, Сиб. отд-ние, ДальЗНИВИ. - Новосибирск, 1991. - 6 с.
10. Макаров, Ю.А. Выделение и индикация Л-форм микобактерий туберкулеза животных : рекомендации / Ю.А. Макаров, **Г.А. Гаврилова**, Г.В. Лещенко; РАСХН, Сиб. отд-ние, ДальЗНИВИ. - Новосибирск, 1991. - 12 с.
11. Лабораторный контроль при проведении, аллергических исследований животных на туберкулез / Ю.А. Макаров, **Г.А. Гаврилова**, Г.А. Васильченко, А.С. Кобяков // Инфекционная патология сельскохозяйственных животных и пчел на Дальнем Востоке, лечение и профилактика // Науч.-техн. бюл. / РАСХН, Сиб. отд-ние, ДальЗНИВИ. - Новосибирск. - 1991. - Вып. 3. - С. 7-9.
12. Васильченко, Г.А. Эпизоотология и основные направления научных исследований по туберкулезу крупного рогатого скота на Дальнем Востоке / Г.А. Васильченко, Ю.А. Макаров, **Г.А. Гаврилова** // Проблемы ветеринарного обеспечения животноводства Дальнего Востока : тез. докл. науч. сес. / РАСХН, Дальневост. отд-ние, ДальЗНИВИ. - Благовещенск, 1995. - С. 10-12.
13. **Гаврилова**, Г.А. Выделение микобактерий из биоматериала от реагирующих на туберкулин животных без подтверждения туберкулеза на вскрытии / **Г.А. Гаврилова** // Там же. - С. 13 - 14.
14. **Гаврилова**, Г.А. Определение микобактерий туберкулеза методом посева и иммунофлюоресценции из биоматериала от реагирующих на туберкулин животных / **Г.А. Гаврилова** // Тезисы докладов научно-практической конференции «Основные научные исследования по проблеме туберкулеза и бруцеллеза сельскохозяйственных животных, профилактика и организация мероприятий по ликвидации болезней в регионе Сибири» (Новосибирск, 12 - 13 июля 1995 г.) / РАСХН, Сиб. отд - ние, ИЭВСиДВ. - Новосибирск, 1995. - С. 73 - 74.
15. **Гаврилова**, Г.А. Лабораторный контроль при проведении противотуберкулезных мероприятий в стадах крупного рогатого скота // Автореф. дис. ... канд. ветеринар, наук / **Г.А. Гаврилова**. - Новосибирск, 1996. - 22 с.
16. Динамика титров антител к вирусу лейкоза у молодняка крупного рогатого скота до одного года / **Г.А. Гаврилова**, Т.М. Минхайдаров, Д.В. Симонов, Н.Н. Шульга, В.А. Артемов // Бюллетень научных исследований / ДальЗНИВИ. - Благовещенск, 1997. - С. 10 - 15.

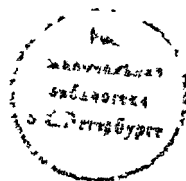
17. Динамика титров антител к вирусу лейкоза у молодняка крупного рогатого скота / Г.А. Гаврилова, Т.М. Минхайдаров, Ю.А. Макаров, А.А. Григоренко, Н.Ю. Диких // Бюллетень научных исследований / ДальЗНИВИ. - Благовещенск, 1998. - С. 12 - 16.
18. Взаимосвязь качества кормов с интенсивными технологиями земледелия / С.Г. Харина, А.Б. Козлова, Ю.А. Макаров, Г.А. Гаврилова // Там же. - С. 97 - 105.
19. Взаимосвязь между токсической дистрофией печени у свиней и загрязнением почвы, кормов ртутью и остаточными количествами дихлорфеноксиуксусной кислоты (2,4 - Д) / Ю.А. Макаров, Г.А. Гаврилова, С.Г. Харина, Ю.А. Гаврилов, А.А. Григоренко, Е.А. Головченко; ДальЗНИВИ. - Благовещенск, 1998. - 28 с.
20. Харина, С.Г. Выяснение причин токсической дистрофии печени у свиней / С.Г. Харина, Г.А. Гаврилова // Экологические аспекты эпизоотологии и патологии животных : междунар. науч.-произв. конф., посвящ. 100-летию со дня рождения В.Г. Котова (Воронеж, 19 - 21 мая 1999 г.). - Воронеж, 1999. - С. 424 - 426.
21. Гаврилов, Ю.А. Некоторые биохимические и морфологические показатели крови свиней при поражении печени / Ю.А. Гаврилов, Г.А. Гаврилова // Там же. - С. 281 - 283.
22. Некоторые аспекты этиологии токсической дистрофии печени у свиней и лейкоза крупного рогатого скота / Г.А. Гаврилова, Ю.А. Гаврилов, Н.Е. Горковенко, Е.А. Головченко // Болезни животных Дальнего Востока : материалы междунар. науч. конф. / ДальГАУ. - Благовещенск, 1999. - С. 56 - 58.
23. Горковенко Н.Е. Экологическая - географическая характеристика Амурской области / Н.Е. Горковенко, Ю.А. Макаров, Г.А. Гаврилова // Там же. - С. 120 - 122.
24. Гаврилова, Г.А. Естественная резистентность здорового и инфицированного вирусом лейкоза молодняка крупного рогатого скота на фоне загрязнения кормов / Г.А. Гаврилова, Ю.А. Гаврилов, Н.Ю. Диких // Проблемы зоотехнии, ветеринарии и биологии животных на Дальнем Востоке : сб. науч. тр. / ДальГАУ. - Благовещенск, 2000. - С. 21 - 24.
25. Миграция руги в агроэкосистеме: почва - растение (корм, рацион) - животное / С.Г. Харина, Ю.А. Гаврилов, Ю.А. Макаров, Г.А. Гаврилова // Миграция тяжелых металлов и радионуклидов в экосистеме : почва, растение (корм, рацион) - животное - продукт животноводства - человек : материалы Второго Междунар. Симп. - Великий Новгород, 2000. - С. 106 - 109.
26. Об исследовании быков-производителей на лейкоз в Среднем Приамурье / Г.А. Гаврилова, Ю.А. Макаров, П.П. Гогин, Т.М. Минхайдаров, А. К. Медведев // Теоретические и практические аспекты возникновения и развития болезней животных и защита их здоровья в современных условиях : материалы междунар. конф. - Воронеж, 2000. - Ч. 2. - С. 152.

27. **Гаврилова, Г.А.** Факторы защиты у инфицированного вирусом лейкоза крупного рогатого скота на фоне загрязнения кормов / **Г.А. Гаврилова, Ю.А. Макаров, Н.Ю. Диких**//Там же. - С. 150-151.
28. **Гаврилова, Г.А.** К вопросу оценки эпизоотической ситуации и диагностики лейкоза крупного рогатого скота в Приморском крае / **Г.А. Гаврилова, Ю.А. Макаров, С.В. Бахметьева** // Проблемы инфекционной патологии в регионах Сибири, Дальнего Востока и Крайнего Севера: вторая науч. конф. с междунар. участием. - Новосибирск, 2002. - С. 237-238.
29. Пат. 2200955 Российская Федерация, МПК⁷ G 01 N 33/53. Способ выявления больных лейкозом крупного рогатого скота животных / **Ю.А. Макаров, Г.А. Гаврилова, Ю.А. Гаврилов**; заявитель и патентообладатель Дальневост. зон. науч.-исслед. ветеринар. ин-т. - № 2001106465/13; заявл. 07.03.01; опубл. 20.03.03, Бюл. № 8. - 4 с.
30. **Гаврилова, Г.А.** Выявление лейкоза у инфицированных ВЛКРС животных с использованием РИД / **Г.А. Гаврилова** // Роль сельскохозяйственной науки в стабилизации и развитии агропромышленного производства Крайнего Севера : сб. материалов науч.- практ. конф., посвящ. 45-летию Якут. НИИСХ и 85-летию д-ра ветеринар. наук М.Г. Сафронова (Якутск, 26 - 27 декабря 2001 г.) / РАСХН, Сиб. отд-ние, Якут. НИИСХ. - Новосибирск, 2003. - С. 207-209.
31. Эпизоотическая ситуация по лейкозу быков-производителей / **Г.А. Гаврилова, Ю.А. Макаров, С.В. Бахметьева, Я.Г. Диких**// Ветеринария. -2003. - № 6. - С. 10 - 12.
32. Экологические факторы, вызывающие патологию печени у свиней / **Ю.А. Макаров, Г.А. Гаврилова, Ю.А. Гаврилов, Н.Е. Горковенко, С.Г. Харина, А.А. Григоренко, Е.А. Головченко** // Вестник РАСХН. - 2003. - № 4. - С. 76 - 79.
33. Оздоровление неблагополучных по туберкулезу крупного рогатого скота пунктов в регионе Дальнего Востока /**Г.А. Васильченко, Г.А. Гаврилова, Т.В. Кандыбина, Я.Г. Диких, В.И. Семенов** // Сибирский вестник с.-х. науки. - 2003. - № 3. - С. 20 - 23.
34. **Гаврилова, Г.А.** Патоморфологические реакции при персистировании в организме лабораторных животных L-форм микобактерий туберкулеза / **Ю.А. Макаров, Г.А. Гаврилова, Г.А. Васильченко, Т.В. Кандыбина** //Там же. - С 86-90.
35. Быки-производители как источник ВЛКРС-инфекции / **Г.А. Гаврилова, Ю.А. Макаров, Т.М. Минхайдаров, П.П. Гогин, С.В. Бахметьева** // Пути повышения эффективности научных исследований на Дальнем Востоке : сб. науч. тр. : в 2 т. / РАСХН, Дальневост. науч.-метод. центр, Прим. НИИСХ. - Новосибирск, 2003. — Т. 2 : Экономика, земледелие, механизация, животноводство. - С. 270 - 274.
36. **Гаврилова, Г.А.** Диагностика лейкоза крупного рогатого скота / **Г.А. Гаврилова, Ю.А. Макаров, С.В. Бахметьева**// Ветеринария. - 2004. - № 1. - С. 20 -23.

37. **Гаврилова, Г.А.** Аллергические туберкулиновые реакции у животных, инфицированных вирусом лейкоза / **Г.А. Гаврилова, Ю.А. Макаров, Г.А. Васильченко** // Ветеринарная патология. - 2004. - № 1 - 2. - С. 156-159.
38. Оздоровление хозяйств, неблагополучных по туберкулезу крупного рогатого скота / **Г.А. Васильченко, Г.А. Гаврилова, Т.В. Кандыбина, Я.Г. Диких, В.И. Семенов** // Вестник РАСХН. - 2004. - № 3. - С. 58-59.
39. Выявление больного лейкозом крупного рогатого скота с использованием РИД : методические рекомендации / **Г.А. Гаврилова, Ю.А. Макаров, М.И. Гулокин, Ю.А. Гаврилов, С.В. Бахметьева**; РАСХН, Дальневост. науч.-метод. центр, ДальЗНИВИ. - Благовещенск, 2004. - 13 с.
40. **Гаврилова, Г.А.** Развитие эпизоотического процесса лейкоза крупного рогатого скота в Амурской области / **Г.А. Гаврилова, С.В. Бахметьева** // Биологические ресурсы Российского Дальнего Востока : сб. материалов междунар. науч.- практ. конф. - Благовещенск, 23-24 сент. 2004 г.). - Благовещенск, 2004. - С. 111 -114.
41. Заявка 2004107917 Российская Федерация, МПК⁷ G 01 № 33/48. Способ выявления больных лейкозом крупного рогатого скота животных при алейкемическом и лейкопеническом проявлениях болезни / **Ю.А. Макаров, Г.А. Гаврилова, Ю.А. Гаврилов, С.В. Бахметьева**; заявитель Дальневост. зон. науч.-исслед. ветеринар, ин -т. - № 2004107917/15; заявл. 17.03.04.
42. **Гаврилова, Г.А.** Неспецифическая резистентность коров, инфицированных ВЛКРС и больных лейкозом / **Г.А. Гаврилова, С.В. Бахметьева** // Сибирский вестник с.-х. науки - 2005.- № 1. - С 117-120.
43. **Гаврилова, Г.А.** Анализ эпизоотической ситуации по лейкозу крупного рогатого скота на Дальнем Востоке / **Ю.А. Макаров, Г.А. Гаврилова, С.В. Бахметьева.** // РАСХН, Дальневост. науч.-метод. центр, ДальЗНИВИ. - Благовещенск, 2005. - 28 с.

Отпечатано в Амурск. обл. Благовещенск ул. Кузнечная, 23
Подписано в печать 12.05.05 г. Формат 60 x 84 1/16
Бумага офсетная. Усл. печ. л. 3,63 Уч. - изд. л. 3,41
Заказ № 1162 Тираж 100 экз

13 ИЮЛ 2005



1780