

На правах рукописи

**Разумовская
Валентина Владимировна**

**Совершенствование системы управления
эпизоотическим процессом лейкоза и бруцеллеза
крупного рогатого скота**

**16.00.03- ветеринарная микробиология, вирусология,
эпизоотология, микология с микотоксикологией
и иммунология**

**АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
доктора ветеринарных наук**

Барнаул 2004

Работа выполнена на кафедре эпизоотологии и ветеринарно-санитарной экспертизы ИВМ Алтайского ГАУ и в отделе профилактики и ликвидации болезней животных ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт пантового оленеводства СО Россельхозакадемии.

Научные консультанты:

доктор ветеринарных наук, профессор,
заслуженный деятель науки РФ

Смирнов Павел Николаевич

доктор ветеринарных наук.

заслуженный ветеринарный врач РФ

Никифоров Иван Порфирьевич

Официальные оппоненты:

доктор ветеринарных наук, профессор

Ощепков Владимир Григорьевич

доктор ветеринарных наук, профессор

Околелов Владимир Иванович

доктор биологических наук

Новиков Николай Алексеевич

Ведущая организация -

ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии им. Я.Р. Коваленко

Защита состоится 20 октября 2004 г., в 10 часов на заседании диссертационного совета Д 220.002.02 при Алтайском государственном аграрном университете (656922, г. Барнаул, ул. Попова, 276; факс 8-3852-31-30-48).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ИВМ Алтайского государственного аграрного университета.

Автореферат разослан "___" сентября 2004 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета, профессор



П.И. Барышников

1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы. Основополагающими документами, регламентирующими управление эпизоотическими процессами хронических инфекций сельскохозяйственных животных, в том числе крупного рогатого скота, являются инструкции, правила, методические указания, наставления, утвержденные МСХ РФ. По мере накопления научных знаний и практического опыта борьбы и профилактики той или иной нозологии в них периодически вносятся коррективы.

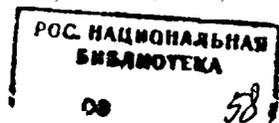
Вместе с тем в зависимости от биогеохимической зоны, особенностей эпизоотической ситуации, географического и экологического положения территорий возникает необходимость разработки и совершенствования системы управления эпизоотическими процессами хронических инфекций на основе получения новых научных знаний, результатов их производственного испытания (М.И. Гулюкин, 1996, 2003; А.И. Павлова и др., 1996; А.Т. Татарчук, И.М. Донник, В.Н. Красноперов, 1997; А.П. Кузнецов, 1997; Ю.Л. Смирнов, 1999; В.И. Околелов, Ю.С. Притужалов, 1999; П.Н. Смирнов, 2000; Н.И. Петров, 2000; В.В. Храмцов, М.А. Амиров, 2001).

В ряду хронических инфекций крупного рогатого скота в Алтайском крае особую актуальность представляют лейкоз, туберкулез и бруцеллез. Если по туберкулезу и бруцеллезу достигнуты определенные успехи в организации оздоровительной работы, число неблагополучных пунктов по ним сведено к единичным случаям, то лейкоз крупного рогатого скота, в частности, инфекция вируса лейкоза крупного рогатого скота (ВЛКРС) распространен более чем в 90 % сельскохозяйственных предприятий и организаций края.

Проблема бруцеллеза крупного рогатого скота в большей степени рассматривается с точки зрения обеспечения эффективности превентивных мер, то есть эффективности профилактических мероприятий. Одной из таких мер является вакцинопрофилактика. Оздоровление стад от бруцеллеза многие годы осуществлялось в крае с использованием вакцины из штамма Вг. abortus 82, которая может вызывать поствакцинальные осложнения (И.П. Никифоров, 1981, 1996; А.А. Новицкий с соавт., 1987, 1995; А.Г. Хлыстунов, С.К. Димов, 1988; К.В. Шумилов, 1997; И.А. Косилов, 1999).

Учеными Алтайской НИВС и ВГНКИ была сконструирована новая противобруцеллезная вакцина из неабортотенного, слабоагглютиногенного, стойкого к реверсии штамма Вг. abortus 75/79-АВ, выделенного И.П. Никифоровым (1975). Вакцину из этого штамма можно с успехом использовать на крупном рогатом скоте сельскохозяйственных предприятий и организаций всех форм собственности (К.В. Шумилов, И.П. Никифоров, 1996).

Учитывая широкое распространение инфекции ВЛКРС на территории края, представлялось актуальным изучение вопроса, касающегося формирования поствакцинального иммунитета у животных, инфицированных вирусом лейкоза, в поствакцинальный период. Комплексные исследования по данной проблеме позволили бы получить наиболее полную информацию и своевременно скорректировать систему управления эпизоотическим процессом бруцеллеза (А.С. Донченко, П.Н. Смирнов, А.Г. Хлыстунов, 1992; С.К. Димов, 1998; В.Г. Ощепков, 2000).



Имеющийся на вооружении ветеринарной службы арсенал средств, методов, опыта организации и, в целом, материально-технической базы, к сожалению, пока не позволяет быстро и эффективно оздоравливать стада от лейкоза в силу некоторых особенностей данной нозологии. Одним из недостатков является низкий предел чувствительности диагностического теста - РИД в агаровом геле с антигеном gr 51 ВЛКРС, отсутствие надежных методов диагностики, позволяющих обеспечить гарантированный контроль качества оздоровительных мероприятий, то есть полного благополучия оздоровленного стада (М.И. Гулюкин, 1999; М.И. Гулюкин, В.Н. Абрамов, 2003; В.В. Храмцов, 2002 и др.).

Итак, учитывая особенности эпизоотической ситуации по лейкозу и бруцеллезу крупного рогатого скота, уже изначально методология научного поиска сводилась постепенно к накоплению научных знаний и их практической проверке одновременно по этим двум нозологическим формам. Именно это легло в последующем в основу совершенствования системы управления эпизоотическими процессами. С учетом изложенного была определена основная цель исследования: провести комплексное эпизоотологическое, иммуноморфологическое и бактериологическое исследование крупного рогатого скота с целью получения новых знаний о хронических инфекциях — лейкоз и бруцеллез — и на их основе оптимизировать систему управления эпизоотическими процессами данных нозологии.

В соответствии с целью были определены следующие задачи:

1. Провести ретроспективный анализ эпизоотической ситуации по хроническим инфекциям (лейкоз, бруцеллез, туберкулез) крупного рогатого скота в Алтайском крае.

2. Выявить частоту вертикальной и горизонтальной передачи ВЛКРС.

3. Изучить особенности иммунного ответа у крупного рогатого скота, иммунизированного вакциной из штамма Вг. abortus 82 по фону экспериментальной инфекции ВЛКРС.

4. Изучить динамику показателей иммунного ответа у овец, экспериментально инфицированных ВЛКРС и затем иммунизированных вакциной из штамма Вг. melitensis Rev-1.

5. Провести оценку результатов производственного испытания противобруцеллезной вакцины из штамма Вг. abortus 75/79-АВ в системе противобруцеллезных мероприятий.

6. Провести сравнительное изучение динамики иммунного ответа на вакцину из штамма Вг. abortus 75/79-АВ у телят, спонтанно инфицированных ВЛКРС и интактных к данному вирусу. Выявить сроки выпадения серологических реакций у телок случного возраста, иммунизированных вакциной из штамма Вг. abortus 75/79-АВ.

7. Провести эпизоотологический анализ хозяйств Алтайского края по выявлению случаев одновременного реагирования крупного рогатого скота на лейкоз и туберкулез.

8. Изучить эффективность использования внутрикожной туберкулиновой пробы как способа провокации латентной инфекции ВЛКРС у крупного рогатого скота в неблагополучных по лейкозу стадах.

9. Разработать и реализовать программу эффективной борьбы с лейкозом крупного рогатого скота в Алтайском крае.

Научная новизна работы. Установлено, что экспериментальная инфекция ВЛКРС у животных сопровождается снижением активности клеточного и гуморального звеньев иммунной системы. Аналогичным (но более жестким) иммунодепрессивным эффектом обладает вакцина из штамма *Bg. abortus* 82. Впервые на экспериментальных моделях (овцы, телята) изучена динамика показателей иммунного ответа на противобруцеллезные вакцины из штаммов *Bg. abortus* 8 2, 75/79-ЛВ, *Bg. melitensis* Rev-1, применяемых по фону развития спонтанной и экспериментальной инфекции, вызываемой ВЛКРС, при этом выявлено неадекватное влияние на протективные свойства вакцины. В оздоровленных от лейкоза стадах крупного рогатого скота период синтеза антител (к штамму *Bg. abortus* 82) у животных удлиняется на 1,5-2 месяца, подтверждением чего является выявление животных, реагирующих в РА и РСК в низких титрах.

Установлено, что на первичный поствакцинальный ответ у телят (на вакцину из штамма *Bg. abortus*75/79-АВ) вирус лейкоза влияния не оказывает. Туберкулинизация животных с использованием ППД туберкулина для млекопитающих стимулирует синтез антител к ВЛКРС, что способствует выявлению латентных носителей инфекции ВЛКРС. Получены новые для территории Алтайского края данные, подтверждающие эпизоотическую значимость путей и факторов передачи ВЛКРС восприимчивым животным и распространению отдельных форм гемобластозов крупного рогатого скота. Показано, что наиболее объективным критерием качества оздоровления стад от лейкозной инфекции является метод групповой биопробы на овцах. Разработана в соавторстве и внедряется в условиях Алтайского края наиболее рациональная программа реализации "Правил по профилактике и борьбе с лейкозом крупного рогатого скота" (М, 1999), которая включает использование ППД туберкулина как препарата-провокатора и групповой биопробы на овцах на завершающей стадии оздоровления стад от лейкоза.

Практическое значение работы: Материалы работы были использованы при разработке следующих документов:

1. "Правила по профилактике и борьбе с лейкозом крупного рогатого скота", утвержденные МСХ и П РФ 11.05.99 г. и зарегистрированные в Минюсте РФ 04.06.99 г.

2. "Методические указания по диагностике лейкоза крупного рогатого скота", утвержденные ДВ МСХ РФ 23.08.2000 г.

3. Методические рекомендации "По эпизоотологическому исследованию при лейкозе крупного рогатого скота", утвержденные на заседании секции "Инфекционная патология животных" ОВМ РАСХН 30.05.2001 г.

4. "Наставление по применению вакцины против бруцеллеза крупного рогатого скота из штамма *Brucella abortus* 75/79-АВ живой сухой", утвержденное ДВ МСХ РФ 25.04.2003 г.

5. Методические рекомендации "Диагностика лейкоза крупного рогатого скота", утвержденные подсекцией "Инфекционная патология животных в регионе Сибири" ОВМ РАСХН (протокол № 6 от 23.06.2000 г.).

6. Методические рекомендации "Оценка естественной резистентности сельскохозяйственных животных", утвержденные на заседании секции "Инфекционная патология животных" ОВМ РАСХН 08.09.2003 г.

7. Постановление администрации Алтайского края "Об усилении мер по оздоровлению хозяйств края от лейкоза, туберкулеза, бруцеллеза крупного рогатого скота" (№ 245 от 03.09.93 г.).

8. Комплексный план организационно-хозяйственных, специальных ветеринарных мероприятий по профилактике и ликвидации лейкоза крупного рогатого скота в Алтайском крае на 1993 - 1995 г.", утвержденный Постановлением администрации Алтайского края № 245 от 03.09.93 г.

9. "Положение о Сертификате благополучия хозяйства (фермы) по хроническим инфекциям", утвержденное Постановлением администрации Алтайского края № 245 от 03.09.93 г.

10. Рекомендации "Повышение ветеринарного благополучия, снижение потерь от заболевания и гибели животных", утвержденные НТС Управления ветеринарии администрации Алтайского края (протокол № 5 от 04.02.98 г.) и подсекцией "Инфекционная патология животных в регионе Сибири и Дальнего Востока" ОВМ РЛСХН (протокол № 2 от 26.04.1999 г.).

11. Рекомендации "Лейкоз крупного рогатого скота", утвержденные Ученым советом ГНУ ВНИИПО СО РАСХН (протокол № 1 от 08.01.2003 г.), НТС Управления ветеринарии администрации Алтайского края (протокол № 1 от 07.03.2003 г.) и подсекцией "Инфекционная патология животных в регионе Сибири и Дальнего Востока" ОВМ РАСХН (протокол № 11 от 25.04.2003 г.).

12. Постановление администрации Алтайского края "Об утверждении плана мероприятий по профилактике и ликвидации лейкоза крупного рогатого скота в Алтайском крае на 2003 - 2010 г.г." № 30 от 24.01.2003 г.

13. "План мероприятий по профилактике и ликвидации лейкоза крупного рогатого скота в Алтайском крае на 2003 — 2010 г.", утвержденный Постановлением администрации Алтайского края № 30 от 24.01.2003 г.

Результаты исследований использованы для разработки научно обоснованных планов и программ по созданию свободных от инфекции ВЛКРС стад крупного рогатого скота в племенных хозяйствах, фермах и предприятиях Алтайского края, а также товарных сельскохозяйственных предприятиях всех форм собственности. Обобщены результаты широкого производственного испытания новой противобруцеллезной вакцины для крупного рогатого скота из штамма Br. abortus 75/79 АВ.

Апробация работы. Результаты диссертационной работы доложены на 23 научных и научно-практических конференциях, в том числе: Новосибирск (1991, 1995, 2003); Екатеринбург (1992, 2000); Якутск (1994); Краснодар (1996); Чита (2001); Горно-Алтайск (2001); Барнаул (1996, 1997, 2001, 2002, 2003); координационных совещаниях: Москва (1997); Новосибирск (1999); Екатеринбург (2000); Омск (2001, 2004); 4-й Международной научно-практической конференции "АПК Сибири, Монголии и Республики Казахстан в XXI веке" (Монголия, 2001); Международной научно-практической конференции "Актуальные проблемы диагностики, профилактики и терапии болезней животных в современных экологических условиях" (Барнаул, 2001); 5-й Международной научно-практической конференции "Научное обеспечение АПК Сибири, Монголии, Казахстана, Беларуси и Башкортостана" (Абакан, 2002); Международной научной конференции "Современные проблемы эпизоотологии" (Новосибирск, 2003); 2-й Международной конференции "Ветеринарная генетика, селекция и экология" (Новосибирск, 2003).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 40 научных работ.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 255 страницах и включает: введение, обзор литературы, собственные исследования, обсуждение результатов исследований, выводы, практические предложения, библиографию и приложения. Работа иллюстрирована 25 таблицами и 18 рисунками. Список литературы содержит 307 источников, из них 138 - зарубежных авторов.

Основные положения, выносимые на защиту.

1. Эпизоотическая ситуация по хроническим инфекциям крупного рогатого скота: лейкозу, бруцеллезу и туберкулезу - в Алтайском крае.

2. Частота вертикальной и горизонтальной передачи ВЛКРС в Западной Сибири.

3. Показатели иммунного ответа у крупного рогатого скота и овец, спонтанно и экспериментально инфицированных вирусом лейкоза, на противобруцеллезные вакцины.

4. Результаты производственного испытания противобруцеллезной вакцины из штамма *Brucella abortus* 75/79-AB в системе противобруцеллезных мероприятий.

5. Результаты использования внутрикожной туберкулиновой пробы как способа провокации латентных носителей ВЛКРС в стадах, благополучных по туберкулезу, но неблагополучных по лейкозу крупного рогатого скота.

6. Разработка и реализация программы эффективной борьбы с лейкозом крупного рогатого скота в Алтайском крае.

2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Работа выполнена на кафедре эпизоотологии и ветеринарно-санитарной экспертизы ИВМ Алтайского ГАУ, в ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт пантового оленеводства СО Россельхозакадемии (правопреемник Алтайской научно-исследовательской ветеринарной станции), в ряде племенных хозяйств Алтайского края в течение 1989 - 2004 годов. Ретроспективный анализ данных о распространении лейкоза, бруцеллеза и туберкулеза крупного рогатого скота проведен по 61 району Алтайского края на глубину 17 лет (1987 — 2003 годы).

Источником исходной информации служили материалы ветеринарной отчетности Управления ветеринарии администрации Алтайского края, Алтайской краевой ветеринарной лаборатории, Государственной ветеринарной службы территориально-административных районов об инфекционных болезнях крупного рогатого скота. При изучении эпизоотической ситуации использованы методики эпизоотологического обследования, описанные И.А. Бакуловым с соавт. (1975, 1976, 1982); С.И. Джупиной (1991); М.И. Гулюкиным с соавт. (2001). Распространение инфекции ВЛКРС (вируса лейкоза крупного рогатого скота), кроме того, изучали на основании результатов собственных исследований сывороток крови животных в РИД с гр-51 антигеном ВЛКРС.

Серологические и гематологические исследования животных проводили в соответствии с методическими указаниями по диагностике лейкоза крупного рогатого скота (М: Наука, 1989, 2000). Подсчет абсолютного содержания лимфоцитов

в 1 мкл крови проводили в камере Горяева с использованием фазово-контрастного микроскопирования (П.Н. Смирнов и соавт., 1989). В качестве наиболее чувствительного теста при диагностике лейкоза использовали метод биопробы на овцах в модификации В.В. Храмцова с соавт. (1991). Особенности распространения инфекции ВЛКРС и клинико-гематологического проявления болезни среди крупного рогатого скота на уровне районов изучали путем определения относительных показателей. Аллергические исследования животных на туберкулез проводили согласно Наставлению по диагностике туберкулеза животных (М.: 1986, 2002). Бактериологическое и гистологическое подтверждение диагнозов на лейкоз и туберкулез крупного рогатого скота проводили по ГОСТ 26072-89, ГОСТ 27318-87, ГОСТ 25382-82.

В экспериментальной части работы были использованы овцы и крупный рогатый скот. Согласно схеме-технологии в каждом опыте были сформированы следующие группы животных:

1. Иммунизированные противобруцеллезными вакцинами.
2. Экспериментально и спонтанно инфицированные ВЛКРС и иммунизированные противобруцеллезными вакцинами.
3. Интактные животные (контроль).

Для экспериментального заражения животных в качестве ВЛКРС-содержащего материала использовали гепаринизированную кровь гематологически больной лейкозом коровы. Вируссодержащий материал вводили внутривентриально, однократно — овцам в дозе 2 мл, телятам - 5 мл (схема заражения отработана в отделе лейкозов ИЭВСиДВ). Иммунизирующим материалом против бруцеллеза служили: для овец — агглютиногенная вакцина из штамма *Bg. melitensis* Rev-1 в дозе 2,0 млрд. м.к.; для телят - вакцины из слабоагглютиногенных штаммов *Bg. abortus* 82 в дозе 100,0 млрд. м.к. и *Bg. abortus* 75/79-AB в дозе 100,0 млрд. м.к. Иммунный ответ на вакцины изучали в РБП, РА, РСК с S- и РСК с R-антигенами, РИГА - в динамике. Напряженность иммунитета определяли у всех вакцинированных животных, заражая их вирулентным штаммом *Bg. abortus* 54 в дозе 20,0 млн. м.к. Уровень сывороточных иммуноглобулинов G₁, G₂ определяли с помощью электрофореза сывороток крови в геле агарозы марки В по методике, описанной В.М. Чекишсвым (1977). Общий белок в сыворотке крови определяли рефрактометрически.

Гуморальные и клеточные факторы естественной резистентности животных оценивали по показателям бактерицидной, лизоцимной активности сыворотки крови и фагоцитарной активности нейтрофилов периферической крови определяемым с помощью методик, описанных П.Н. Смирновым и соавт.(1989). Мононуклеарные клетки (МК) периферической крови для исследований *in vitro* выделяли центрифугированием проб крови животных по методу А. Вуури (1986).

Культивировали клетки в планшетах для иммунологических исследований при температуре 37 °С в воздухе с 5 % CO₂ и 100 % влажностью. Культуральная среда состояла из среды RPMI-1640 (Serva, Feinbiochemica, Heidelberg, ФРГ), дополненной 20 % инактивированной сыворотки крови крупного рогатого скота, 2 ммоль глутамина (L-glutamin, Flow Laboratories) и антибиотиками. Количество лимфоцитов, вносимых в лунку, составляло 0,1x10⁶ клеток в 0,15 мл инкубационной среды. Пролиферативный ответ стимулировали митогеном лакноноса (Роке-

weed Mitogen, Serva, Feirtbiochemica, Heidelberg, ФРГ) в конечном разведении 1:200, конканавалином А (Concanavalin Л. Serve, Feinbiochemica, Heidelberg, ФРГ) в дозе 10 мкг/мл; стандартным бруцеллезным антигеном в разведении 1:45000. Интенсивность пролиферации лимфоцитов оценивали через 96 часов по включению ³Н-тимидина в нуклеопротеидные фракции клеток. Результаты представляют средний счет (импУмин) из трех идентичных культур. Исследования *in vitro* проводились на базе НИИКИ СО РАМН (зав. сектором лейкозов — доктор биологических наук Е.Р. Черных).

В общей сложности серологическими, гематологическими, бактериологическими, гистологическими и биологическими методами исследовано 218 тыс. животных. Стандартная обработка вариационных рядов включала подсчет значений средних арифметических величин (M) и ошибок средних (t). Таблицы и иллюстрации содержат информацию в виде значения ($M \pm t$). Сравнение средних величин осуществляли с помощью параметрических критериев для независимых выборок по Г.Ф. Лакшгу (1980) с использованием t -критерия Стьюдента и непараметрических критериев для попарно-сопряженных выборок по Е.В. Гублеру (1978) с использованием U -критерия Вилкоксона-Манна-Уитни. Обработку цифровых данных производили с помощью персонального компьютера.

Экономический расчет упущенной выгоды по причине неблагополучия по лейкозу крупного рогатого скота определяли на основании показателей производственно-финансовой деятельности учхоза "Пригородное" в 2000 году (руководитель хозяйства - к.в.н. И.М. Гатилов).

3. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

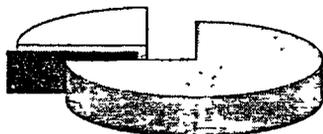
3.1. Распространение различных форм гемобластозов на территории Алтайского края

На 1 января 2001 года в Российской Федерации насчитывалось 2707 неблагополучных по лейкозу крупного рогатого скота пунктов, из них 143 находилось на территории Алтайского края, что составляет 5,3 % от общего числа. В крае ежегодно заболевают лейкозом 3000 коров, большая часть из них своевременно выбраковывается. Результаты гистологических исследований представляют научный интерес и практическую значимость при первичной постановке диагноза. Учитывая, что гистологические исследования ветеринарной службой края проводятся только в отделе патоморфологии и диагностики лейкозов животных Алтайской краевой ветеринарной лаборатории, мы использовали эти данные для получения наиболее достоверной информации о частоте распространения различных форм гемобластозов на территории края.

В 1995-2000 годах с диагностической целью в лабораторию поступило 256 проб биоматериала, из них в 115 случаях диагноз был подтвержден, что составило 45 %, в 4 случаях был установлен туберкулез, что составило 1,6 %. Наибольшее количество случаев выявления лейкоза получено в 1998 году - 65 %, в 1999 - 2000 годах этот показатель превышал 50 % от числа исследованных. По результатам исследований было установлено, что на территории края наиболее распространен лимфоидный лейкоз (рис. 1). Среди гемобластозов он занимает 72,2 %, а 23,5 %

приходится на долю лимфосаркомы и только 0,9 % — на лимфогранулематоз. Положительные результаты получены в 37 районах края.

Как известно, гистологическому методу исследования предшествует, согласно методическим рекомендациям, прижизненный серологический и гематологический. Для гистологического подтверждения диагноза материал отбирают только от животных с изменениями крови, характерными для лейкоза. В 40,5 % случаев это были коровы симментальской и черно-пестрой голштинизированной породы и в 19,0 % — красной степной. Поступление материала сопровождалось документами, в которых указывалось количество форменных элементов белой крови животных (лейкоциты, лимфоциты). Мы проанализировали, какое количество лейкоцитов и лимфоцитов в крови у животного могут служить показанием наличия у животного изменений в тканях и органах, характерных для лейкоза.



■, - 72,2 % – лимфоидный лейкоз; □ - 23,5 % – лимфосаркома;
 ■ - 0,9 % – лимфогранулематоз

Рис. 1. Относительные показатели частоты распространения разных форм гемобластозов на территории Алтайского края.

Абсолютное содержание лейкоцитов в периферической крови животных, убитых с диагностической целью, составляло от 12000 до 83000 клеток/мкл. Проведенный нами анализ результатов комплексных диагностических исследований крупного рогатого скота на лейкоз к 2003 году позволил сделать заключение о том, что благодаря плановым мероприятиям, проводимым ветеринарной службой края в последние 15 лет, снята эпизоотическая напряженность по данной нозологии. Подтверждением тому является отсутствие случаев регистрации острой формы гемобластозов, а также снижением абсолютного содержания лейкоцитов в 1 мкл крови гематологически больных лейкозом коров до 83000.

3.2. Оценка значимости вертикальной передачи вируса лейкоза

Экспериментальную часть работы по изучению частоты трансплацентарной передачи вируса лейкоза телятам от коров-матерей с разной степенью компрометации к лейкозу мы провели в производственных условиях трех хозяйств Алтайского края. Хозяйства занимаются разведением скота черно-пестрой породы. Учебное хозяйство АГАУ "Пригородное" в момент эксперимента являлось благополучным по инфекции ВЛКРС, племсовхоз "Троицкий" находился на завершающем этапе оздоровительно-профилактических мероприятий и ТОО племколхоз "Приозерный", инфицированность маточного поголовья вирусом лейкоза в котором составляла 80 %. В хозяйствах были подобраны группы глубоко стельных коров, после отела у которых брали пробы крови для серологического исследова-

ния на лейкоз. Одновременно брали пробы крови у новорожденных телят до выпойки им первой порции молозива.

В РИД с антигеном ВЛКРС было исследовано 144 пробы сыворотки крови от животных. После учета результатов исследования было получено 26 положительных и 118 отрицательных результатов, которые распределились следующим образом (табл. 1).

Таблица 1. Частота пренатальной передачи вируса лейкоза телятам от коров-матерей из хозяйств с разной эпизоотической ситуацией по лейкозу

Хозяйства	Исследуемые животные	Количество животных в опыте	Результаты исследований		
			Всего исследовано животных	РИД (+)	%
Учхоз "Пригородное"	корова-мать	25	25	-	-
	новорожденный теленок	25	25	-	-
Племсовхоз "Троицкий"	корова-мать	15	15	-	-
	новорожденный теленок	15	15	1	6,7
ТОО племколхоз "Приозерный"	корова-мать	32	32	24	75,0
	новорожденный теленок	32	32	1	3,1

Как видно из таблицы, серопозитивные животные были выявлены в племсовхозе "Троицкий" и ТОО "Приозерный". В ТОО "Приозерный" в 75 % случаев реагировали коровы-матери. И в одном случае положительная реакция была у новорожденного теленка, которая в РИД совпала с результатом коровы-матери, что составило 3,1 % от числа исследованных животных и 4,2 % от числа серопозитивных коров-матерей. В племсовхозе "Троицкий" коровы-матери не реагировали, но положительный ответ был получен у новорожденного теленка, что указывало на латентное вирусноносительство коровы-матери в течение длительного времени. По данному хозяйству частота пренатальной передачи составила 6,7 %. Среди животных, принадлежащих Учхозу "Пригородное", не выявлено реагирующих животных.

Результаты производственных исследований показали, что пренатальная передача вируса лейкоза имеет место как в неблагополучных по лейкозу стадах крупного рогатого скота, так и в стадах на заключительных этапах проведения оздоровительных мероприятий, и в нашем случае число внутриутробно инфицированных ВЛКРС телят составляет 4,3 % от числа исследуемых матерей.

3.3. Частота передачи ВЛКРС при совместном содержании инфицированных и интактных к вирусу коров

Изучение частоты передачи ВЛКРС при совместном содержании серопозитивных и интактных к вирусу коров мы провели в производственных условиях на красном степном скоте.

ТОО "Луч" Табунского района Впервые инфицированные животные здесь были выявлены в период весенних исследований 2000 года (табл. 2). Из таблицы

видно, что в течение 2000 - 2002 годов (25 месяцев) коровы пять раз были исследованы серологически на лейкоз

Таблица 2. Результаты серологических исследований на лейкоз крупного рогатого скота, принадлежащего ТОО "Луч" Табунского района

Дата исследования	Исследовано коров	Результаты исследований	
		РИД (+)	%
14.03.2000	200	5	2,5
18.05.2001	189	19	10,1
21.09.2001	216	32	14,8
11.03.2002	218	44	20,2
18.10.2002	221	57	25,8

Исследуемые животные содержались в одном помещении совместно с интактными животными, растел происходил в одном родильном отделении, доение коров осуществляли без учета инфицированности, в связи с чем в течение 25 месяцев пораженность стада вирусом лейкоза возросла в 10 раз. С весны 2001 года до весны 2002 года были выявлены 56 коров, инфицированных вирусом. Мы провели эпизоотологический анализ и установили, что во время стойлового содержания животных заражение вирусом лейкоза регистрировалось с интенсивностью до 6 коров в месяц. За этот же период времени мы отмечаем снижение титра антител к ВЛКРС ниже предела чувствительности РИД у 12,5 - 21,8 % серопозитивных животных в разные сроки исследования.

СП К "Истимисское" Ключевского района Животные, серопозитивные к ВЛКРС, впервые были выявлены в стаде в 1999 году, причем одновременно в общественном и частном секторе. Результаты исследования показали, что животные-носители ВЛКРС выявлены во всех половозрастных группах за исключением телят в возрасте шесть месяцев. Процент инфицированности животных увеличивался с увеличением возраста (рис. 2).



Рис. 2. Количество инфицированных ВЛКРС животных в СПК "Истимисское" Ключевского района в 2000-2001 годах

Количество серопозитивных коров в общественном стаде увеличилось за год в 1,6 раза, среди телочек в возрасте 6 месяцев - в 4 раза, 12-месячных - в 3 раза, наибольшее увеличение количества инфицированных животных произошло среди телок в возрасте 18 месяцев — в 5 раз.

Итак, динамика эпизоотического процесса лейкозной инфекции во всех изучаемых нами хозяйствах имела общие тенденции. Вместе с тем, учитывая особенности данных исследований (на популяционном уровне), мы вправе говорить о возможности горизонтальной передачи ВЛКРС безотносительно конкретных ее путей, не забывая при этом, что вирус лейкоза передается от источника инфекции восприимчивому животному с живой клеткой-лимфоцитом.

3.4. Регистрация одновременного реагирования крупного рогатого скота на ППД туберкулин для млекопитающих и в РИД с gp51 антигеном ВЛКРС

Учитывая, что инфекция, вызываемая вирусом лейкоза крупного рогатого скота, имеет широкое распространение на территории Алтайского края, мы провели эпизоотологический анализ одновременно по двум инфекциям - туберкулезной и лейкозной и установили, что за 1996 — 2001 годы в 37 районах Алтайского края ежегодно выявлялись животные, реагировавшие на ППД туберкулин для млекопитающих и серопозитивные к ВЛКРС, количество которых ежегодно варьировало.

Динамика неблагополучных по туберкулезу крупного рогатого скота пунктов в Алтайском крае отражает результаты бактериологического подтверждения диагноза "туберкулез". В остальных случаях положительный на НПД туберкулин ответ у животных расценивался как неспецифический, поскольку при бактериологическом исследовании биоматериала были выделены атипичные микобактерии III-IV групп (по классификации Раньона). Одновременно в таких стадах нам удалось установить, что животные, неспецифически реагирующие на ППД туберкулин, являлись не только носителями ВЛКРС, но имели изменения в органах и тканях, характерные для лейкоза.

Для определения частоты одновременного реагирования животных на ППД туберкулин для млекопитающих и в РИД с антигеном ВЛКРС, в стадах, благополучных по туберкулезу, но неблагополучных по лейкозу, мы выбрали два хозяйства, занимающиеся разведением крупного рогатого скота черно-пестрой породы.

Хозяйство Л расположено в Алейской зоне Алтайского края. При серологическом исследовании в 1989 году было выявлено 78 % коров, инфицированных вирусом лейкоза. На протяжении нескольких лет дойное стадо два раза в год исследовалось гематологическим методом, больные коровы выбраковывались. Одновременно в хозяйстве ежегодно выявлялись животные, реагирующие на ППД туберкулин (табл. 3).

Среди животных, реагирующих на ППД туберкулин, 70 % одновременно являлись носителями вируса лейкоза. Число гематологически больных лейкозом коров, реагирующих на ППД туберкулин, в отдельные годы достигало 10 %. Бактериологически туберкулез не подтверждался.

Таблица 3. Результаты диагностических исследований
дойного стада хозяйства Л на туберкулез и лейкоз в динамике

Год	Исследовано коров	Выявлено			
		больных лейкозом	%	реагирующих на ППД туберкулин	%
1992	625	14	2,2	40	6,4
1993	706	20	2,8	104	14,7
1994	550	8	1,5	46	8,4
1995	397	—		52	13,1
1996	350	2	0,6	75	21,4
1997	340	—		61	17,9
1998	300	—		23	7,7

Хозяйство В расположено в Приобской зоне края.

Серологическим (в РИД) исследованием коров, проведенным в 1994 году, выявили 80 % животных, инфицированных вирусом лейкоза, в том числе 2,1 % - гематологически больных лейкозом; 3,3 % реагировали аллергически на ППД туберкулин для млекопитающих. В динамике прослеживалась взаимосвязь между числом реагирующих на ППД туберкулин и гематологически больных лейкозом коров (табл. 4). Из таблицы 4 видно, что количество коров, реагирующих на ППД туберкулин для млекопитающих, заметно снижалось с уменьшением гематологически больных лейкозом.

Таблица 4. Результаты диагностических исследований
дойного стада хозяйства В на туберкулез и лейкоз в динамике

Год	Исследовано коров	Лейкоз		Туберкулез	
		гематологически больные коровы	%	реагировало на ППД туберкулин	%
1994	735	15	2,1	24	3,3
1995	758	20	2,6	16	3,4
1996	746	13	1,8	15	2,0
1997	693	14	2,0	8	1,2
1998	653	11	1,7	6	0,9

Гистологически диагноз на лейкоз в этом хозяйстве был подтвержден в 1996 году. Микроскопическими, бактериологическими и биологическими исследованиями биоматериала на туберкулез диагноз не подтвержден. Результаты проведенных исследований со всей очевидностью подтверждают возможность неспецифического реагирования на туберкулин коров, являющихся носителем вируса лейкоза. Данный вывод сделан нами на популяционном уровне.

3.5. Выявление животных с латентной инфекцией ВЛКРС методом провокации туберкулиновой пробой

Проведенный нами анализ эпизоотической ситуации по туберкулезу крупного рогатого скота в крае за последние 6 лет показал, что в 1996 году 6401, в 1997 - 2667 и в 2000 - 1400 животных реагировали на ППД туберкулин для млекопитающих в благополучных по туберкулезу стадах, то есть мы имели дело с неспецифическим реагированием животных на туберкулез.

Ранее нам удалось установить, что в стадах крупного рогатого скота, благополучных по туберкулезу, но неблагополучных по лейкозу, 70 % животных, реагирующих на ППД туберкулин для млекопитающих, одновременно являлись носителями вируса лейкоза. В этом случае остается наиболее актуальной задача проведения оздоровительно-профилактических мероприятий от лейкоза в наиболее короткие сроки и создание благополучных стад по данной нозологии.

Экспериментальная работа по дополнительному выявлению животных — скрытых носителей ВЛКРС - методом провокации туберкулиновой пробой (до 35%) позволяют говорить о том, что можно в более короткие сроки выявлять животных, являющихся источником инфекции ВЛКРС в оздоравливаемых стадах. В этой связи мы повсеместно стали осуществлять проведение серологической диагностики на лейкозную инфекцию только после аллергического исследования животных на туберкулез. Это позволило нам в более короткие сроки выявить скрытых носителей вируса лейкоза и своевременно изолировать их из основного стада. В качестве примера можно проследить динамику результатов серологических исследований на лейкоз при проведении оздоровительных мероприятий в двух хозяйствах края (рис. 3). По первому варианту исследования на лейкоз вели по традиционной схеме. По второму - после предварительно проведенной туберкулинизации.

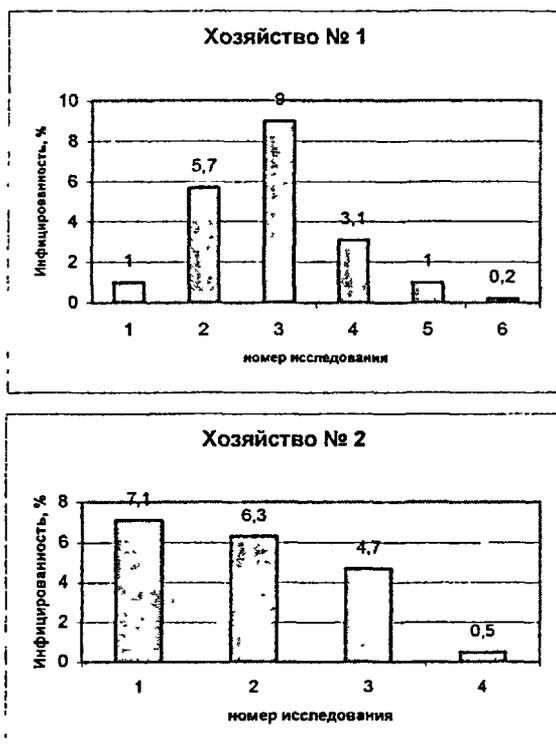


Рис. 3. Динамика результатов исследований животных в РИД с использованием "феномена провокации"

В результате изучения эпизоотической ситуации по инфекции ВЛКРС в первом хозяйстве было установлено, что первичная инфицированность коров составила 1 %, эти животные были изолированы от общего стада. Для хозяйства были разработаны мероприятия, своевременное проведение которых способствовало формированию свободного от лейкоза стада в короткие сроки, где было предусмотрено проведение последующих серологических исследований на лейкоз сразу же после плановых аллергических исследований на туберкулез. Реагирующих на ППД туберкулин животных не выявлено, а количество животных-носителей ВЛКРС возросло.

В этом варианте второе и третье исследования животных в РИД позволило выявить большое число животных-носителей ВЛКРС. Последующими исследованиями было выявлено незначительное количество инфицированных вирусом лейкоза коров, их полная своевременная изоляция способствовала скорейшему оздоровлению маточного стада от лейкозной инфекции.

В хозяйстве № 2 первое и все последующие серологические исследования проводили после проведения плановых аллергических исследований на туберкулез. Из рисунка 3 видно, что количество серопозитивных животных снижалось от исследования к исследованию. Все инфицированные коровы были выведены из основного стада. Благополучное по лейкозной инфекции стадо было получено в короткие сроки.

В исследованных нами хозяйствах инфицированность коров вирусом лейкоза не достигала 10 % и оздоровительные мероприятия проводились согласно "Правилам по профилактике и борьбе с лейкозом крупного рогатого скота" (Москва. 1999), которыми предусмотрена полная изоляция инфицированных ВЛКРС животных при сложившейся эпизоотической ситуации. В то же время у нас есть примеры создания безвирусных стад при подобной эпизоотической ситуации, где мы не применяли методы провокации иммунного ответа животных в тест-системе РИД с антигеном ВЛКРС. В этих случаях на оздоровление уходило 3 - 4 года, так как растягивались сроки выявления всех животных, инфицированных ВЛКРС, при этом требовались многократные (до 16) исследования.

В случае использования ППД туберкулина как стимулятора иммунной системы удается выявлять животных, инфицированных ВЛКРС, в два раза быстрее. За 1,5 - 2 года в таких случаях можно достичь полного благополучия оздоравливаемого стада по лейкозной инфекции.

3.6. Иммунный ответ у крупного рогатого скота и овец, инфицированных вирусом лейкоза, на противобруцеллезные вакцины

3.6.1. Динамика формирования иммунного ответа у овец, экспериментально инфицированных ВЛКРС и иммунизированных вакциной из штамма Br. melitensis Rev-1

Для получения результатов исследований об особенностях формирования функциональной активности иммунокомпетентной системы (ИКС) у животных, иммунизированных противобруцеллезной вакциной из штамма Br. melitensis Rev-1 по "чистому фону" и по фону развития инфекции ВЛКРС, были подобраны пятна-

дцать изначально интактных овец в возрасте пяти месяцев. Получив исходные (до заражения) параметры показателей ИКС по отработанной панели иммунологических тестов (БА, ЛА, ФА, уровень IgG1, IgG2, уровень пролиферативного ответа лимфоцитов крови на различные митогены), мы убедились в том, что они у всех выбранных нами животных были аналогичны.

В опыте были предусмотрены следующие группы овец:

1. Иммунизированные вакциной из штамма *Bg. melitensis* Rev-1;
2. Экспериментально инфицированные ВЛКРС и в последующем вакцинированные вакциной из штамма *Bg. melitensis* Rev-1;
3. Интактные животные - контроль.

В каждой из опытных групп было подобрано по пять овец, наблюдение за которыми проводили в течение 6,5 месяцев.

Анализ полученных результатов позволил установить следующее.

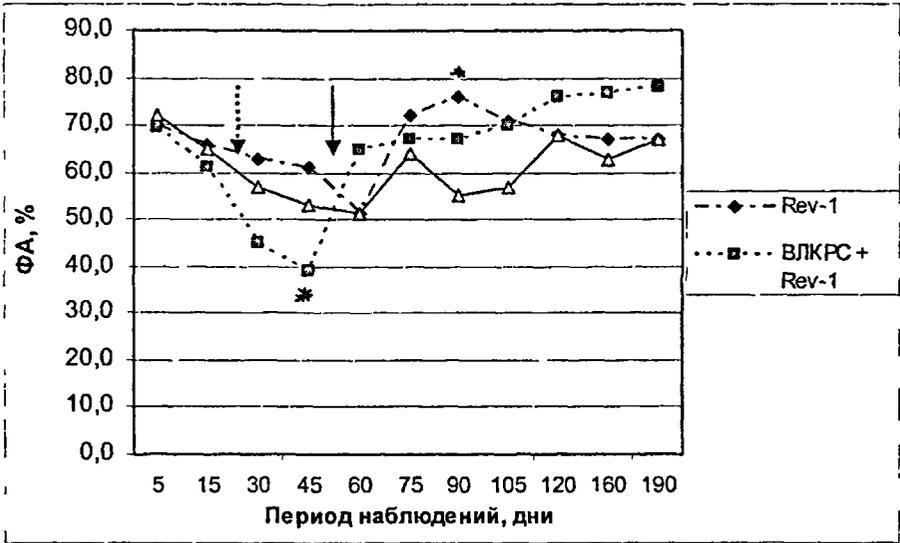
Динамика показателей бактерицидной активности сыворотки крови животных, иммунизированных вакциной из штамма *Bg. melitensis* Rev-1, в сравнении с таковыми у интактных животных отражала ингибирующее влияние вакцины на формирование бактерицидных свойств сыворотки крови во все периоды наблюдения, причем ингибирующий эффект был наиболее выражен через 1,5 — 2 месяца после иммунизации (рис. 4). В то же время напряженность бактерицидной активности сыворотки крови животных, иммунизированных вакциной по фону развития инфекции ВЛКРС, характеризовалась более выраженным снижением показателей под влиянием Rev-1 в течение 1,5-2 месяцев, чем у вакцинированных животных, интактных в отношении ВЛКРС (рис. 4). В последующие периоды просматривалось выравнивание траектории показателей БА сыворотки крови во всех группах.

В динамике показателей лизоцимной активности крови овец вакцинированной группы в сравнении с контролем достоверных различий не выявлено.

Траектория показателей фагоцитоза овец опытных групп (рис. 4) характеризовалась более высоким уровнем (в сравнении с контролем). Была выявлена активизация фагоцитарной активности нейтрофилов периферической крови под влиянием *Bg. melitensis* (штамм Rev-1).

Следовательно, если вакцинный штамм подавлял функциональную активность гуморального звена ИКС, то одновременно с этим он активизировал фагоцитоз. По уровню IgG1 и IgG2 в динамике иммунного ответа у овец на вакцину из штамма Rev-1 четкой закономерности выявить не удалось.

При изучении пролиферативного ответа лимфоцитов периферической крови, стимулированных различными митогенами, было установлено, что через 2,5 месяца после вакцинации митотическая активность лимфоцитов на Con A и PWM-митогены оставалась у опытных животных на уровне показателей интактных животных, а через 5 месяцев было выявлено подавление митотической активности на оба митогена в сравнении с контролем.



Примечания: * – различия с контролем достоверны; ↑↓ – введение инфицирующего материала: ⋯ – ВЛКРС, ↓ – Rev-1.

Рис. 4. Динамика показателей естественной резистентности у овец опытных и контрольной групп

Следует заметить, что в эти же сроки у животных, вакцинированных по "чистому фону", наблюдалась стимуляция пролиферативной активности как на митогены, так и в спонтанном варианте (рис. 5). Неожиданными оказались показатели митотической активности лимфоцитов на бруцеллезный антиген (рис. 5). Если через 2,5 месяца после вакцинации по "чистому фону" была зарегистрирована митотическая стимуляция активности лимфоцитов, то у овец, вакцинированных по фону инфекции ВЛКРС, пролиферативная активность на бруцеллин оставалась на уровне интактных животных. Однако уже через 5 месяцев уровень пролиферации

лимфоцитов под влиянием бруцеллина у овец, вакцинированных как по "чистому фону", так и по фону инфекции ВЛКРС, превышал показатели контрольных животных в 2 - 3 раза.

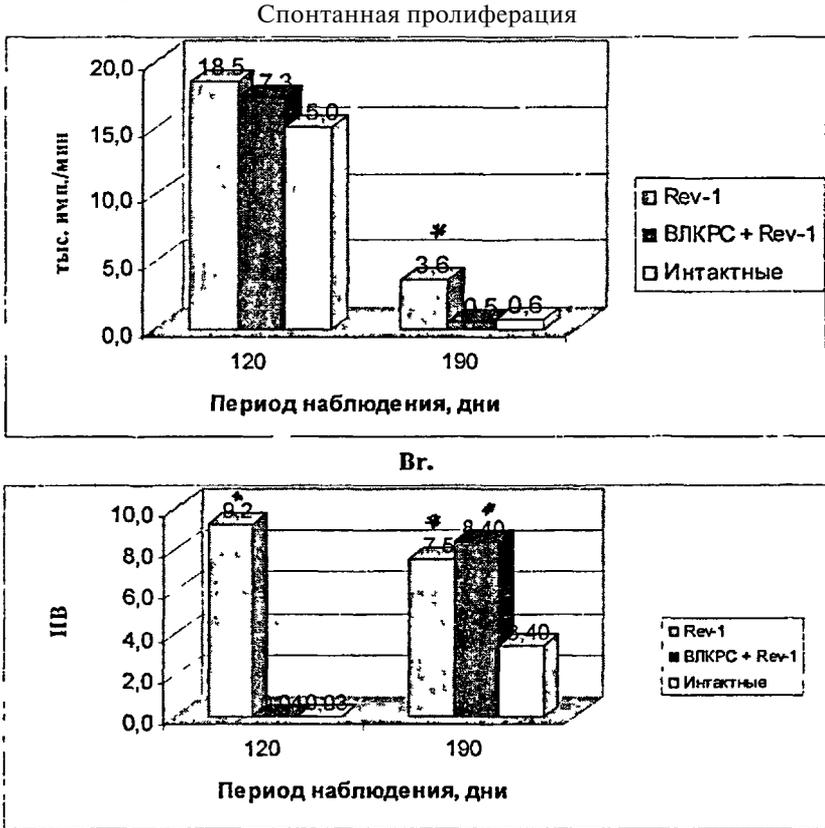


Рис. 5. Уровень пролиферативного ответа лимфоцитов периферической крови овец опытных и контрольной групп в спонтанной пролиферации и в культуре, стимулированной бруцеллезным антигеном

По уровню специфического иммунного ответа на вакцинный штамм Rev-1, изучаемого нами в РА и РСК можно сделать вывод, что у овец, иммунизированных по "чистому фону", сформировался относительно стойкий иммунный ответ на вакцину из штамма Rev-1, это было подтверждено в последующем отрицательными результатами экспериментального заражения животных патогенным штаммом Вр. abortus 54. Оценивая динамику синтеза противобруцеллезных антител у овец на

вакцину из штамма Rev-1, иммунизированных по фону инфекции ВЛКРС, в РА и РСК, следует обратить внимание на формирование относительно стойкого иммунитета. Различий в уровне синтеза антител во все периоды исследований относительно животных, иммунизированных по "чистому фону", не выявлено.

Несмотря на продукцию специфических противобруцеллезных антител в относительно высоком логарифме на вакцину из штамма Rev-1 у овец, иммунизированных по фону инфекции ВЛКРС, это не обеспечивает необходимой иммунной защиты (дефект в гуморальном звене иммунной системы). При проверке напряженности противобруцеллезного иммунитета у животных опытной группы путем заражения овец патогенным штаммом Br. abortus 54 у одного из пяти животных выявили прорыв иммунитета. Бактериологический анализ и биопроба подтвердили развитие бруцеллезной инфекции у этого животного.

3.6.2. Особенности формирования иммунного ответа у крупного рогатого скота, иммунизированного вакциной, из штамма Brucella abortus 82, по фону развития лейкозной инфекции

Исследования провели в строго контролируемом опыте на 9 быках в возрасте 4 - 5 месяцев, полученных из хозяйства, благополучного по хроническим инфекционным болезням. Ставя задачу получения наиболее объективных и полных данных по изучаемому вопросу, опытные животные были распределены, по аналогии с овцами, на три группы (две опытные и интактный контроль). Анализируя результаты исследований иммунного ответа на вакцину из штамма Br. abortus 82 в той же последовательности, следует отметить, что до 1,5-месячного срока наблюдений после вакцинации животных траектория показателей бактерицидной активности сыворотки крови не имела принципиальных отличий от контроля (рис. 6). Однако в течение следующего месяца наблюдался скачок в сторону увеличения с последующей нормализацией до конца опыта.





Примечания: * - различия с контролем достоверны ($pU < 0.05$); ↓ - введение инфицирующего материала

Рис. 6. Динамика показателей естественной резистентности крупного рогатого скота опытных и контрольной групп.

Одновременно исследования показали, что на введение вакцины из штамма *Bg. abortus 82* (по фону развития инфекции ВЛКРС) у животных наблюдалось повышение уровня бактерицидной активности сыворотки крови (рис. 6), имевшее кратковременный характер. В изменении уровня лизоцимной активности животных в опытных группах достоверных различий с контролем не выявлено.

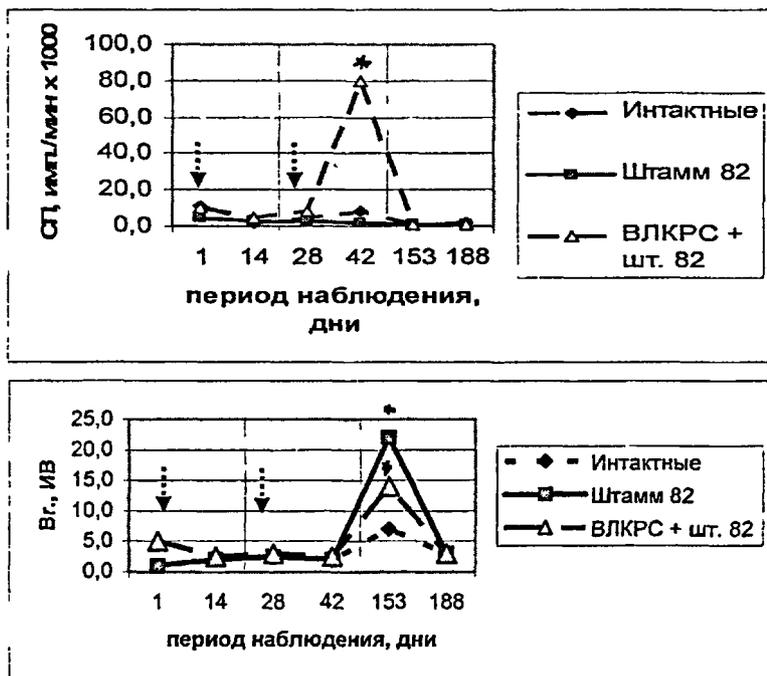
В динамике показателей фагоцитарной активности нейтрофилов было выявлено угнетение после введения в организм вакцинного штамма *Bg. abortus 82* (рис. 6). В динамике синтеза Ig класса G у вакцинированных по "чистому фону" животных была отмечена их стимуляция (особенно IgG₁) под влиянием вакцинного штамма.

Серологические исследования животных опытных групп в РА, РСК, РИГА подтвердили активное формирование специфического иммунного ответа на иммунизацию животных вакцинным штаммом *Bg. abortus 82*. Однако менее выраженный иммунный ответ на вакцину зарегистрирован по синтезу специфических антител у животных, вакцинированных по фону развития инфекции ВЛКРС. В опытах *in vitro* (рис.7) выявили достоверное снижение уровня спонтанной пролиферации лимфоцитов периферической крови вакцинированных телят.

В культуре лимфоцитов, стимулированных Т-клеточным митогеном Con A, отмечалось достоверное снижение пролиферативного ответа клеток на введение вакцины из штамма *Bg. abortus 82*. В период завершения синтеза специфических противобруцеллезных антител траектория показателей активности пролиферативного ответа лимфоцитов, стимулированных PWM, была достоверно выше уровня контроля, затем наблюдалось снижение данного показателя.

В силу токсичности действия вакцинного штамма на жизнеспособность лимфоцитов развитие ответа на бруцеллезный антиген удалось зарегистрировать в опытных группах в поздние сроки исследований (5 месяцев) (рис.7). В группе животных, инфицированных в динамике развития инфекции, исследованиями *in vitro* было установлено, что на митоген Con A пролиферативный ответ лимфоцитов был

понижен. Аналогичное снижение было зарегистрировано и на PWM, хотя сам по себе вирус лейкоза вызывал некоторую стимуляцию митотической активности лимфоцитов, вплоть до введения вакцины. Таким образом, экспериментальная инфекция ВЛКРС формировала состояние риска у животных в отношении получения активного иммунитета на вакцину из штамма Вг. abortus 82. Оно характеризовалось заметным снижением активности ИКС на вакцину, в том числе под влиянием ВЛКРС.



Примечания: * - различия с контролем достоверны ($p < 0.05$); ▾ - введение инфицирующего материала

Рис. 7. Динамика показателей уровня спонтанной пролиферации лимфоцитов и в культурах, стимулированных бруцеллезным антигеном, телят опытных и контрольной групп

3.6.3. Характеристика новой противобруцеллезной вакцины из слабоагглютиногенного штамма Вг. abortus 75/79-AB в системе противобруцеллезных мероприятий <

С 1997 года с целью специфической профилактики бруцеллеза крупного рогатого скота в крае используется вакцина из слабоагглютиногенного штамма Вг. abortus 75/79 AB (авторы - И.П. Никифоров, К.В. Шумилов).

В результате было установлено, что испытуемый штамм стойко сохранял свои биологические свойства при пяти пассажах через организм морских свинок и крупного рогатого скота. Он обладал более низкими вирулентными свойствами по сравнению с вакцинным штаммом 82, оказался неагглютиногенным в отношении S-антигена, в то время как с R-антигеном в РСК выявлялись R-антитела. Штамм приживался в организме морских свинок в течение 60 дней, а таток - 30 дней. Возможность миграции штамма не установлена.

В опытах на стельных коровах, ранее не подвергавшихся противобруцеллезным прививкам (1263 животных), после иммунизации вакциной из штамма 75/79-AB при наблюдении до отела было зарегистрировано восемь абортос (0,6 %). Поствакцинальная природа их была исключена. Таким образом, установили, что оптимальная иммунизирующая доза вакцины для крупного рогатого скота составила 100 млрд. м.к., она обеспечивала 100-процентную защиту животных при искусственном заражении их вирулентными культурами бруцелл через шесть месяцев после иммунизации и при этом не обладает abortогенными свойствами.

Все вышеизложенное подтверждает соответствие штамма Br. abortus 75/79-AB вакцинному, который можно использовать для иммунизации крупного рогатого скота против бруцеллеза, в том числе и на беременных животных, чем данный штамм выгодно отличается от вакцинного штамма Br. abortus 82.

3.6.4. Иммунный ответу крупного рогатого скота, спонтанно инфицированного ВЛКРС, на вакцину из штамма Br. abortus 75/79-AB

В хозяйстве, благополучном по лейкозу и бруцеллезу крупного рогатого скота, провели первый опыт по изучению иммунного ответа на вакцину из штамма Br. abortus 75/79-AB. В хозяйстве ранее не применялись противобруцеллезные вакцины. Из телок случного возраста, иммунизированных новой вакциной в дозе 100 млрд. м.к. подкожно в области средней трети шеи, выбрали в опытную группу 5 телок-аналогов. В контрольную группу вошли 5 телок, близких к аналогам, но не вакцинированных.

Наблюдение за клиническим состоянием привитых животных позволило установить, что аппетит у животных сохранен. Температура тела как у контрольных, так и у пяти вакцинированных животных при четырехкратном измерении в среднем не превышала норму - 39,5 °С. Контрольные исследования животных обеих групп, с целью оценки синтеза поствакцинальных антител по тест-системам РБП, РА, РСК с S- и РСК с R-антигенами, проводили через 15, 30, 60, 90, 180 дней после иммунизации животных.

Динамика результатов серологических исследований у животных опытной группы показала что, через 15 дней 80 % животных реагировало в тест-системе РБП, 60 % - в РСК со стандартным бруцеллезным антигеном и 100 % телок реагировало в РСК с R-антигеном. Однако уже к 30-му дню в сыворотке крови всех телок опытной группы агглютинины не регистрировали. В РБП реагировало 40 % вакцинированных животных, в РСК со стандартным антигеном - 60 % и с R-антигеном бруцелл - 100 % животных. Через два месяца после вакцинации РА по-прежнему оставалась отрицательной, сохранились только РСК с R- и S-

антигенами, соответственно, 100 и 40 %, а уже к 90-му дню поствакцинальные антитела в РСК снизились достоверно.

Итак, анализируя динамику формирования поствакцинального иммунитета у телок случного возраста (по титрам антител), можно сделать заключение о том, что противобруцеллезный иммунитет у телок, формируемый на вакцину из штамма Вг. abortus 75/79-AB, обеспечивает относительно стойкую иммунную защиту. При этом позитивной стороной данной вакцины является ее слабая агглютиногенность, что позволяет в наиболее короткие сроки (через 2 месяца) не регистрировать в сыворотке крови агглютининов, а через 3 месяца - и комплементсвязывающих антител к Вг. abortus.

Второй опыт был проведен в благополучном по бруцеллезу крупного рогатого скота, но неблагополучном по лейкозу хозяйстве. Для этого было сформировано две группы телок (опытная и контрольная) по 10 животных в каждой в возрасте 4 месяцев. После серологических исследований на бруцеллез и получения отрицательных результатов исследования животных первой группы иммунизировали вакциной из штамма Вг. abortus 75/79-AB в дозе 100 млрд м.к. Животных контрольной группы не иммунизировали.

Клинические исследования животных опытной группы показали, что в первый день после иммунизации имело место небольшое повышение температуры тела, до 41,3-41,5 °С, которая постепенно снижалась и к четвертому дню наблюдений приходила в норму. У некоторых животных на месте введения вакцины формировалась небольшая припухлость. Формирование иммунного ответа у животных на противобруцеллезную вакцину изучали в динамике, исследуя сыворотку крови на бруцеллез в тест-системах РБП, РА, РСК с S- и R-антигенами до вакцинации, а затем через 15, 30, 60, 90 и 180 дней после нее.

Иммунный ответ на вакцину был зарегистрирован у шести животных на 15-й день, что составило 60 %, и у 40 % животных - на 60-й день. Реакции в РБП полностью исчезли через 3 месяца после вакцинации. В РА 70 % животных реагировало на 15-й день, а к 30-му дню - у всех других животных опытной группы, к 60-му дню сыворотки крови иммунизированных телок в РА дали отрицательный результат. В РСК со стандартным антигеном к 15-у дню антитела были зарегистрированы у 4 животных, а к 30-му дню их число возросло до 70 %. К 60-му дню количество реагирующих животных снизилось, а при исследовании на 90-й день и далее реагирующих животных не обнаружили. В РСК с R-16/4-антигеном поствакцинальные антитела выявили через 30 дней после иммунизации у 9 животных, что составило 90 %, при исследовании через 60 дней их число снизилось до 40 %, а к 90-му дню серологические реакции у животных полностью исчезли. Параллельные исследования животных контрольной группы на бруцеллез во всех случаях дали отрицательный результат.

Одновременно с исследованием животных на бруцеллез их исследовали и на лейкозную инфекцию с 6-месячного возраста. Результаты показали, что при первичном исследовании положительную реакцию в РИД дали 12 животных из 20 исследованных (60 %). В последующем дополнительно было выявлено еще четыре телки. Следовательно, 16 животных из 20, взятых в опыт, оказались носителями ВЛКРС.

Напряженность иммунитета определяли у всех животных контрольной и опытной групп, заражая их вирулентным штаммом *Brucella abortus* 54-М ВГНКИ конъюнктивально в дозе 0,2 мл суспензии в физиологическом растворе, что соответствовало 15 млн. м.к. на одно животное. Через 50 дней после заражения все опытные и контрольные животные были комиссионно убиты, от каждого было отобрано по 21 пробе биоматериала для бактериологического исследования. В результате из органов всех десяти животных контрольной группы выделили культуру *Bg. abortus* 54-М, а из органов животных опытной группы данную культуру не выделили, последнее свидетельствует о формировании стойкого поствакцинального иммунитета у иммунизированных животных.

Резюме:

1. При первичной иммунизации телок 4-месячного возраста вакциной из штамма *Bg. abortus* 75/79-ЛВ формируется относительно стойкий противобруцеллезный иммунитет.

Наиболее активный синтез комплементсвязывающих и агглютинирующих антител против вакцинного штамма *Bg. abortus* наблюдается к двухмесячному периоду после иммунизации, а через три месяца реакции исчезают полностью.

2. Не выявлено достоверной разницы в динамике формирования поствакцинального иммунитета между телками, инфицированными ВЛКРС и свободными от данного вируса.

*3.6.5. Результаты применения вакцины из штамма *Bg. abortus* 75/79-АВ для профилактики бруцеллеза крупного рогатого скота на территории Алтайского края*

Приказами Департамента ветеринарии МСХ и П РФ и Управления ветеринарии администрации Алтайского края в 1997 году вакцина из штамма *Bg. abortus* 75/79-АВ была разрешена для широкого применения с целью профилактики бруцеллеза крупного рогатого скота на территории Алтайского края. В течение 1998-2002 годов вакциной было привито 563571 животное, в том числе 540581 - в общественном секторе и 22990 - в частных подворьях края. Вакцина применяется в 38 административных районах Алтайского края. Использование данной вакцины позволило сократить сроки оздоровления неблагополучных пунктов по бруцеллезу крупного рогатого скота в 3-4 раза в сравнении с применением для этих же целей вакцины из штамма *Bg. abortus* 82. Появилась возможность вакцинации животных частного сектора независимо от сроков стельности маток в неблагополучных по бруцеллезу пунктах края. Это в значительной мере позволило сократить затраты на проведение оздоровительно-профилактических мероприятий.

Динамика показателя неблагополучных по бруцеллезу крупного рогатого скота пунктов в полной мере отражает состояние эпизоотической ситуации по данному заболеванию на территории края (табл. 5).

Таблица 5. Динамика показателя неблагополучных пунктов по бруцеллезу крупного рогатого скота в Алтайском крае

Показатели	Годы										
	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002
Наличие неблагополучных пунктов на 01 01	-	4	3	1	3	3	5	2	-	-	1
Выявлено новых неблагополучных пунктов за год	4	-	1	2	2	2	1	1	-	1	-
Оздоровлено неблагополучных пунктов за год	-	1	3	-	2	-	4	3	-	-	-

Использование этой вакцины позволило значительно снизить количество животных с поствакцинальными реакциями (рис. 8). Из рисунка 8 видно, что в 1999-2002 годах произошло значительное сокращение реагирующих после вакцинации животных. Если в 1999 году их было 401 в 28 районах, то в 2002 - 38, причем только в 7 районах края. Подводя итоги широкого производственного испытания новой противобруцеллезной вакцины из штамма Вг. abortus 75/79-AB на территории Алтайского края следует отметить следующее. Обладая слабой агглютиногенностью, отсутствием абортотенности, данная вакцина является оптимальной для использования в ветеринарной практике, обеспечивает возможность оздоровления стад от бруцеллеза в короткие сроки с положительным эффектом.

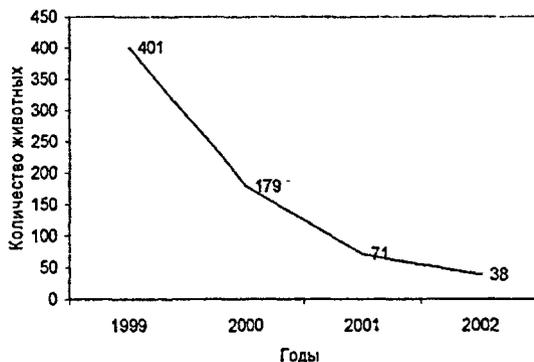


Рис. 8. Количество животных, реагирующих в серологических тестах на бруцеллез в 1999 - 2002 годах

3.7. Разработка и реализация методологии эффективной борьбы с лейкозом крупного рогатого скота в Алтайском крае

Территориально-географические и экологические особенности Алтайского края - большая протяженность, насыщенность градообразующих сельхозпредприятий и организаций (на территории 63 районов), территориальное соседство с

Китаем, Монголией, Казахстаном, Республикой Алтай, а также рядом областей Западной Сибири, тесные торговые связи, в том числе и в сфере агропромышленного комплекса. Учитывая, что лейкоз крупного рогатого скота в крае регистрируется относительно давно, а опыта организации четкой и результативной оздоровительной работы не имеется, мы разработали программу научно обоснованного подхода по данной проблеме. Во-первых, в основу был положен принцип этапности — от отдельных стад, через племенные хозяйства - районы - зоны (межрайонные территории) и до края в целом. Во-вторых, при разработке плана-программы любого уровня мы стремились вложить в него научное сопровождение как на основе собственных знаний, так и на основе использования того позитивного опыта, который накоплен другими разработчиками подобных программ в РФ и странах СНГ.

Методологически мы считали вполне обоснованным отработать последовательность выполнения всего комплекса оздоровительных мероприятий от лейкоза, идя при этом по пути минимализации экономического ущерба для хозяйства.

Изначально своей задачей мы ставили оздоровление от лейкоза головного племпредприятия "Барнаульское".

3.7.1. Обеспечение ветеринарного благополучия по лейкозу крупного рогатого скота на племсельхозпредприятии "Барнаульское"

Племсельхозпредприятие "Барнаульское" расположено в Центральном районе г. Барнаула. Государственный ветеринарный контроль его деятельности осуществляет территориальное управление ветеринарии по г. Барнаулу. Диагностические исследования, обеспечивающие ветеринарное благополучие животных, принадлежащих племсельхозпредприятию (ПСП), проводятся в Алтайской краевой ветеринарной лаборатории. Быки, используемые на племсельхозпредприятии "Барнаульское", характеризуются высокой продуктивностью. В среднем биопродукцией одного быка-производителя ежегодно осеменялись около 2500 - 2750 коров и телок, от которых получено более 2230 телят.

Серологические исследования на выявление быков, инфицированных ВЛКРС, начаты с 1988 года, до этого проводились только гематологические исследования на лейкоз. В динамике было прослежено выявление серопозитивных и гематологически больных лейкозом быков за 1988-1998 годы (табл. 6).

Таблица 6. Результаты серологических и гематологических исследований на лейкоз быков-производителей, принадлежащих ПСП "Барнаульское"

Год	Результаты исследований					
	серологических			гематологических		
	исследовано быков	выявлено		исследовано быков	выявлено	
		РИД +	%		больных	%
1	2	3	4	5	6	7
1988	200	65	32,5	65	3	4,6
1989	194	22	11,3	22	—	—
1990	189	2	1,1	—	—	—

1	2	3	4	5	6	7
1991	251	7	2,8	—	—	—
1992	150	5	3,3	—	—	—
1993	150	1	0,6	—	—	—
1994	134	—	—	—	—	—
1995	80	—	—	—	—	—
1996	63	—	—	—	—	—
1997	50	—	—	—	—	—
1998	50	—	—	—	—	—

Учитывая сложившуюся эпизоотическую ситуацию, нами совместно с ветеринарной службой г. Барнаула и специалистами Алтайской НИВС была разработана "Программа оздоровительно-профилактических мероприятий от лейкоза крупного рогатого скота в ПСП "Барнаульское" на 1997 - 2000 годы". Программа состояла из специальных и организационно-хозяйственных мероприятий. Безусловное выполнение всех пунктов программы позволило обеспечить благополучие ПСП "Барнаульское" по лейкозу.

3.7.2. Формирование стад крупнорогатого скота, свободных от инфекции ВЛКРС, в племенных хозяйствах края

После проведения первичных серологических исследований на наличие инфекции вируса лейкоза в дойных стадах племенных хозяйств края мы установили, что инфекция ВЛКРС имеет место во всех племенных хозяйствах за исключением племсовхоза «Славгородский» Славгородского района и племсовхоза «Свободный» Родинского района (табл. 7). Наиболее высокий уровень реагирующих в РИД установлен у черно-пестрого скота в п/с-зе «Приозерный» (81,8 %), у симментальского — в п/с-зе "Змеиногорский" (56,0 %) и п/с-зе «Чистюньский» (50,2 %), у красно-степного - в п/к-зе «Новый путь» (56,6 %). Одним из важных показателей развития эпизоотического процесса лейкоза крупного рогатого скота является уровень гематологически больных животных, который составил в среднем по племенным хозяйствам 9,2 %. Самая высокая заболеваемость установлена у симментальского скота в п/с-зе «Северный» (33,3 %), у черно-пестрого - в п/с-зе «Приозерный» (24,2 %) и у красного степного скота в п/к-зе «Новый путь» (22,2 %).

Сотрудниками НПС "Сибонковец" и ведущими специалистами ветеринарной службы ГП «Алтайское» были разработаны научно обоснованные планы оздоровительно-профилактических мероприятий от лейкоза конкретно для каждого хозяйства, каждой фермы, реализация которых позволила за короткий срок (3 года) значительно снизить количество инфицированных животных в маточном стаде. Количество гематологически больных лейкозом животных уменьшилось в 2,8 раза, а доля заболеваемости снизилась с 9,2 до 2,1 %. Схема проведения противолейкозных мероприятий, включающая пофермовское разделение животных на серопозитивные и серонегативные группы, позволила создать благополучные по лейкозу крупного рогатого скота стада и в других племенных хозяйствах Алтайского края.

В учебно-опытном хозяйстве «Пригородное» первоначальная инфицированность среди коров составляла 74,5%, в племосовхозе "Верхнеобский" Смоленского района - 62,0 %, в племенном совхозе "Косихинский" Косихинского района- 16,4 %, в племенном совхозе "Обь" Калманского района - 55,2 %, племосовхозе «Троицкий» - 34,0 %. В хозяйствах Родинского района количество коров-вирусоносителей составляло 4,0 - 4,5 %. Проведение противолейкозных мероприятий предусматривало ежеквартальное серологическое исследование на лейкоз коров и выбраковку всех серопозитивных, серологическое исследование молодняка всех половозрастных групп старше 6 месяцев, выбраковку серопозитивных в группу откорма; в на частных подворьях - замену серопозитивных коров серонегативными нетелями.

Таблица 7. Показатели инфицированности крупного рогатого скота ВЛКРС и заболеваемости лейкозом (при первичном исследовании племенных стад)

№	Наименование хозяйства	Порода крупного рогатого скота	Результаты исследований					
			серология			гематология		
			исследовано коров	РИД (+)	%	исследовано коров	больных	%
1	«Катунь» Бийского р-на	черн. п.	550	269	48,9	269	7	2,6
2	«Сростинский» Бийского р-на	сим.	1250	355	28,5	355	5	15,5
3	«Верхнеобский» Смоленского р-на	черн. п.	750	465	62,0	465	18	3,9
4	«Троицкий» Троицкого р-на	черн. п.	700	238	34,0	238	11	4,6
5	«Приозерный» Зонального р-на	черн. п.	830	679	81,8	679	16	24,2
6	«Косихинский» Косихинского р-на	черн. п.	700	118	16,9	118	5	4,2
7	«Родинский» Родинского р-на	кр. ст.	600	27	4,5	27	3	11,1
8	«Степной» Родинского р-на	кр. ст.	580	23	4,0	23	1	4,3
9	«Свободный» Родинского р-на	кр. ст.	600	—	—	—	—	—
10	«Новый путь» Благовещенского р-на	кр. ст.	540	280	51,6	248	55	22,2
11	«Победа» Кулундинского р-на	кр. ст.	1450	307	21,2	307	12	3,9
12	«Славгородский» Славгородского р-на	сим.	929	—	—	—	—	—
13	«Обь» Калманского р-на	черн. п.	900	497	55,2	497	56	11,3
14	«Чистоньский» Топчихинского р-на	сим.	700	351	50,2	351	1	0,3
15	«Чарышский» Усть-Калманского р-на	сим.	900	323	35,9	323	9	2,8
16	«Покровский» Краснощековского р-на	сим.	950	369	38,3	369	25	6,8
17	«Северный» Змеиногорского р-на	СИМ.	400	102	25,5	102	34	3,3
18	«Змеиногорский» Гретьяковского р-на	СИМ.	700	392	56,0	384	9	2,3
19	«Красный Октябрь» Ребрихинского р-на	черн. п.	720	578	80,3	578	29	5,0
Всего			14749	5373	36,4	5373	494	9,2

Итак, в случае своевременного выполнения всей программы оздоровительно-профилактических мероприятий по лейкозу сформировать безвирусные стада удастся в течение 2 - 4 лет. По итогам 10-летней работы в племенных и товарных хозяйствах был приобретен опыт оздоровления стад от лейкоза при различной эпизоотической ситуации (первоначальный показатель инфицированности коров составлял 4,0 - 74,5 %).

3.7.3. Планирование и организация противолейкозных мероприятий на территории административного района

Сложная эпизоотическая ситуация по инфекции, вызываемой вирусом лейкоза крупного рогатого скота, сложившаяся на территории Алтайского края, потребовала принятия кардинальных решений по данной нозологии в сельскохозяйственных предприятиях всех форм собственности. В 2003 году администрацией Алтайского края было принято Постановление № 30 от 24.01.2003 г. "Об утверждении плана мероприятий по профилактике и ликвидации лейкоза крупного рогатого скота в Алтайском крае на 2003 - 2010 гг.", согласно которому предусматривалось выполнение организационно-хозяйственных и специальных ветеринарных мероприятий в профилактике и ликвидации лейкоза крупного рогатого скота во всех 63 районах края, с учетом селекционной и племенной работы. В каждом территориальном управлении ветеринарии был разработан пакет документов по ликвидации лейкозной инфекции крупного рогатого скота, который включал "План мероприятий по профилактике и ликвидации лейкоза крупного рогатого скота" с учетом эпизоотической ситуации, то есть числа неблагополучных пунктов по инфекции и экономического положения сельскохозяйственных предприятий. Контроль исполнения Постановления администрации района "Об утверждении плана мероприятий по профилактике и ликвидации лейкоза крупного рогатого скота в районе на 2003 — 2010 г.г." возложен главами администраций на начальников управлений сельского хозяйства, а непосредственными исполнителями являются: территориальное управление ветеринарии, руководители хозяйств, главы сельских администраций, племенная зоотехническая служба района, ветеринарная и зоотехническая службы хозяйств.

Руководствуясь этими документами, а также "Правилами по профилактике и борьбе с лейкозом крупного рогатого скота" (М., 1999 г.), мы совместно с государственной ветеринарной службой разработали конкретные планы противолейкозных мероприятий, причем в первую очередь для официально объявленных неблагополучных пунктов, а затем для всех сельскохозяйственных предприятий разных форм собственности, занимающихся разведением скота, исходя из конкретной эпизоотической ситуации. В 2003 году в Алтайском крае было исследовано на инфекцию ВЛКРС 905869 голов крупного рогатого скота в возрасте от 6 мес. и старше. При этом было выявлено 62199 вирусносителей, из них выбраковали 10435 животных. При гематологическом исследовании 251344 коров выявили 3620 больных лейкозом. Вес они своевременно выбракованы на мясо.

Заметим, что за 2003 год в крае выбыло 44463 головы крупного рогатого скота, в том числе 10851 корова. При этом по причине лейкоза - 14055 голов, что составило 31,6 % от общего числа выбывших животных. В настоящее время в крае

имеется 672 сельскохозяйственных предприятия разных форм собственности, занимающихся скотоводством. В 117 из них не имеется животных, инфицированных вирусом лейкоза, а 138 являются неблагополучными по лейкозной инфекции и расположены в 50 районах края. В 2003 году было оздоровлено от лейкоза 4 неблагополучных пункта и вновь объявлено 9 в 6 районах.

3.7.4. Использование биопробы на овцах в схеме прошиволейкозных мероприятий

Следует отметить, что метод биопробы до 2000 года использовался лишь в научно-исследовательских целях в опытах по выявлению вируса в крови, молоке, молозиве, а также в слюне, фекалиях и сперме инфицированных ВЛКРС животных. Модифицированный В.В. Храмцовым и соавторами в 1991 году метод биопробы был назван групповым, поскольку предполагал получение и использование для инокуляций овце суммарного объема лейкоконцентрата, полученного от группы (до 500 животных), на предмет выявления среди них скрытого вирусоносительства. Новые методические указания по диагностике лейкоза крупного рогатого скота предусматривают постановку биопробы на наличие ВЛКРС-инфекции сборной пробой крови от 100 - 200 животных стада. Учитывая, что на частных подворьях, в фермерских хозяйствах крупный рогатый скот тесно контактирует с овцами, мы выбрали хозяйства различных форм собственности, занимающихся разведением крупного рогатого скота и овец. Диагностические исследования на лейкоз позволили определить уровень инфицированности коров вирусом лейкоза в опытных стадах, а также установить возможность переживания ВЛКРС в организме овец, содержащихся на территориях этих хозяйств и находящихся в контакте со скотом, обслуживаемым одними и теми же ветеринарными специалистами. По результатам исследований было установлено, что среди обоих видов животных, находящихся в разных условиях содержания и использования, не выявлено носителей вируса лейкоза в колхозе им. Калинина Бийского района.

Наибольшая доля инфицированных животных установлена среди крупного рогатого скота общественного стада в колхозе "Путь Ильича" Тюменцевского района (64,1 %). В частном секторе 28,3 % животных являлись также серопозитивными, что позволило сделать заключение о том, что в каждом третьем подворье имеется источник инфекции лейкоза. В ГПЗ "Родинский" при первичных исследованиях крупного рогатого скота было выявлено 3,7 % серопозитивных животных в общественном стаде и 0,5 % - в частном секторе. Популяция крупного рогатого скота, принадлежавшего ТОО "Сибмеринос", длительное время оставалась благополучной в отношении инфекции ВЛКРС, но в период очередных плановых серологических исследований было первично выявлено три серопозитивных коровы.

Все исследованные нами пробы сыворотки крови овец в РИД дали отрицательный результат. Отсюда мы делаем вывод о том, что овцы не являются естественным резервуаром ВЛКРС и не могут служить источником возбудителя данной инфекции, так же как и инфицированный вирусом лейкоза крупный рогатый скот не является источником инфекции для овец, содержащихся на общих подворьях.

Благополучие овцепоголовья по инфекции ВЛКРС позволило нам использовать этот вид животных в качестве биопробы для выяснения истинного эпизо-

отического состояния дойных стад по инфекции ВЛКРС в колхозе им Калинина Бийского района и ТОО "Сибмеринос" Рубцовского района Алтайского края.

В колхозе им. Калинина имелось 600 коров черно-пестрой породы. Для постановки биопробы исследуемых животных условно разделили на две группы по 300 коров. Овец-реципиентов предварительно исследовали в РИД на наличие в сыворотке крови специфических антител к вирусу лейкоза крупного рогатого скота. Их содержали изолированно до начала и в течение всего периода постановки биопробы. На основании отрицательной биопробы через полтора месяца было сделано заключение о том, что маточное поголовье крупного рогатого скота в колхозе им Калинина Бийского района благополучно по инфекции ВЛКРС. Это хозяйство получило сертификат Управления ветеринарии администрации Алтайского края о благополучии крупного рогатого скота по инфекции ВЛКРС и длительное время являлось поставщиком молочной продукции в детские учреждения города Бийска.

В другом стаде коров, принадлежащем ТОО "Сибмеринос" Рубцовского района, длительное время считавшимся благополучным по лейкозной инфекции, впервые сыворотки крови трех коров дали положительный результат в РИД с антигеном ВЛКРС. Для биопробы было отобрано четыре овцы, которые до начала и в течение опыта содержались изолированно. У овец-реципиентов исключили наличие в сыворотке крови антител к ВЛКРС, после чего им внутрибрюшинно ввели по 2 мл гепаринизированной крови от этих серопозитивных животных. В качестве контроля использовали гепаринизированную кровь от гематологически больной лейкозом коровы. Результаты опыта представлены в табл. 9.

Из таблицы видно, что все овцы в разные сроки положительно отвечали в тест-системе РИД с антигеном ВЛКРС. На 14-й день после постановки биопробы положительно реагировали в РИД две овцы, а на 21-й день у всех животных синтез противовирусных антител достигал уровня, улавливаемого в РИД.

Таблица 9. Результаты исследований в РИД на ВЛКРС-инфекцию овец, использованных в качестве биопробы в колхозе им. Калинина

Инвентарный номер овцы для биопробы	Инфицирующий материал	Результат исследований в РИД в динамике						
		до заражения	после заражения					
			7 дней	14 дней	21 день	28 дней	35 дней	45 дней
00758 (контроль)	кровь от коровы 4114 РИД (+), гем больная	-	-	-	+	+	+	+
00093 (опыт)	кровь от коровы 3568 РИД (+)	-	-	+	+	+	+	+
00894 (опыт)	кровь от коровы 3421 РИД (+)	-	-	+	+	+	+	+
00275 (опыт)	кровь от коровы 3688 РИД (+)	-	-	-	+	+	+	+

Серопозитивные коровы содержались изолированно и после получения первых положительных результатов биопробы были сданы на мясокомбинат.

Итак, результаты данной работы позволяют сделать заключение о том, что использование биопробы на овцах в качестве наиболее чувствительного диагностического теста является доступным и экономически целесообразным, который можно широко применять в ветеринарной практике для объективного мониторинга эпизоотической ситуации территории по лейкозу крупного рогатого скота, а также, что не менее важно, для контроля качества оздоровления стад, особенно на его завершающей стадии.

3.8. Экономическая оценка эффективности оздоровительной работы от лейкоза крупного рогатого скота на модели учебного хозяйства "Пригородное"

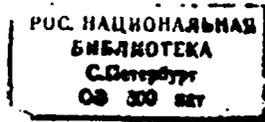
Лейкоз крупного рогатого скота причиняет значительный экономический ущерб сельскохозяйственным предприятиям разных форм собственности, в том числе индивидуальным. Недооценка экономических аспектов, связанных с этим заболеванием крупного рогатого скота, может привести к росту заболеваемости, что, в конечном счете, создает условия увеличения в общей популяции животных количества особей, предрасположенных к лейкозу и ослабления местного, адаптированного генофонда крупного рогатого скота.

Результаты серологического исследования на лейкоз маточного поголовья скота, принадлежащего учхозу "Пригородное", в 1988 году позволили нам установить, что 74,5 % коров являются носителями вируса лейкоза, а 11,9 % коров от числа вирусоносителей находилось в гематологической стадии лейкоза. Гистологические исследования подтвердили диагноз, в результате чего хозяйство было объявлено неблагополучным по лейкозу крупного рогатого скота. Для полного оздоровления стада от лейкоза потребовалось 12 лет.

Учитывая все вышеизложенное, можно утверждать, что инфекция ВЛКРС нанесла хозяйству значительный экономический ущерб. Мы проанализировали это в рыночных ценах 2000 года.

Исходными показателями для исчисления экономического ущерба при лейкозе крупного рогатого скота были взяты следующие:

1. Наличие поголовья скота, в том числе коров, в хозяйстве.
2. Количество коров, признанных по результатам диагностических (гематологических) исследований больными лейкозом.
3. Количество племенных телок, инфицированных вирусом лейкоза крупного рогатого скота.
4. Среднегодовая продуктивность коров.
5. Выход телят на 100 коров.
6. Закупочная цена 1 центнера молока.
7. Закупочная цена 1 центнера живой массы крупного рогатого скота.
8. Реализационная цена (по факту) одного племенного животного.
9. Средняя живая масса одной головы племенного молодняка.
10. Средняя живая масса одной головы крупного рогатого скота.
11. Затраты на содержание маточного стада.
12. Стоимость побочной продукции.



Экономический ущерб, причиненный лейкозом крупного рогатого скота учебному хозяйству "Пригородное" в 2000 году, определяли по "Методике определения экономической эффективности ветеринарных мероприятий", утвержденной Департаментом ветеринарии МСХ и П РФ 21 02.97 года. Хозяйство находилось на заключительном этапе проведения оздоровительно-профилактических мероприятий по лейкозу крупного рогатого скота. В течение года по причине лейкоза было выбраковано 75 животных всех возрастов: 41 корова, 16 телок 18-месячного возраста, 5 телок 12-месячного возраста и 13 телок 6-месячного возраста. Экономический ущерб от преждевременной выбраковки животных составил 537 159 рублей. Ущерб от недополучения приплода составил 16 758 рублей, при условии, что среднегодовой выход телят на 100 коров составил в хозяйстве 79 голов. Экономический ущерб от снижения качества продукции, полученной от больных животных, составил 171 963 рубля. Учитывая то, что учебное хозяйство "Пригородное" является племенным репродуктором, наибольший экономический ущерб лейкоз крупного рогатого скота причинил селекционно-племенной работе, утрата племенной ценности животных нанесла ущерб в сумме 9 601 950 рублей.

Общий экономический ущерб, причиненный лейкозом крупного рогатого скота хозяйству, **составил 10 327 830 рублей только в 2000** году, когда инфицированные вирусом лейкоза животные были сконцентрированы на одной МТФ. Кроме того, на проведение всех ветеринарных мероприятий в этом же году было израсходовано 101 000 рублей. Полная ликвидация лейкоза позволила более грамотно планировать и проводить селекцию крупного рогатого скота, повышая их резистентные и продуктивные качества. Если в 2000 году среднегодовой надой на одну корову составлял 4236 кг, то уже в 2003 году этот показатель вырос до 5481 кг. Среди коров-заказниц среднегодовой надой на одну корову составил 6900 кг. Значительно улучшился выход телят на 100 коров. Если в 2000 году этот показатель составлял 79 %, то в 2003 году - 91 %.

Все вышеизложенное позволяет сделать заключение о том, что в стадах крупного рогатого скота, инфицированного вирусом лейкоза, невозможно планировать и проводить научно обоснованные мероприятия, направленные на улучшение продуктивных качеств животных, повышение их резистентности, и в целом создавать полноценный генофонд крупного рогатого скота.

Выводы

1. Инфекция, вызываемая вирусом лейкоза крупного рогатого скота, на территории Алтайского края имеет широкое, но неравномерное распространение, причем уровень инфицированности стад не зависит от их породной принадлежности.

2. В Алтайском крае по результатам комплексных диагностических исследований крупного рогатого скота на лейкоз установлена территориальная приуроченность лимфоидного лейкоза (72,2 % от числа всех гемобластозов), 23,5 % составляет лимфосаркома и 0,9 % - лимфогранулематоз.

Вертикальная передача ВЛКРС в неблагополучных по лейкозу стадах Алтайского крадрегистрируется в 3 - 7 % случаев у телят, родившихся от инфицированных коров матерей .

3. Реализация научно обоснованной программы оздоровления стад от лейкоза крупного рогатого скота в крае позволила за 10 лет стабилизировать эпизоотическую ситуацию в сельскохозяйственных предприятиях по инфицированности, заболеваемости и неблагополучию.

4. Иммунизация овец вакциной из штамма *Bg. mehtensis Rev-1* влияет на развитие экспериментальной инфекции ВЛКРС: с одной стороны, сопровождается относительно высоким уровнем синтеза противобруцеллезных антител, а с другой — развитием иммунодепрессивного состояния - ингибацией *in vitro* пролиферативного ответа лимфоцитов крови на бруцеллин, *Con. A* и PWM-митогены.

5. Снижение показателей гуморального и клеточного иммунитета на вакцину из штамма *Bg. mehtensis Rev-1* у овец, предварительно инфицированных ВЛКРС, сопровождается, в конечном счете, снижением протективных свойств вакцины и дает, таким образом, основание считать, что вирус лейкоза выступает в качестве ингибитора иммунного ответа овец на вакцину.

6. Под влиянием вакцины из штамма *Bg. abortus 82* у телят развивается иммунодепрессивное состояние - семикратное снижение уровня спонтанной пролиферации лимфоцитов и угнетение пролиферативного ответа клеток на *Con. Л* и PWM-митогены.

7. Развитие иммунного ответа на вакцину из штамма *Bg. abortus 82* у телят, предварительно инфицированных ВЛКРС, характеризовалось снижением уровня синтеза противобруцеллезных антител. По общей тенденции снижения показателей клеточного и гуморального иммунитета такие животные могут быть отнесены к группе риска.

8. Поствакцинальный иммунитет у телок случного возраста, формируемый на вакцину из штамма *Bg. abortus 75/79-AB*, обеспечивает относительно стойкую иммунную защиту.

9. Сравнительная динамика показателей иммунного ответа на введение вакцины из штамма *Bg. abortus 75/79-AB* у телок разных возрастных групп (4 и 18 месяцев) выявила различия, состоящие в том, что наиболее активно и в короткие сроки реагируют на вакцину телки 4-месячного возраста с последующей элиминацией у них (до 60 дней после вакцинации) поствакцинальных серологических реакций.

10. По результатам широкого производственного испытания противобруцеллезной вакцины из штамма *Bg. abortus 75/79-AB* на территории Алтайского края установлено, что, обладая слабой агглютиногенностью, отсутствием abortогенных свойств, она является оптимальной для использования в ветеринарной практике, обеспечивает возможность оздоровления стад от бруцеллеза в короткие сроки.

11. Комплексными исследованиями крупного рогатого скота в 37 районах края выявлены случаи одновременного реагирования животных на инфекцию ВЛКРС и туберкулез. При комиссионном убое таких животных в отдельных благополучных по туберкулезу, но неблагополучных по лейкозу хозяйствах регистрировали изменения, характерные для лейкоза.

12. Этиология, патогенез и эпизоотическая ситуация гемобластозов крупного рогатого скота определяют особенности планирования, организации и контроля противолейкозных мероприятий, включая использование ППД туберкулина как препарата-провокатора и групповой биопробы на овцах на завершающей стадии оздоровления стад от лейкоза.

13. Упущенная по причине лейкоза экономическая выгода в хозяйстве, имеющем статус племенного, при 30 %-ной инфицированности стада ВЛКРС, за год составила 10 327 830 рублей; в расчете на 1 корову - 15 144 рубля (в ценах 2000 года).

Практические предложения

Обоснованные настоящими исследованиями материалы включены в нормативные документы, обеспечивающие ветеринарное благополучие по лейкозу крупного рогатого скота на территории Российской Федерации и более конкретизированы для Алтайского края с учетом эпизоотической ситуации, географического и экологического положения территории, а также особенностей развития скотоводства в регионе. Полученные в экспериментах данные используются для прогнозирования и углубленного изучения эпизоотических процессов хронических инфекций крупного рогатого скота. Предложенные нами рекомендации по диагностике лейкоза крупного рогатого скота используются в практической ветеринарной лабораторной диагностике, а также в научно-исследовательских лабораториях.

Результаты широкого производственного испытания противобруцеллезной вакцины из штамма Vg. abortus 75/79-AB на территории Алтайского края подтвердили преимущество использования ее в ветеринарной практике и были использованы при разработке "Наставления по применению вакцины против бруцеллеза крупного рогатого скота" (М., 2003).

Эффективная реализация оздоровительно-профилактических мероприятий согласно "Правилам по профилактике и борьбе с лейкозом крупного рогатого скота" (М., 1999) может быть достигнута только при комплексном подходе, с учетом эпизоотической ситуации в стадах по другим хроническим инфекциям, при научно-методическом обеспечении всех этапов работы, до получения конечного результата, подкрепленного постановкой биопробы на овцах.

Планирование и организацию оздоровительно-профилактических мероприятий по бруцеллезу и туберкулезу в неблагополучных стадах необходимо осуществлять одновременно с оздоровительными мероприятиями по лейкозу крупного рогатого скота. Результаты исследований используются в учебном процессе при подготовке и переподготовке ветеринарных специалистов.

Ряд положений диссертации использован в методических рекомендациях "Оценка естественной резистентности сельскохозяйственных животных" (Новосибирск, 2003) и научно-методическом пособии "Ветеринарно-экологический атлас Алтайского края" (Барнаул, 2004).

СПИСОК ОСНОВНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Оценка естественной резистентности крупного рогатого скота: Метод, рекомендации / Сост.: П.Н. Смирнов, В.М. Чекишев, В.В. Разумовская и др./ ВАСХНИЛ, Сиб. отд.-ние. ИЭВС и ДВ. - Новосибирск, 1989. - 21 с.

2. Разумовская В.В. Особенности иммунного ответа у овец и телят, экспериментально инфицированных ВЛКРС, на противобруцеллезные вакцины / Соавт.: П.Н. Смирнов, А.Г. Хлыстунов, Е.Р. Черных // Тезисы докладов III Всесоюз. конф. по эпизоотологии, 24-26 сентября 1991 г. - Новосибирск, 1991. - С. 104 - 106.

3. Разумовская В.В. Динамика показателей естественной резистентности овец и телят, экспериментально инфицированных ВЛКРС / Сибирск. вестник с.-х. науки. - Новосибирск, 1992. - № 12. - С. 80 - 82.

4. Разумовская В.В. Формирование иммунного ответа на вакцину из штамма Рев-1 у овец, экспериментально инфицированных ВЛКРС / Соавт.: П.Н. Смирнов, А.Г. Хлыстунов // Эпизоотические инфекционные процессы. Теоретические и практические аспекты: Сб. науч. тр. - Новосибирск, 1992. - С. 27 - 30.

5. Разумовская В.В. Эпизоотические аспекты лейкоза крупного рогатого скота в Алтайском крае / Соавт.: Т.В. Бокова, В.А. Степнов // Перспективные направления экологических, эпидемиологических и эпизоотических проблем в Республике Саха для совершенствования ветеринарного обслуживания: Докл. Якутской респуб. науч.-практ. конф., 5-6 апреля 1994 г. - Якутск, 1994. - С. 129 - 131.

6. Разумовская В.В. Апробация вакцины из штамма *Brucella abortus 75/79-AB* на крупном рогатом скоте / Соавт.: И.П. Никифоров, К.В. Шумилов, С.К. Димов и др. // Ветеринария. - 1995. - № 8. - С. 20 - 23.

7. Разумовская В.В. Совершенствование мер борьбы с лейкозом крупного рогатого скота в Алтайском крае // Проблемы профилактики и лечения заболеваний сельскохозяйственных животных: Сб. науч. тр. / РАСХН. Нечерноземн. отд-ние. Свердловская НИВС. - Екатеринбург, 1995. - С. 71 - 73.

8. Разумовская В.В. Результаты комплексных исследований при выяснении причин туберкулиновых реакций у животных благополучных ферм Алтайского края / Соавт.: И.П. Никифоров, Т.В. Бокова, В.А. Степнов // Основные научные исследования по проблеме туберкулеза и бруцеллеза сельскохозяйственных животных, профилактика и организация мероприятий по ликвидации болезней в регионе Сибири: Тезисы докл. науч.-практ. конф., Новосибирск, 12 - 13 июля 1995 г. / РАСХН. Сиб. отд-ние. - Новосибирск, 1995. - С. 39-40.

9. Разумовская В.В. Изучение иммуногенных свойств и оптимальной иммунизирующей дозы экспериментальной противобруцеллезной вакцины из штамма *Brucella abortus 75/79-AB* / Соавт.: И.П. Никифоров, Т.В. Бокова, Г.С. Корж // Ветеринария. - 1995. - № 12. - С. 29 - 32.

10. Разумовская В.В. Иммунный ответ у телят и ягнят при экспериментальной лейкозно-бруцеллезной инфекции // Проблемы адаптации сельскохозяйственных животных: Докл. регион, науч.-практ. конф., Новосибирск, 1995 / РАСХН. Сиб. отд-ние. - Новосибирск, 1995. - С. 217 - 221.-

11. Разумовская В.В. Контроль благополучия стад крупного рогатого скота по инфекции, вызываемой вирусом лейкоза, методом биопробы на овцах в производственных условиях / Соавт.: С.П. Юдин, Т.В. Бокова, В.А. Степнов // Состояние и перспективы развития научных исследований по профилактике и лечению болезней сельскохозяйственных животных и птиц: Мат. науч. конф., посвященной 50-летию Краснодарской НИВС. Краснодар, 1996 / РАСХН. - Краснодар, 1996. - С. 90-93.

12. Разумовская В.В. Распространение инфекции, вызываемой вирусом лейкоза крупного рогатого скота, на территории Алтайского края / Соавт.: Т.В. Бокова // Актуальные проблемы патологии животных и человека: Мат. науч.-практ. конф. Барнаул, 14-16 мая 1996 г. - Барнаул: Изд-во АГАУ, 1996. - С. 60 - 61.

13. Разумовская В.В. Выявление животных - скрытых носителей вируса лейкоза крупного рогатого скота — методом провокации туберкулиновой пробой / Соавт.: Т.В. Бокова, С.П. Юдин // Мат научн. конф. молодых ученых по вопросам ветеринарии, посвященной 100-летию Алтайской аграрной науки. - Барнаул, 1997. - С. 20-21.
14. Разумовская В.В. Эпизоотология лейкоза крупного рогатого скота в Алтайском крае / Соавт.: В.А. Апалькин, Т.В. Бокова, С.И. Субботин // Ассоциативные инфекции сельскохозяйственных животных и новые подходы к их ликвидации и профилактике: Тезисы докл. науч. конф., посвященной 50-летию Алтайской НИВС. - Барнаул, 1997. - С. 30-31.
15. Разумовская В.В. Организация и проведение научно обоснованных мероприятий при оздоровлении от лейкоза крупного рогатого скота в Алтайском крае / Соавт.: В.А. Апалькин, Т.В. Бокова, С.И. Субботин // Ассоциативные инфекции сельскохозяйственных животных и новые подходы к их ликвидации и профилактике: Тезисы докл. науч. конф., посвященной 50-летию Алтайской НИВС. — Барнаул, 1997. - С. 33 - 34.
16. Рекомендации по повышению ветеринарного благополучия, снижению потерь от заболевания и гибели животных / Сост.: В.А. Апалькин, А.С. Донченко, И.И. Гуславский, В.В. Разумовская и др. // Производство продукции сельского хозяйства в Алтайском крае в современных условиях: проблемы и решения: Рекомендованы к печати подсекц. "Инфекционные патологии животных в регионе Сибири и Дальнего Востока" отделения ветеринарной медицины Россельхозакадемии (протокол № 6 от 04.03.1998 г.) и регион, науч.-практ. конф. 4-5 марта 1998 г. - Барнаул, 1998. - Ч. 1. - С. 439 - 457.
17. Разумовская В.В. Лейкоз крупного рогатого скота в племенных стадах Алтайского края / Соавт.: Т.В. Бокова, В.В. Самодуров // Продовольственная безопасность - XXI век: эколого-экономические аспекты: Сб. науч. тр. - Екатеринбург, 2000. - Т. 1. - С. 379 - 3284.
18. Правила по профилактике и борьбе с лейкозом крупного рогатого скота / Сост.: М.И. Гулюкин, П.Н. Смирнов, В.В. Храмцов, В.В. Разумовская и др. // Минсельхозпрод России, 11 мая 1999 г., Минюст России, 4 июня 1999 г., № 1799 // Сб. закон. РФ, 1999, № 38, ст. 4808.
19. Диагностика лейкоза крупного рогатого скота: Метод, указания / Сост.: В.И. Белоусов, М.И. Гулюкин, П.Н. Смирнов, В.В. Разумовская и др. / Минсельхоз России, 23 августа 2000 г., № 13-7-2/2130.⁴- 22 с.
20. Диагностика лейкоза крупного рогатого скота: Метод, рекомендации / Сост.: П.Н. Смирнов, В.В. Храмцов, В.В. Смирнова, В.В. Разумовская и др. / РАСХН, Сиб. отд-ние, ИЭВС и ДВ. - Новосибирск, 2000. - 21 с.
21. Разумовская В.В. Лейкоз крупного рогатого скота // Агрорынок. - 2000. - № 22. - С. 8-9.
22. Разумовская В.В. Особенности распространения инфекции ВЛКРС и лейкоза крупного рогатого скота с учетом возрастных и породных характеристик стад // Вестник Алтайской науки. - 2001. - № 1. - С. 97 - 99.
23. Разумовская В.В. Биопроба как прижизненный метод диагностики лейкоза крупного рогатого скота // Вестник Алтайского ГАУ. - Барнаул, 2003. - № 3. - С. 108.

24. Разумовская В.В. Оздоровление крупного рогатого скота учхоза Алтайского ГАУ "Пригородное" от лейкоза / Соавт.: И.М. Гатиллов // Ветеринарные проблемы Забайкалья: Сб. науч. тр. / РАСХН. Сиб. отд.-ние. НИИВВС. - Новосибирск, 2001. - С. 56-59.

25. Разумовская В.В. Изучение путей передачи вируса лейкоза крупного рогатого скота и выявление источников инфекции // Аграрные проблемы Горного Алтая: Сб. науч. тр. / РАСХН. Сиб. отд.-ние. ГАНИИСХ. - Новосибирск, 2001. - С. 129-131.

26. Разумовская В.В. Эпизоотическая ситуация по лейкозу крупного рогатого скота в экологически неблагоприятных территориях Алтайского края // АПК Сибири, Монголии и Республики Казахстан в XXI веке: Мат. 4-й Междунар. науч.-практ. конф. Улан-Батор, 9 - 10 июля 2001 г. / РАСХН. Сиб. отд.-ние. - Новосибирск, 2001. - С. 335.

27. Разумовская В.В. Распространение различных форм гемобластозов крупного рогатого скота в Алтайском крае / Соавт.: Р.Н. Ли, Л.С. Бабкина, Т.П. Тагирова, Н.А. Шевелева // Актуальные проблемы диагностики, профилактики и терапии болезней животных в современных условиях: Мат. Междунар. науч.-практ. конф. Барнаул, 29 - 30 августа 2001 г. / РАСХН. Сиб. отд.-ние. - Барнаул, 2001. - С. 148-149.

28. Разумовская В.В. Научно-практические основы управления эпизоотическим процессом лейкоза крупного рогатого скота в Алтайском крае / Соавт.: Н.Ф. Печенникова, В.В. Самодуров // Актуальные проблемы диагностики, профилактики и терапии болезней животных в современных условиях: Мат. Междунар. науч.-практ. конф. Барнаул, 29 - 30 августа 2001 г. / РАСХН. Сиб. отд.-ние. - Барнаул, 2001. - С. 171-174.

29. Методические рекомендации по эпизоотологическому исследованию при лейкозе крупного рогатого скота / Сост.: М.И. Гулюкин, П.Н. Смирнов, А.Т. Татарчук, А.П. Кузнецов, Ю.П. Смирнов, В.В. Разумовская и др. / РАСХН. Отд.-ние ветер. медицины. - Москва, 2001. — 18 с.

30. Разумовская В.В. Исследование частоты вертикальной передачи вируса лейкоза // Достижения вет. медицины - XXI веку: Мат. Междунар. науч. конф., посвящен. 40-летию ИВМ АГАУ. Часть 2. - Барнаул: Изд-во АГАУ, 2002. - С. 286-288.

31. Разумовская В.В. Частота неспецифического реагирования на ППД туберкулин крупного рогатого скота, инфицированного вирусом лейкоза / Соавт.: Т.В. Бокова, В.В. Самодуров // Научное обеспечение АПК Сибири, Монголии, Казахстана, Беларуси и Башкортостана: Мат. 5-й Междунар. науч.-практ. конф. Абакан, 10-12 июля 2002 г. / РАСХН. Сиб. отд.-ние. - Новосибирск, 2002. - С. 464 - 465.

32. Разумовская В.В. Лейкоз крупного рогатого скота в частных подворьях Алтайского края // Ветеринария Сибири. - 2002. - № 7 - 8. - С. 28 - 29.

33. Разумовская В.В. Иммунный ответ у крупного рогатого скота, инфицированного вирусом лейкоза, на противобруцеллезную вакцину из штамма *Brucella abortus 75/79-AB* / Соавт.: И.Л. Никифоров, Е.Н. Солнцева // Проблемы пантового оленеводства и пути их решения: Сб. науч. тр. / РАСХН. Сиб. отд.-ние. ВНИИПО. - Барнаул, 2002. - Т. 1. - С. 333 - 336.

34. Разумовская В.В. Частота передачи вируса лейкоза крупного рогатого скота через серопозитивных быков-производителей // Проблемы пантового оленеводства # п(ти их решения: Сб. науч. тр./ РАСХН. Сиб. отд.-ние. ВНИИПО. - Барнаул, 2002. - Т. i. - С. 336 - 341.

35. Разумовская В.В. Результаты применения вакцины из штамма *Brucella abortus 75/79-AB* для профилактики бруцеллеза крупного рогатого скота на территории Алтайского края / Соавт.: И.П. Никифоров, Е.Н. Солнцева // Ветеринария Сибири. - 2003. - №9-10. - С. 9-11.

36. Разумовская В.В. Испытание нового диагностического теста РИГА (реакция непрямой гемагглютинации) в комплексе противобруцеллезных мероприятий крупного рогатого скота в Алтайском крае / Соавт.: Е.Н. Солнцева, В.В. Тяпин // Ветеринария Сибири. - 2003. - № 9 - 10. - С. 68 - 70.

37. Оценка естественной резистентности сельскохозяйственных животных: Метод, рекомендации / Сост.: П.Н. Смирнов, М.И. Гулюкин, В.В. Храмцов, В.М. Чекишев, В.В. Разумовская и др. / РАСХН. Сиб. отд.-ние. ГНУ ИЭВС и ДВ, ГНУ ВИЭВ, ФГОУ НРИПК АПК МСХ РФ, НГАУ. - Новосибирск, 2003. - 32 с.

38. Лейкоз крупного рогатого скота (этиология, пути передачи, диагностика, меры борьбы и профилактики): Рекомендации / Сост.: В.В. Разумовская, Е.Н. Солнцева, А.Л. Гречкин и др. / РАСХН. Сиб. отд.-ние. ГНУ ВНИИПО. - Барнаул, 2003. - 22 с.

39. Разумовская В.В. Частота передачи вируса лейкоза крупного рогатого скота при совместном содержании серопозитивных и интактных к вирусу коров / Соавт.: М.И. Романов // Ветеринарная генетика, селекция и экология: Мат. 2-й Междунар. конф. Новосибирск, 12 - 14 ноября 2003 г. / Минсельхоз России, ФГОУ ИГАУ, НИИ ветер. генетики и селекции. - Новосибирск, 2003. - С. 37 - 38.

40. Разумовская В.В. Экономическая эффективность противолейкозных мероприятий в молочном скотоводстве / Соавт.: И.М. Гатилов, С.В. Федотов // Мат. Междунар. науч.-практ. конф., посвященной 100-летию со дня рождения И.Г. Кондюрина / ФГОУ ОмГАУ. - Омск, 2004. - С. 420 - 424.

ЛР № 020648 от 16 декабря 1997 г.

Подписано в печать 14.09.2004 г. Формат 60x84/16. Бумага для множительных аппаратов. Печать ризографная. Гарнитура «Times New Roman». Усл. печ. л. 2,5. Уч.-изд. л. 2. Тираж 100 экз. Заказ № 37.

Издательство АГАУ
656099, г. Барнаул, пр. Красноармейский, 98
62-84-26