

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
САРАТОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМЕНИ Н.И. ВАВИЛОВА

На правах рукописи

РАДИОНОВ РОМАН ВЛАДИМИРОВИЧ

**Новые подходы к моделированию лейкозного процесса и коррекции
клинического статуса телят, полученных от
BLV-инфицированных коров**

06.02.02 – ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология,
микология с микотоксикологией и иммунология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель
доктор ветеринарных наук, доцент
Красникова Екатерина Сергеевна

Саратов 2019

ОГЛАВЛЕНИЕ

	стр.
ВВЕДЕНИЕ.....	3
1.ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	11
1.1.Лейкоз крупного рогатого скота: возбудитель, распространение, методы диагностики.....	11
1.2.Патологические эффекты при <i>BLV</i> -инфекции.....	19
1.2.1.Витальные изменения при <i>BLV</i> -инфекции.....	19
1.2.2.Постмортальные изменения <i>BLV</i> -инфекции.....	24
1.3.Эффекты, проявляющиеся у потомства <i>BLV</i> -инфицированных коров, потенциал патогенности возбудителя.....	25
2.СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	31
2.1.Объекты, материалы и методы исследований.....	31
2.2.Результаты исследований и их обсуждение.....	35
2.2.1.Изучение инфекционности <i>BLV</i> для лабораторных крыс.....	35
2.2.2.Патологические эффекты у <i>BLV</i> -инфицированных крыс.....	38
2.2.2.1.Динамика витальных изменений у экспериментальных животных.....	38
2.2.2.2.Динамика постмортальных изменений у экспериментальных животных.....	50
2.2.3.Разработка способа коррекции клинического состояния у молодняка при <i>BLV</i> -инфекции матерей.	60
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	76
ВЫВОДЫ.....	80
ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ.....	81
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	82
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	83
ПРИЛОЖЕНИЯ.....	112

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. Согласно базе данных всемирной организации охраны здоровья животных (МЭБ/ОИЕ), энзоотический лейкоз крупного рогатого скота (ЭЛКРС/EBL) является встречающимся во всем мире инфекционным лимфопролиферативным заболеванием, возбудителя которого (*BLV*) относят к онкогенным представителям семейства *Retroviridae*, рода *Deltaretrovirus*. Род *Deltaretrovirus* также включает в себя Т-лимфотропные вирусы человека и обезьян, вызывающие патогенетически близкие с ЭЛКРС заболевания у людей и приматов.

Дельтаретровирусы интегрируются в хромосому инфицированной клетки и способны наделять ее онкогенным потенциалом. Они становятся неотъемлемой частью зараженного организма и могут долгие годы скрываться в латентном состоянии провируса. При этом животное является постоянным источником инфекции, что служит одним из главных факторов распространения заболевания, которое по данным M. Polat et al. в ряде стран охватывает более 80% восприимчивого поголовья [200]. Сведения официальной статистики Департамента ветеринарии Министерства сельского хозяйства Российской Федерации свидетельствуют, что в настоящее время, по меньшей мере, треть поголовья крупного рогатого скота в Российской Федерации заражена лейкозом [58].

Молоко больных лейкозом коров небезопасно для здоровья человека из-за содержания в нем канцерогенных метаболитов, по этой причине ветеринарными правилами оно не допускается для использования в пищу людям. Более того, установлена важная роль молока инфицированных лейкозом коров в распространении инфекции среди телят. В последние годы появляется все больше сообщений об увеличивающемся генетическом разнообразии *BLV*, его способности расширять спектр своего тропизма *in vitro* и *in vivo*. Еще в 2003 году G.C. Vuehring et al. показали присутствие не только антител к *BLV* в крови людей, но и наличие у них провируса, что авторы связывают с контактом человека и инфицированных животных, а

также с получаемой от них продукцией [107]. В более поздних работах этих исследователей представлены доказательства того, что *BLV* может быть связан с развитием рака молочной железы у женщин в Америке и Австралии [104, 105, 106, 165, 237].

В этой связи весьма актуальной является тема изучения онкогенеза при *BLV*-инфекции в гетерологичных восприимчивых к вирусу организмах. По данным ряда отечественных и зарубежных исследователей инфекцию *BLV* можно воспроизвести на нескольких видах домашних, таких как овца, коза, свинья, лошадь, курица и лабораторных животных, в том числе обезьяна и кролик. V. Altanerova et al. удалось воспроизвести экспериментальную инфекцию на крысах при парентеральном введении вируса и было показано, что культура клеток почки *BLV*-инфицированной крысы активно продуцирует вирус в нескольких пассажах [17, 92, 102].

Крысы являются оптимальной лабораторной моделью для проведения многих исследований, так как их использование позволяет в кратчайшие сроки и с минимальными затратами провести многопараметрический анализ проблемы. И, что немаловажно, получить результат на нескольких генерациях животных, так как это позволяет выявить отдаленные последствия раскрываемой проблемы, влияющие не только на репродуктивные показатели, но и на потомство животных. Адаптация лабораторных крыс в качестве модели при изучении ЭЛКРС поможет разработать мероприятия по профилактике и ликвидации негативных последствий у потомства естественно восприимчивых хозяев вируса, сохранить генофонд и продуктивные качества сельскохозяйственных животных.

Диссертационная работа является составной частью научно-исследовательской работы факультета ветеринарной медицины, пищевых и биотехнологий по реализации Федерального закона от 13.07.2015г. № 243-ФЗ «О внесении изменений в Закон Российской Федерации «О ветеринарии» и отдельные законодательные акты Российской Федерации» и поручения

Правительства Российской Федерации от 18.09.2015г. № АД-П11-6390, исследования выполнены в рамках приоритетного научного направления ФГБОУ ВО Саратовский ГАУ «Интенсификация животноводства» (гос. рег. № 01201151794), подтема 3 «Разработка инновационных методов диагностики, коррекции, профилактики и лечения животных, птицы и рыбы».

Степень разработанности темы. С момента установления Р. Вирховым в 1845 году лейкоза в качестве самостоятельной нозологической единицы и открытия J. Miller et al. роли *BLV*, как этиологического фактора EBL, интерес к изучению вируса, его паталогических эффектов, методов профилактики и борьбы с вызываемым им заболеванием с течением времени только увеличивается [176]. В работах З.Н. Меньшиковой и соавт. [46–48], С.В. Вангели [4], Faquet С.М. et al. [128], L. Bai [96, 97] и других отечественных и зарубежных исследователей подробно изучены и описаны морфологические, молекулярно-генетические и антигенные свойства вируса. Результаты исследований А.Я. Генджијева и соавт. [8], М.В. Петропавловского и соавт. [57], Н.Г. Козыревой и соавт. [23, 24], З.Р. Закирова [17], M. Polat et al. [198–201] свидетельствуют, что ВЛКРС широко распространен в мире и постоянно расширяет свое генетическое разнообразие.

Огромный вклад в изучение ЭЛКРС внесли ученые В.П. Шишков, В.М. Нахмсон, А.Ф. Валихов, М.И. Гулюкин, П.Н. Смирнов, И.М. Донник. Этими и некоторыми другими отечественными и зарубежными авторами представлены сведения о патогенетической сущности ЭЛКРС, предложены и успешно реализованы схемы противоэпизоотических мероприятий по борьбе с заболеванием, предприняты попытки создать вакцину против лейкоза.

Однако в научной литературе недостаточно сведений о патогенезе при *BLV*-инфекции у лабораторных крыс, в связи с этим трудно дать объективную оценку данному виду животных, как лабораторной модели при

изучении EBV для использования полученных на них данных в профилактике и борьбе с ЭЛКРС и его эффектами у потомства инфицированных коров.

Цель работы - разработка новых подходов к моделированию лейкозного процесса и коррекции клинического статуса телят, полученных от *BLV*-инфицированных коров.

В соответствии с целью, нами были определены следующие **задачи**:

1. Дать оценку крысам линии Wistar в качестве биологической модели при изучении *BLV*-инфекции.

2. Выполнить ПЦР и ИФА исследования крыс, в рацион которых включено молоко интактных, *BLV*-инфицированных и больных лейкозом коров, в динамике эксперимента в 2-х генерациях.

3. Описать витальные изменения у крыс в динамике эксперимента: клиническое состояние, репродуктивная функция, прирост массы тела, гемато-биохимический статус.

4. Охарактеризовать постмортальные патологоанатомические и цитологические изменения у экспериментальных крыс, рассчитать коэффициенты относительной массы внутренних органов.

5. Провести сравнительный анализ данных гемато-биохимического статуса телят и крыс от *BLV*-инфицированных матерей.

6. Разработать эффективный подход к коррекции клинического статуса у молодняка, полученного от *BLV*-инфицированных матерей.

Научная новизна. Впервые крысы линии Wistar охарактеризованы в качестве биологической модели при изучении лейкоза крупного рогатого скота. Впервые исследованы витальные и постмортальные изменения, развивающиеся у крыс и их потомства при пероральном инфицировании их *BLV*, описаны динамика и степень проявления обнаруженных у крыс патологий. Впервые установлено, что изменения в гемато-биохимических показателях у потомства *BLV*-инфицированных крыс коррелируют с таковыми у телят, полученных от *BLV*-инфицированных коров и

свидетельствуют о снижении иммунного статуса молодняка, несмотря на отсутствие у него *BLV*-инфекции. Разработан новый способ лечения и профилактики диспепсических проявлений у телят при *BLV*-инфекции матерей, позволяющий повысить продуктивность и сохранность молодняка.

Теоретическая и практическая значимость работы

Данные, полученные при анализе витальных и постмортальных изменений у крыс и их потомства при выкармливании молоком инфицированных и больных лейкозом коров, восполняют недостающие сведения и формируют теоретическую базу для изучения патогенеза *BLV* в гетерологичных организмах. Исследование влияния *BLV*-инфекции матерей на клинический и гемато-биохимический статус молодняка позволяет прогнозировать предрасположенность потомства к развитию онкогенной патологии. Предложенная лабораторная модель имеет ряд преимуществ: доступность, удобство, наглядность и высокая скорость получения результатов при моделировании лейкозного процесса.

Прикладным аспектом данной работы является то, что разработанная лекарственная композиция и способ ее применения для профилактики и терапии диспепсических состояний новорожденных телят, полученных от инфицированных лейкозом коров (патент № 2646831 от 07.03.2019, бюл. № 8) успешно внедрены в ветеринарную практику Сельскохозяйственного производственного кооператива Мартынов (2017), Крестьянского фермерского хозяйства Князькова (2018), Колхоза «Заря» (2018), Тамалинской районной станции по борьбе с болезнями животных (2018), о чем свидетельствуют данные, представленные в актах внедрения разработки в производство.

Методология и методы исследований. Для решения поставленных задач был использован комплекс общенаучных и частнонаучных методов исследования. Методологическая база основывалась на применении совокупности общетеоретических и эмпирических методов исследования,

таких как системный подход, моделирование, эксперимент, анализ, статистическая обработка данных, измерение, сравнение и т.д. Решение поставленных задач реализовывалось по средствам использования клинических, молекулярно-генетических, серологических, гематологических, биохимических, патоморфологических, цитологических и морфометрических методов исследования. Применение указанных методов, а также детальный анализ фактического материала позволили обеспечить объективность полученных выводов и результатов.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Крысы линии Wistar являются адекватной биологической моделью при изучении энзоотического лейкоза, так как они восприимчивы к пероральному инфицированию вирусом лейкоза крупного рогатого скота, при этом развивающиеся у них витальные и постмортальные изменения патогномоничны для *BLV*-инфекции.

2. У потомства инфицированных вирусом лейкоза матерей паталогические изменения выражены в значительной степени, при этом гемато-биохимический статус потомства *BLV*-инфицированных крыс коррелирует с изменениями, проявляющимися у телят, полученных от *BLV*-инфицированных коров.

3. Разработанная лекарственная композиция и способ ее применения для профилактики и терапии диспепсических состояний новорожденных телят, полученных от инфицированных лейкозом коров, позволяют избежать ущерба, причиняемого снижением продуктивности и жизнеспособности молодняка.

Работа выполнена в ФГБОУ ВО «Саратовский государственный аграрный университет имени Н. И. Вавилова».

Степень достоверности и апробация результатов. Достоверность результатов обусловлена значительным объемом экспериментального

материала, полученного с использованием высокоинформативных методов исследования с подтверждением данных математической статистикой.

Основные материалы диссертационной работы представлены на: Международной научно-практической конференции «Современные тенденции сельскохозяйственного производства в мировой экономике» (Кемеровско, 2016); Third International Symposium on Optics and Biophotonics and Seventh Finnish-Russian Photonics and Laser Symposium (PALS) (Саратов, 2017); Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых «Наука и инновации в АПК XXI века», посвященной 145-летию Академии (Казань, 2018); Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы ветеринарной медицины, пищевых и биотехнологий» (Саратов, 2018); Международной научно-практической конференции «Вклад ученых в повышение эффективности агропромышленного комплекса России», посвящённой 20-летию создания Ассоциации «Аграрное образование и наука» (Саратов, 2018); Национальной научно-практической конференции «Саратовский форум ветеринарной медицины и продовольственной безопасности Российской Федерации» (Саратов, 2018); Международной научно-практической конференции «Современное состояние животноводства: проблемы и пути их решения» (Саратов, 2018); XIV Международной научно-практической конференции «Аграрная наука – сельскому хозяйству» (Алтай, 2019); Ежегодных конференциях профессорско-преподавательского состава и аспирантов по итогам научно-исследовательской, учебно-методической и воспитательной работы (Саратов, 2017-2019); 20-ой Российской агропромышленной выставке «Золотая осень» (Москва, 2019) и удостоен Диплома I степени и золотой медали.

Публикации. Материалы диссертации опубликованы в 13 работах, из них 2 статьи в изданиях, рекомендованных ВАК РФ, 2 в изданиях, включенных в международные базы данных Scopus и Web of Science, и 1 патент.

Личный вклад соискателя. Автор принимал непосредственное участие в планировании и проведении экспериментов, получении и систематизации данных, паробации результатов исследования. Соискателем лично проведен статистический анализ полученных данных, сформулированы основные положения диссертации, составляющие ее новизну и практическую значимость, подготовлены публикации.

Структура и объем работы. Диссертация состоит из введения, двух глав: обзора литературы и собственных исследований, включающей описание объектов, материалов и методов исследований, результаты исследований и их обсуждение, а также заключения, выводов, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы, приложений. Работа изложена на 120 страницах, содержит 20 таблиц и 20 рисунков. Список литературы включает 238 наименований, в том числе 153 зарубежных.

1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Лейкоз крупного рогатого скота: возбудитель, распространение, методы диагностики

Характеристика возбудителя

Вирус лейкоза крупного рогатого скота (*Bovine Leukemia Virus* или *BLV*) является ретровирусом, онкогенным представителем рода *Deltaretrovirus* и возбудителем энзоотического лейкоза крупного рогатого скота (ЭЛКРС или EBL) [90]. Род *Deltaretrovirus* также включает в себя Т-лимфотропные вирусы человека I и II типов (*HTLV*) и Т-лимфотропный вирус обезьян (*STLV*), вызывающие сходные по клинической картине с ЭЛКРС заболевания у представителей отряда приматов [143, 223].

Благодаря интегративному типу взаимодействия с геномом инфицированной клетки, позволяющему вирусу навсегда становиться частью зараженного организма, ретровирусы являются уникальными представителями царства *Vira*. Строение, молекулярный состав и геном возбудителя ЭЛКРС достаточно подробно изучены [4]. Наружная липопротеиновая оболочка вириона *BLV* покрыта гликопротеидными пепломерами и скрывает экосаэдрический нуклеокапсид, заключающий в себе две идентичные молекулы вирусной РНК, фермент ревертазу и фрагменты клеточной РНК [48, 154, 159].

Диплоидный РНК-геном *BLV* включает основные структурные гены, *gag*, *pro*, *pol* и *env*, кодирующие белки и ферменты, играющие важную и незаменимую роль в жизненном цикле вируса, вирусной инфекционности и производстве инфекционных вирионов, а также несколько открытых рамок считывания и области *pX*, обрамленные двумя идентичными длинными терминальными повторами (LTR – усилителями вирусной транскрипции) [96, 144]. *Gag* ген кодирует три основных белка: матриксный протеин P15, который связывает вирусную РНК с липидным бислоем вирусной наружной

оболочки [115]; капсидный белок Р24, который является основной мишенью иммунного ответа [231]; и белок нуклеокапсида Р12, который связывает и упаковывает геномную РНК [152]. Структурные гликопротеины, кодируемые геном env, поверхностный gp51 и трансмембранный gp30, играют важную роль в прикреплении вируса, слиянии его оболочки с клеточной мембраной и проникновении в клетку [128, 229]. Регуляторные белки, кодируемые генами области рХ (Tax, Rex, Rfl, GIV), важны для регуляции вирусной транскрипции, развития *BLV*-индуцированного лейкоза и ядерного экспорта вирусной РНК в цитоплазму [217, 218, 219]. Вспомогательные белки R3 и G4 способствуют поддержанию высоких вирусных нагрузок [133, 232]. В дополнение к генам, описанным выше, геном *BLV* (ген pol) также кодирует РНК-полимеразу и интегразу, ферменты, участвующие в репликации и встраивании провирусной ДНК в определенные сайты генома инфицированной клетки в форме провируса [118 И 213], а также кодированные между регионами env и рХ вирусные микроРНК. Вирусные микроРНК усиленно экспрессируются в прерлейкемических и злокачественных клетках и могут играть роль в возникновении и прогрессировании опухоли [137, 157, 207]. Кодированный одной из открытых рамок считывания (prt) белок представляет собой протеазу осуществляющую расщепление предшественников gag, pol и env-кодированных белков [151].

Распространение и генетическое разнообразие BLV

ЭЛКРС – это встречающееся во всем мире инфекционное лимфопролиферативное заболевание крупного рогатого скота [158]. Однако эпизоотическая ситуация по данной инфекции в разных странах не однозначна. Определяется это, главным образом, политикой государства в отношении этой инфекции. Так, в 1983 году в Австралии, а в 1996 году и в Новой Зеландии была внедрена общенациональная программа по искоренению лейкоза КРС. В результате этого с 2008 года Новая Зеландия была свободна от ВЛКРС, и к концу 2013 года 99,7% молочных стад

Австралии были объявлены оздоровленными от *BLV* [126]. Благодаря широко реализуемым в конце прошлого века программам по борьбе с *BLV*-инфекцией, большинство стран Западной Европы, такие как Дания, Финляндия, Швейцария, Эстония, Нидерланды и Польша констатируют полную свободу от *EBL* [87, 125, 171, 191]. На территории стран Восточной Европы, таких как Польша, Украина и Хорватия ВЛКРС все еще регистрируется [98, 126, 205, 209 238], а в Италии, Португалии, Беларуси, Латвии, Греции, Румынии и Болгарии *BLV* хотя и присутствует, но его распространение ограничено отдельными областями [194]. В странах, где госпрограммы по ликвидации заболевания не находили широкого применения, вирус лейкоза распространен среди КРС в значительной мере. Эпидемиологическое исследование по распространенности *BLV* в молочном скотоводстве США, проведенное Национальной системой мониторинга здоровья животных Министерства сельского хозяйства, показало, что 83,9% молочного скота были *BLV*-положительными, а 39% стад в мясном скотоводстве имели по крайней мере одно *BLV*-инфицированное животное [94]. При тех же обстоятельствах в Канаде до 37,2% коров в индивидуальном владении и 89% скота фермерских стад оказались *BLV*-положительными [188, 226, 227]. *BLV* также регистрируют у мясного (4%) и молочного (36,1%) скота в Мексике, хотя распространение вируса и ограничено конкретными областями [195]. В Южной Америке наблюдается относительно высокий уровень распространенности *BLV*, и в большинстве стран присутствует *BLV*-индуцированный лейкоз. В Бразилии в зависимости от штата уровень инфицирования варьирует от 17,1% до 60,8% [113, 114]. Инфицирование ВЛКРС было зарегистрировано в Чили, Боливии, Перу, Венесуэле, Уругвае, Парагвае и Колумбии в пределах 19,8 - 54,7% [129, 145, 182, 201, 202, 100]. Особенно высок уровень распространения *BLV* инфекции в странах с развитым молочным скотоводством. Так в Аргентине в частном владении и в фермерских стадах он достигает 77,4% и 90,9% соответственно [180, 201, 225]. *BLV* инфекция широко распространена на китайских молочных фермах

- до 49,1%, в то время как среди мясного скота ВЛКРС зарегистрирован лишь у 1,6% животных [233]. В Японии уровень *BLV* инфекции увеличивается с возрастом животных: 40,9% молочного и 28,7% мясного скота до 2-х лет и до 78% молочного и 69% мясного скота старше 2-летнего возраста инфицированы вирусом лейкоза [184]. В Корее 86,8% молочных стад являются *BLV*-положительными [163]. В Таиланде до 100% крупного рогатого скота определяются как *BLV*-носители [164]. Более благоприятная ситуация по *BLV*-инфекции прослеживается в таких азиатских странах, как Монголия - 3,9% [192], Камбоджа - 5,3% [173], Тайвань - 5,8% [230], Филиппины - от 4,8% до 9,7% [199], Мьянма - 9,1% [198], и чуть хуже в Иран – от 22,1% до 25,4% [183, 186] Уровень *BLV* инфекции в странах Ближнего Востока также относительно низок. В Израиле он составляет около 5% [224], в Саудовской Аравии - 20,2% [142]. По сравнению с этими странами, уровень инфицирования *BLV* в Турции выше-48,3% [108].

В Российской Федерации с 1997 года лейкоз КРС занимает первое место в структуре инфекционной патологии, в последние годы отмечалась тенденция роста заболеваемости животных [23]. Лейкоз крупного рогатого скота по данным ветеринарной отчетности в 2017 году регистрировался в 67 субъектах РФ, в 2016 – в 68, при этом количество неблагополучных пунктов снижается лишь за счет уменьшения общего поголовья скота. Так число больных животных за три последних года сократилось с 34,2 тыс. голов в 2015 году до 28,9 тыс. голов в 2017 году, количество вновь выявленных неблагополучных пунктов снизилось с 271 до 207 пунктов, а количество неблагополучных пунктов, сократилось с 1974 до 1676. В настоящее время, по меньшей мере, треть поголовья крупного рогатого скота в РФ заражена лейкозом, и это данные официальной статистики [53]. Эпизоотическая ситуация по лейкозу улучшилась в Калининградской, Тамбовской, Новгородской, Кировской, Нижегородской, Орловской, Ульяновской, Свердловской, Курской, Иркутской областях, Удмуртской Республике и Красноярском крае. В 2016 году был оздоровлен от лейкоза Ставропольский

край [58]. В ряде районов Республики Калмыкия удалось добиться снижения темпа роста заболеваемости в результате выведения всех больных животных при увеличении объема гематологических исследований [8]. Остаётся сложной эпизоотическая ситуация по лейкозу крупного рогатого скота в Новосибирской области - 222 неблагополучных пункта, Калужской - 109, Челябинской - 127, Краснодарском крае - 100, Курганской - 87, Московской - 92, Самарской - 66, Тверской - 74, Кемеровской - 58, Тюменской - 53, Пензенской – 53, Республике Татарстан - 62, Приморском крае - 62 и других субъектах. За последние 3 года лейкоз крупного рогатого скота регистрировался в Республике Дагестан, Республике Ингушетия и Республике Северная Осетия-Алания. В субъектах Южного федерального округа ежегодно выявляются новые неблагополучные пункты. Наиболее неблагополучная ситуация по итогам 2017 года сложилась в Краснодарском крае - 100 неблагополучных пунктов, заболело 313 голов скота, в Ростовской области - 2 пункта, заболело 811 голов и в Республике Крым - 29 пунктов, заболело 41 голова [58]. Согласно данным официальной статистики, ежегодно в РФ вновь выявляется около 200 неблагополучных пунктов. Лейкоз остается одной из актуальных проблем животноводства Уральского региона. Особенно сложная эпизоотическая обстановка по лейкозу КРС в Челябинской и Курганской областях [57].

Возбудитель ЭЛКРС для репликации своего генома использует не клеточный фермент, а специфическую вирусную ревертазу, поэтому он крайне подвержен генетическим мутациям и характеризуется большим разнообразием вызываемых им биологических эффектов в инфицированном организме. В 2007 году на основании генетических и обусловленных ими биологических особенностях было сообщено о существовании семи генотипов ВЛКРС [204]. Впоследствии был идентифицирован новый 8-ой генотип [98, 163, 199, 192], а в 2016 году дополнительно были обнаружены генотипы *BLV-9* и *-10* [164, 198, 201].

Секвенирование выделенных в Европе изолятов показало, что на данной территории присутствуют шесть различных генотипов ВЛКРС (1, 2, 3, 4, 7 и 8) [61, 98, 179, 205, 237]. В Австралии выявлен только генотип-1 [116], в Северной Америке генотипы -1, -3 и -4, в Центральной Америке, генотипы -1 и -5 [237]. Наибольшее разнообразие генотипов *BLV* (1, 2, 3, 4, 6, 7, и 10) было обнаружено в Азии, и в Южной Америке были подтверждены в общей сложности шесть генотипов ВЛКРС (1, 2, 4, 5, 7, и 9) [200].

На территории Российской Федерации обнаружены не все генотипы и варианты вируса лейкоза крупного рогатого скота. В Центральном федеральном округе РФ выявлены -1, -2 и -4 генотипы, которые, в свою очередь, на основании молекулярно-генетического анализа, были разделены на ряд субтипов, имеющих ту или иную степень гомологии с изолятами из Австралии, США, а также Японии, Аргентины и Бразилии [23]. Это может быть связано, прежде всего с тем, что основным экспортером КРС для России являются США (43,8%) и Австралия (28,8%) [61]. Выделенные в Уральском регионе генотипы были идентифицированы в -4, -7 и -8-й группах [57]. В Республике Татарстан помимо -4 были выявлены -7 и -8 генотипы *BLV* [17]. В Ставропольском крае, наряду с -4 и -6 генотипами *BLV* был выделен изолят вируса, который по результатам секвенирования был классифицирован как атипичный, а в области гена *env* выделенных изолятов провируса *BLV*, было установлено наличие 31 точечной мутации [86]. По мнению Н.Г. Козыревой и М.И. Гулюкина (2017), на эволюцию вируса лейкоза крупного рогатого скота оказывает влияние искусственный отбор в результате выбраковки животных по признаку гуморального иммунного ответа [23]. Кроме того, не маловажным фактором является и способность вируса провоцировать развитие лимфолейкоза, являющегося критерием клинической диагностики лейкоза крупного рогатого скота. Установлено, что наибольшей лейкозогенностью обладает *BLV* 1 генотипа и значительно меньшей – 4 [73].

Методы диагностики BLV-инфекции

Косвенные методы выявления *BLV* предполагают обнаружение противовирусных антител к капсидному протеину p24 и гликопротеину gp51. Это объясняется тем, что антитела против этих белков вырабатываются вскоре после инфицирования *BLV* (могут быть обнаружены через 2-3 недели) и сохраняются в крови в течение всей жизни животного [150]. Кроме того, они являются основной мишенью для иммунных реакций инфицированного организма и вызывают экспрессию огромного количества специфических антител [96, 97]. Антитела против этих белков используют для диагностики ВЛКРС с помощью распространенных серологических методов, таких как реакция иммунной диффузии (РИД) [181-23], реакция пассивной гемагглютинации (РПГА) [134, 150], иммуноферментный анализ (ИФА) [9, 211, 235], реакция связывания комплемента (РСК) [166, 215] и радиоиммунный анализ (РИА) [167]. Большинство из этих серологических методов направлены на обнаружение антител в сыворотке крови и молоке крупного рогатого скота, а также супернатантов *BLV*-инфицированных клеточных культур. РИД относительно недорога и может быть использована для одновременного исследования большого количества образцов сыворотки, однако она недостаточно чувствительна [26, 185] и не пригодна для анализа образцов молока. ИФА является очень чувствительным и легко выполнимым способом, и может быть использован для анализа, как сыворотки крови, так и молока. Однако, при исследовании образцов сыворотки от крупного рогатого скота в ранней фазе инфекции встречаются ложноотрицательные результаты [185] и ложноположительные результаты могут быть с пробами от молодняка из-за присутствия колостральных антител [112]. РПГА является вполне приемлемым методом обнаружения антител в сыворотке крови и молоке, ее рекомендуют использовать при экспертизе и санитарной оценке молока. Однако она чувствительна к pH и температуре [93]. РИА подходит для диагностики *BLV*, но не подходит для массового скрининга [189]. То же самое касается и РСК [176]. В целом, эти методы не могут быть использованы для

тестирования телят в возрасте до 6 месяцев, из-за наличия материнских антител, которые могут вызвать ложноположительные результаты [193].

BLV может интегрироваться в отдельные участки генома хозяина [156] и транскрипционно «молчать», оставаясь в клеточных геномах при отсутствии выработки специфических антител [216]. Установлено, что транскрипция генома *BLV* в свежих образцах опухолевых или мононуклеарных клеток периферической крови инфицированных животных практически не обнаруживается традиционными методами [155]. В тоже время, количество копий провирусной ДНК в хромосомах клеток *BLV*-индуцированной опухоли и *BLV*-инфицированных форменных элементов крови в среднем составляет около четырех на каждую клетку [109]. Таким образом, в дополнение к обычной диагностике *BLV*-инфекции с использованием традиционных серологических методов, описанных выше, метод полимеразной цепной реакции (ПЦР), предполагающий детекцию нуклеиновых кислот, может значительно ускорить выявление *BLV*. Разнообразные методы ПЦР, включая стандартную ПЦР [181], гнездную ПЦР [217], количественную ПЦР в реальном времени (qPCR) [103, 220, 222] и прямую ПЦР непосредственно с кровью [190, 221] широко применяются во всем мире для обнаружения *BLV*. Методы скрининга генома на основе ПЦР для диагностики *BLV* расширяют спектр образцов, которые могут быть использованы, повышают чувствительность тестирования, специфичность и эффективность, а также являются менее трудоемкими. ПЦР также позволяет выявлять *BLV*-инфекцию у крупного рогатого скота за несколько недель до того, как удастся обнаружить антитела [2, 26, 73, 153]. Однако ПЦР-скрининг на основе провируса включает сложные процессы пробоподготовки, которые могут привести к ложноположительным результатам в случае перекрестного заражения. Кроме того, методы обнаружения *BLV* на основе ПЦР требуют специального лабораторного оборудования, а также разработки и постоянной модификации специальных праймеров и зондов для выявления непрерывно изменяющихся и мутирующих вирусов. Недавно был разработан анализ *BLV*-

CoCoMo-qPCR для измерения провирусной нагрузки *BLV* с чрезвычайно высокой чувствительностью и возможностью выявления как известных, так и новых вариантов *BLV* [149, 220]. Проведенный анализ позволил продемонстрировать, что провирусная нагрузка коррелирует не только с объемом инфекции *BLV*, но и с прогрессированием болезни [150, 178], провирус *BLV* удалось обнаружить в образцах носового секрета и слюны инфицированных животных [234]. В дополнение к описанным выше методам разработаны и другие подходы к диагностике *BLV*-инфекции, включающие обнаружение вирусных белков методом иммуноблоттинга [217], синцитий образования на культурах клеток [147] и обнаружение антигенов *BLV* методом непрямого иммунофлуоресцентного анализа [89].

1.2. Патологические эффекты при *BLV*-инфекции

1.2.1. Витальные изменения при *BLV*-инфекции

***BLV*-эффекторные клетки**

По своей сути лейкоз является лимфопролиферативным заболеванием, поэтому данные популяции клеток считаются маркерными при оценке клинического состояния инфицированных животных [196]. Однако в патологический процесс вовлекаются и другие форменные элементы крови, в частности гранулоциты, являющиеся маркером миелоидного лейкоза, гистиоциты, формирующие гранулемы не только в лимфоидных органах, но и в органах не гемопоетической системы [72], а по последним данным и эритроциты, что имеет определенное диагностическое значение [38, 40].

BLV может инфицировать различные популяции иммунокомпетентных клеток, такие как $CD5^+ IgM^+$ и $CD5^- IgM^+$ В-клетки; $CD2^+$, $CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$ и γ/δ Т-лимфоциты; моноциты; и гранулоциты периферической крови и лимфоидных тканей крупного рогатого скота [197, 200]. Следствием этого является изменение морфологии крови и форменных элементов. Наши предварительные исследования также показали, что при *BLV*-инфекции

изменяются не только морфологические свойства лимфоцитов, но и биофизические свойства мембран клеток, следствием чего может стать нарушение их функции [95]. В крови больных лейкозом коров отмечают высокую частоту скоплений бластных клеток, изменяется и качественный состав лимфоидных элементов: появляются широкоцитоплазматические лимфоциты, двуядерные формы, тени Боткина-Гумпрехта, часто появление измененных форм лимфоцитов сочетается с акантоцитозом эритроцитов [81]. Во время первичной инфекции провирус *BLV* экспрессируется в вирусные частицы. Активная репликация *BLV* ответственна за «гриппоподобный» синдром, наблюдаемый во время первичной инфекции ВИЧ у людей. При персистирующей инфекции количество провирусоносителей клеток увеличивается в основном за счет митоза, из-за наличия активного иммунного ответа [214]. Эта фаза длится в течение нескольких месяцев или лет и характеризуется иммунной дисрегуляцией (например, чрезмерной экспрессией цитокинов), как это наблюдается у людей, инфицированных Т-лимфотропным вирусом типа 1 (*HTLV-1*), что сопровождается миелопатией или тропическим спастическим парапарезом. В течение персистирующей фазы лимфоцитоза заболевание характеризуется слабостью и оппортунистическими инфекциями, что наблюдается при хроническом лимфолейкозе у человека [136]. Важную роль в прогрессировании заболевания может играть такой тип иммунной регуляции, при котором повышается индуцированная ВЛКРС экспрессия молекул, ингибирующих рецепторы Т-клеток, в результате повышается восприимчивость к другим инфекциям [196].

Гемато-биохимический статус при BLV-инфекции

В целом, индикатором здоровья животных, в том числе *BLV*-инфицированных, является комплекс иммуно-биохимических и молекулярно-генетических маркеров [14, 27]. Лейкоз КРС, как и другие лейкозы, представляет собой системное заболевание и, соответственно, его

возникновение, течение и исход отражаются на биохимическом статусе организма. Ряд исследователей выявляют как прямую (изменение значений биохимических параметров под влиянием заболевания), так и обратную (роль биохимического статуса в возникновении заболевания и его влияние на динамику лейкоза) зависимости в этом явлении [39, 44]. В частности, было показано, что у восприимчивых к лейкозу животных в крови повышена активность таких ферментов, как креатинкиназа, щелочная фосфатаза, кислая фосфатаза изменено соотношение общего белка и мочевины, увеличена концентрация ионизированного кальция, в то время, как активность аспаратаминотрансферазы и индекс фосфатаз понижены, также, как и концентрация альбуминов, мочевины, глюкозы, триглицеридов и липопротеинов очень низкой плотности. При этом низкий уровень кислой фосфатазы и ее отрицательная корреляция с содержанием липопротеинов очень низкой плотности считаются объективными показателями устойчивости животных к заражению ВЛКРС [39].

По некоторым данным, в биохимическом статусе спонтанно инфицированного *BLV* скота отдельных пород (в частности голштинской) не выявляется разницы по сравнению с интактными к вирусу животными, в то время как в развернутой гематологической стадии, помимо снижения продукции эритроцитов, обнаруживают изменение аминокислотного состава крови [19]. Другими исследователями установлено, что показатели крови *BLV*-носителей характеризуются незначительным лейкоцитозом со сдвигом нейтрофильного ядра влево, небольшим снижением количества эритроцитов и гемоглобина, умеренной базофилией, незначительным повышением уровня билирубина и активности щелочной фосфатазы [25, 71]. Показано, что у инфицированных животных отмечается резкое снижение содержания глюкозы (на 45%), что связывают с высокими энергетическими затратами животных, находящихся в стадии компенсации [71]. При развитии гуморальной иммунной реакции у *BLV*-инфицированных животных в крови отмечают значительное снижение количества гемоглобина и эритроцитов,

незначительную тромбоцитопению, лимфоцитоз с преобладанием незрелых белых кровяных телец, повышение скорости оседания эритроцитов, гипоальбуминемию на фоне увеличения уровня общего белка, а также значительное повышение количества билирубина и активности щелочной фосфатазы. [59, 160]. Анализ состояния обмена веществ, инфицированных вирусом лейкоза коров, свидетельствует о дефиците щелочного резерва, общего белка, гемоглобина, кальция и глюкозы [62]. М.П. Семоненко с соавт. (2011) установлено, что в сыворотке крови больных лейкозом коров уровень магния, цинка и железа достоверное снижается [71]. Л.И. Мотавина и А.И. Иванов (2011) показали, что у таких животных значительно снижены активность В-лимфоцитов, продуцирующих иммуноглобулин класса М, бактерицидная активность сыворотки крови, а количество Т - и В-лимфоцитов увеличено [51]. Анализ литературных данных свидетельствует, что гемато-биохимический статус инфицированных и больных лейкозом коров является активно разрабатываемой областью исследований. Это связано с тем, что кровь является «зеркалом организма» и по изменению уровня и сочетанию различных маркеров можно судить не только о состоянии отдельных органов и систем, но и о состоянии гомеостаза организма в целом [14].

Клинические эффекты BLV- инфекции

На самом деле злокачественная пролиферация не является обязательным условием и *BLV* инфекция может приводить к различным клиническим исходам [90]. Большинство *BLV*-инфицированного скота являются бессимптомными носителями вируса и не проявляют никаких клинических признаков инфекции, в том числе и изменения количества лимфоцитов. Однако по последним данным, даже при сохранении нормального количества лимфоцитов в крови, у *BLV*-инфицированных животных увеличивается относительное содержание CD5⁺, IgM⁺, В-клеток [197]. Это является важным доказательством того, что у клинически

здорового *BLV*-инфицированного скота нарушается иммунологическая регуляция, что и приводит к экономическим потерям по различным причинам, включая снижение производства молока [187], высокую частоту развития инфекционных заболеваний [210], снижение репродуктивной функции [99], в том числе увеличение сервис-периода и индекса осеменения коров [1].

Примерно у трети инфицированного крупного рогатого скота развивается доброкачественная форма пролиферации нетрансформированных В-лимфоцитов, называемая стойким лимфоцитозом. Пролиферация обычно характеризуется постоянным и стабильным увеличением числа $CD5^+$ IgM^+ В-клеток, циркулирующих в периферической крови. Менее чем у 5% инфицированного скота злокачественная В-клеточная лимфома развивается из моно- или олиго-клонального накопления $CD5^+$ IgM^+ В-клеток после относительно длительного периода латентности [91]. Эта злокачественная форма В-клеточной лимфомы, также, как и лимфосаркома – локализованная, но чаще диффузная опухоль, состоящая из злокачественных клеток лимфоидных элементов, преимущественно выявляются у крупного рогатого скота старше 4-5 лет. Такие злокачественные новообразования вызывают нарушение функции селезенки и значительное увеличение лимфатических узлов, которые могут быть видны под кожей. *BLV*-инфицированные неопластические клетки могут инфильтрировать внутренние органы - сычуг, сердце, кишечник, почки, легкие, печень, матку [131].

Клинические проявления *BLV*-индуцированных опухолей разнообразны и в первую очередь связаны с нарушением пищеварения, потерей веса, слабостью, снижением молочной продуктивности, потерей аппетита, кахексией, экзофтальмией и увеличением лимфатических узлов [195]. В фазе опухоли инфицированная клетка подвергается генетическим мутациям и образует лимфому внутри или вне лимфатических узлов, что приводит к гибели животного. Как правило, животные подвергаются

внезапной смерти от кровоизлияния в селезенку. Опухоли могут также возникать у инфицированных животных и без стойкого лимфоцитоза. Частота опухолей и клиническая латентность зависят от распространенности лейкоза в стаде. Типичная картина - 10% смертность через три года в стаде, имеющем 50% распространенности *BLV* [141].

1.2.2. Постмортальные изменения *BLV*-инфекции

Патоморфологические изменения при *BLV*-инфекции

С момента выделения лейкоза крупного рогатого скота в самостоятельную нозологическую единицу началось изучение его патологических проявлений в организме животных. Было установлено, что патологические изменения при лейкозах заключаются не только в появлении и разрастании злокачественно трансформированных клеток кроветворной ткани в органах гемопозитической системы, хотя это и является основным признаком [46, 70]. Нарушения выявляются и в других жизненно важных органах. В первую очередь это проявляется изменением коэффициента относительной массы органа, как правило, увеличением органа в объеме, в результате воспаления или пролиферативных процессов [35, 37]. Наиболее часто, в 85 % случаев, развитие клинической картины лейкоза сопровождается изменениями в лимфатических узлах и селезенке. Органы при этом увеличены в несколько раз. Хотя лимфоузлы не меняют свою форму, на разрезе трудно отличается корковое и мозговое вещество, в них встречаются некротические изменения и желтоватые включения творожистой консистенции [46, 77]. Пораженная селезенка имеет округленные края, на разрезе красная пульпа темная, кашеобразной консистенции, граница красной и белой пульпы стерта [47, 76]. При отсутствии клинических симптомов лейкоза, визуальных изменений в лимфоузлах и селезенке может и не быть [15, 22]. Печень часто увеличена, края закруглены, паренхима серо-коричневого цвета, мягкой консистенции. Почки также могут быть увеличены и размягчены, со стёртой границей коркового и мозгового

вещества. Печень и почки могут иметь саловидные очаги серо-белого цвета, локализованные как на поверхности, так и в глубоких слоях органа [78]. Сердце поражается в подавляющем большинстве случаев заболевания лейкозом. Инфильтрация лимфоидными клетками приводит к утолщению стенки предсердий, иногда встречаются различной величины и формы опухоли. Выявляют утолщения стенки сычуга того же генеза и локальные или диффузные опухолевые изменения в тонком и реже толстом кишечнике [35]. Легкие и молочные железы поражаются редко, а вот влагалище, матка, яичники и семенники часто бывают захвачены лейкозным процессом, в виде присутствия диффузных инфильтратов и узелков серо-белого цвета [70].

Для дополнения и уточнения патологоанатомической диагностики проводят гистологические и цитоморфологические исследования. Гистологическая диагностика позволяет определить форму и стадию лейкозного процесса [36]. Цитологические исследования учитывают не только морфологию клеток, их величину и форму, но и соотношение ядра и цитоплазмы, число незрелых, пролиферирующих и нормальных клеток, характер распространения опухолевых клеток в ткани органа [6, 84, 117].

1.3. Эффекты, проявляющиеся у потомства *BLV*-инфицированных коров, потенциал патогенности возбудителя

Влияние *BLV*-инфекции на потомство

BLV передается в основном посредством инфицированных клеток. Потенциальными источниками передачи *BLV* являются биологические жидкости, такие как кровь, молозиво и молоко [127, 132], и их инфекционная способность зависит от количества лимфоцитов в жидкости [146].

Вертикальная передача *BLV* потомству зараженных ВЛКРС коров может происходить внутриутробно или во время родов, и около 10% телят уже при рождении могут быть инфицированы вирусом. Вертикальная

передача вируса связана с присутствием лимфоцитоза [88], злокачественных лимфом [162] и вирусной нагрузкой [175] стельных коров.

Чаще всего передача инфекции от матерей к их потомству происходит через выкармливание телятам зараженного молозива или молока. Поэтому, хотя EBL не является заболеванием, характерным для неонатального периода, в этот период телята подвергаются особому риску инфицирования, особенно на молочных фермах, где они потребляют молозиво и/или сырое молоко естественным или искусственным путем. Ряд авторов подтвердили наличие провируса и инфекционного вируса не только в молоке и молозиве большинства *BLV* инфицированных коров, но и в сборном молоке, а также и тот факт, что молозиво может также содержать специфические антитела к *BLV* [140, 148, 168]. Таким образом, молоко и молозиво являются источниками инфекции для новорожденных телят. Но потенциальная защитная или инфекционная роль молозива и молока в естественной передаче *BLV* до сих пор не ясна. Тем не менее, телята, инфицированные в течение первой недели жизни, могут играть активную роль в раннем распространении *BLV* среди восприимчивых животных [208]. Инфекционность молозива и молока экспериментально была продемонстрирована на овцах, у которых при пероральном заражении молоком развилась *BLV*-инфекция [130, 177], на телятах, полученных от интактных матерей и питавшихся молоком от *BLV*-инфицированных коров [206], а также на телятах, выкормленных молозивом и молоком от родной *BLV*-положительной матери с момента рождения и затем выращенных в полной или частичной изоляции от зараженного скота [132]. Было показано, что *BLV*-инфекции больше подвержены телята, рожденные неинфицированными коровами [51, 121].

Есть данные о том, что у новорожденных телят, полученных от инфицированных и больных лейкозом коров, отмечают признаки слабого морфофункционального развития. Так, 50% телят, рожденных гематологически положительными коровами, и 25% телят от серопозитивных

коров являются гипотрофиками. Выявлена корреляция заболеваемости и смертности потомства неонатального периода в зависимости от характера проявления лейкозного процесса у коров во время беременности. Среди телят, рожденных гематологически положительными коровами заболеваемость и смертность составляют 75% и 45% соответственно [83]. Установлено снижение 5 из 44 тестируемых иммунобиохимических показателей, а именно содержание гамма-глобулина, аспарагина, лизина лейцина, валина у потомства, полученного от больных лейкозом коров. Показано, что оно относится к группе повышенного риска и характеризуется предрасположенностью к различным заболеваниям и характеризуется повышенным уровнем спонтанной пролиферативной активности мононуклеаров периферической крови [42]. Наиболее часто у телят, полученных от *BLV*-положительных коров, отмечают расстройства деятельности желудочно-кишечного тракта. При этом в сыворотке крови у телят от РИД-положительных коров, при развитии диареи выявляют гипопроотеинемию, гипоальбуминемию и диспротеинемию [101].

Потенциал патогенности BLV in vivo и in vitro

В природе вирус лейкоза КРС был также детектирован у капибар, зебу [212], альпаки [165], буйвола [174] и яка [170].

В экспериментальных условиях к *BLV*-инфекции чувствительными оказались овца, коза, свинья, лошадь, обезьяна и кролик [10, 11, 208], удалось воспроизвести экспериментальную инфекцию на крысах [102, 169] и курах [92].

В лабораторных условиях вирус лейкоза КРС может инфицировать широкий спектр клеток: обезьян, коров, собак, коз, овец, летучих мышей с образованием провируса и формированием синцитиев [139]. Причем не только лимфоцитов, а клеток различного происхождения, в том числе клеток лёгкого и тимуса. В условиях *in vitro*, фибробласты человека оказались восприимчивы к инфекции *BLV* [119].

Согласно последним данным, ученые Дагестанского государственного университета производили внутрибрюшинное заражение крыс линии Wistar кровью людей, страдающих лейкозом, с целью последующего выявления у животных антител к *BLV* методом РИД. В итоге у 1 из 12 особей РИД была слабо положительна [52]. Однако наличие антител, без изучения динамики их накопления после однократного введения антигена, не следует рассматривать как неоспоримое доказательство инфекционного процесса. Вместе с тем эти данные свидетельствуют об иммунореактивности подопытных животных по отношению к *BLV* и, вероятно, о присутствии *BLV* в крови человека с клиническими проявлениями лейкемии. В своих исследованиях Н.Г. Козырева и соавторы (2017) подтвердили инфекционные свойства молока больных лейкозом коров, доказав факт межвидовой передачи *BLV* кроликам алиментарным путем [24].

Молоко больных лейкозом коров небезопасно и для здоровья человека [55]. Установлено, что оно содержит большое количество свободного триптофана, метаболиты которого обладают канцерогенными свойствами и не разлагаются даже после 20 минутного кипячения [80]. У молочных коров, инфицированных ВЛКРС, количество соматических клеток в молоке составляет $4,9-5,2 \times 10^5 / \text{см}^3$ [233], а бактериальная обсемененность такого молока доходит до $2,5 \times 10^7 \pm 4,5 \times 10^2$ КОЕ/мл [30]. Таким образом, согласно литературным данным, молоко больных лейкозом коров не соответствует современным техническим регламентам и стандартам. В соответствии с современным законодательством, молоко больных лейкозом коров запрещено для использования в пищу человеку, а вот продукция от *BLV*-инфицированных животных после пастеризации используется без ограничений. Связано это с тем, что с момента открытия, многие годы, энзоотический лейкоз КРС был определен как болезнь, видоспецифичная исключительно для крупного рогатого скота, особенно молочного направления продуктивности. Исследователи по всему миру

демонстрировали, что это заболевание не связано ни с какими патологиями у человека [111, 122, 124, 135].

Однако в последнее время, с появлением более чувствительных методов диагностики, все чаще возникает вопрос о способности ВЛКРС передаваться человеку [20]. Доказано, что среди сельского населения, постоянно контактирующего с КРС, иммунная прослойка к *BLV* составляет 74%, в то время как у городского населения, антитела к *BLV* обнаруживаются в 12,5% случаев и у 12,3% из них в крови выявлен провирус *BLV* [20, 29]. Имеют место научно обоснованные доказательства способности рекомбинантных штаммов *BLV-HTLV* реплицироваться *in vitro* в культуре клеток как КРС, так и человека. При этом пассаж через более резистентный организм, например, ягнёнка, увеличивает инфекционную активность *BLV* для человека [28, 107].

Сотрудниками национального института рака в США был проведен эпидемиолого-эпизоотический мониторинг по выявлению корреляции между возникновением лейкемии у человека и лимфосаркомой коров в штате Айова. Большинство случаев лейкемии у человека составляла острая лимфоидная лейкемия, регистрируемая наиболее часто в местах разведения молочного скота у мужчин сельской местности в возрасте до 20 и после 60 лет. Была выявлена положительная корреляция между количеством заболевших людей и наличием в стадах животных с лимфосаркомами [123].

Тем не менее, до последнего времени *BLV* не рассматривался как угроза для людей [228], однако, по данным M. Giovanna et al. (2013), сегменты генома *BLV* были обнаружены в тканях молочной железы Колумбийских женщин [138], а в 2014 году группе исследователей под руководством G.C. Buehring методом *in situ* ПЦР в тканях молочной железы удалось выявить провирусную ДНК у 44% обследованных женщин в США [105]. В 2015 году на основании обнаружения ретротранскрибированной ДНК в ткани молочной железы, G.C. Buehring было высказано предположение о возможной этиологической роли *BLV* в развитии рака

груди у женщин [106]. В 2016 году в онкологическом центре Калифорнии ДНК *BLV* была обнаружена у 8 из 10 пациентов с плоскоклеточной карциномой легкого [203]. Исследования 2017 года показали присутствие *BLV* в тканях молочной железы у больных раком молочной железы женщин Сиднея и США в 77,6% и 59%, соответственно. Было высказано предположение, что *BLV* в значительной мере связан с развитием рака молочной железы у австралийских женщин, так как в некоторых случаях он присутствовал в тканях молочной железы за 3-10 лет до того, как был диагностирован рак [104]. Существует и иное мнение. В частности, R. Zhang et al. (2017) не выявили корреляции между раком груди у женщин в Китае и присутствием у них антител к *BLV* [236]. Однако, Cuesta L. Martinez et al. (2018) высказали предположение, что возможно ветеринарные наборы не пригодны для исследования людей [172]. Таким образом, необходимость проведения исследований по изучению возможности и механизмов развития *BLV*-инфекции в гетерологичных организмах является важной задачей современной ветеринарной вирусологии.

2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Объекты, материалы и методы исследований

Научно-исследовательская работа включала в себя несколько этапов:

1. Первым этапом явилось обоснование актуальности выбранного направления исследований, подбор лабораторной модели и дизайн эксперимента на основании литературных данных.

Объектом исследования явились белые лабораторные крысы линии Wistar (n=60). Все исследования на крысах проводились согласно Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (Приложение 1).

Крысы были разделены на 3 равные группы из расчета 2-3 самки на 1 самца, содержались в идентичных условиях на полноценном рационе и ежедневно получали вволю свежее сырое коровье молоко. Первой группе (I) крыс скармливали молоко интактных коров, второй (II) – молоко *BLV*-инфицированных коров и третьей (III) – молоко клинически больных лейкозом коров (на основании данных госветслужбы). Крысы I, II и III групп были разделены на 2 подгруппы каждая: в подгруппе "а" были взрослые крысы, в подгруппу "б" вошло их потомство. Потомство, полученное от крыс, содержалось совместно с матерями до достижения половозрелого возраста, затем отдельно, и имело свободный доступ к коровьему молоку. Потомство 2 генерации, полученное от крыс II и III групп подгрупп "б", в возрасте 1 месяца отсаживали в отдельную клетку (сборная IV группа) и содержали на полноценном рационе, подкармливая молоком от интактных к лейкозу коров. Еще одну группу крыс (V группа) выкармливали в течение 6 месяцев молоком *BLV*-инфицированных коров после кратковременного нагревания молока до температуры закипания.

2. Вторым этапом исследований стало определение динамики развития *BLV*-инфекции у экспериментальных крыс методом ПЦР- и ИФА- анализа.

Через 3, 6, 9 и 12 месяцев от начала эксперимента у животных I, II и III групп, а у крыс IV и V групп в 3 и 6 месячном возрасте осуществляли аспирацию крови из боковой хвостовой вены (*vene caudalis laterale*) в вакуумные пробирки со стабилизатором КЗ ЭДТА и в пробирки с клот-активатором (PUTH, Россия).

Для выделения и очистки нуклеиновых кислот применяли набор «ДНК Сорб В» (ИнтерЛабСервис, Россия). Присутствие или отсутствие провируса *BLV* в стабилизированной крови крыс, также, как и коров, молоко которых выкармливали экспериментальным животным, устанавливали методом классической ПЦР с применением набора ЛЕЙКОЗ (ИнтерЛабСервис, Россия) и, для исключения часто сопутствующей лейкозу инфекции вирусом бычьего иммунодефицита, методом мультиплексной ПЦР (патент РФ № 2615465) [12] с использованием оригинальных праймеров (синтез ЗАО «Синтол», Россия), набора ПЦР-Микс и буфера для нанесения (НПФ «Литех», Россия). Амплификацию осуществляли в термоциклере T100 (BioRad, США). Детекцию продуктов амплификации проводили методом горизонтального электрофореза в 2 % агарозном геле с добавлением 0,5 мкг/л этидия бромида с применением набора «ЭФ» (ИнтерЛабСервис, Россия) при стандартных условиях с фоторегистрацией полученных результатов. Учет результатов выполняли на оборудовании GelDoc XR PLUS (BioRad, США).

Выявление специфических противолейкозных антител в сыворотке крови крыс осуществляли методом твердофазного ИФА с применением набора для выявления антител к вирусу лейкоза крупного рогатого скота в сыворотке крови и молоке иммуноферментным методом (вариант №1 - скриннинг) производства ФКП «Курская биофабрика - фирма «БИОК» (Россия) на оборудовании Multiskan («Thermo Scientific», США), согласно прилагаемой к набору инструкции.

3. Третьим этапом наших исследований стало выявление патологических эффектов у *BLV*-инфицированных крыс линии Wistar.

В течение времени наблюдения за животными (12 месяцев) фиксировали динамику клинического состояния экспериментальных животных, в том числе их репродуктивную функцию.

Изучение морфологического состава крови крыс осуществляли на гематологическом анализаторе автоматического типа PCE-VET (USA) методика, биохимических показателей крови – на биохимическом анализаторе полуавтоматического типа BioChemSA (USA) с использованием реагентов линии Диакон-ДС (АО «ДИАКОН-ДС», Россия), согласно прилагаемой к наборам инструкции.

После получения крови по 5 крыс каждой группы подвергали эвтаназии путем смещения шейных позвонков при предварительной аэрозольной анестезии диэтиловым эфиром и вскрытию, фиксировали в них патоморфологические изменения.

Материалом для морфометрических исследований являлись паренхиматозные органы крыс: печень, почки, селезенка, легкие и сердце. Взвешивание крыс и их внутренних органов осуществляли на весах JW-1 ($e=0,02$ г) производства фирмы АСОМ (Южная Корея).

Цитологические изменения в селезенке детектировали путем световой иммерсионной микроскопии мазков-отпечатков ($\times 1600$), окрашенных с использованием набора Лейкодиф 200 (Erba Lachema, Чехия). Микроскопию осуществляли с помощью бинокулярного микроскопа Армед XS-90 (Россия).

4. Четвертым этапом наших исследований стала разработка способа коррекции клинического состояния у молодняка КРС при *BLV*-инфекции матерей.

На основании экспериментальных данных, полученных в период с 2009 по 2016 гг. в колхозе «Заря» Тамалинского района Пензенской области на 3469 новорожденных телятах голштинской и симментальской пород с положительными результатами и регулярной воспроизводимостью этих результатов, были разработаны лекарственная композиция и способ ее применения для профилактики и терапии диспепсических состояний

новорожденных телят, полученных от инфицированных лейкозом коров (Патент № 2646831).

Для расчета прироста массы тела телят взвешивание осуществляли на весах для животных «Эльтон» (ООО «СтанкоМастерИнструмент», Россия).

Изучение гемато-биохимического статуса телят осуществляли на гематологическом анализаторе автоматического типа PCE-VET (USA) и биохимическом анализаторе полуавтоматического типа BioChemSA (USA) с использованием реагентов линии Диакон-ДС (АО «ДИАКОН-ДС», Россия), согласно прилагаемым к наборам инструкциям.

Изучение кишечной микрофлоры телят осуществляли согласно методическим рекомендациям по бактериологической диагностике дисбактериоза кишечника [49] на 1, 3, 7 и 14 дни от рождения. Фекалии забирали стерильным квачом из прямой кишки в стерильную пробирку.

Из 1 г свежих фекалий готовили десятикратные разведения на стерильном физиологическом растворе. Из разведений делали высевы на селективные питательные среды: для определения бактерий рода *Proteus* – по методу Шукевича на скошенный агар в конденсат; рода *Enterococcus* – на энтерококкагар; рода *Bifidobacterium* – на бифидум среду; рода *Lactobacillus* – на лактобакагар; для определения *St. aureus* – на желточно-солевой агар; *E. coli* – на среду Эндо; для определения микроскопических грибов - на среду Сабуро с гентамицином. Питательные среды производства ООО «Лабораторные Препараты» (Россия).

Полученные в результате проведенных исследований данные были представлены, как среднестатистические в результате проведения серии повторных экспериментов. Результаты исследований обрабатывали с помощью программы Statistica 6 на базе компьютера с ОС Windows 7 и процессором Intel Core 2 Duo.

Научно исследовательская работа выполнялась в соответствии с нижеприведенной схемой:



Рисунок 1 - Схема проведения исследований

2.2. Результаты исследований и их обсуждение

В данном разделе изложены результаты научных исследований, опубликованные в 12 научных статьях [31 – 34, 63 – 68, 95, 161], патенте [60].

2.2.1. Изучение инфекционности *BLV* для лабораторных крыс

Результаты ПЦР и ИФА исследований крови крыс приведены в таблицах 1 и 2. Крысы I группы, в рационе которых было молоко интактных коров, так же, как и животные II и III групп, поедавшие молоко *BLV*-инфицированных и клинически больных лейкозом коров, соответственно, были разделены на 2 подгруппы каждая: в подгруппе "а" были взрослые крысы, в подгруппу "б" вошло их потомство. Животные IV группы, куда вошли потомки 2-го поколения от крыс I, II и III групп, на подгруппы не разделялись, также, как и крысы V группы.

Таблица 1 – Результаты ПЦР исследований крыс

Группа Этап	Ia	Iб	IIa	IIб	IIIa	IIIб	IV	V
3-й месяц эксперимента	-	-	+	-	+	X	X	-
6-й месяц эксперимента	-	-	+	+	+	+	X	-
9й месяц эксперимента	-	-	+	+	+	+	-/+	X
12-й месяц эксперимента	-	-	+	+	+	+	-/+	X

Примечание – «-» - реакция отрицательная;
 «+» - реакция положительная;
 «-/+» - реакция положительная в 30% случаев;
 «X» - исследования не проводились.

Таблица 2 – Результаты ИФА исследований крыс

Группа Этап	Ia	Iб	IIa	IIб	IIIa	IIIб	IV	V
3-й месяц эксперимента	-	-	+	+	-	X	X	-
6-й месяц эксперимента	-	-	+	+	+	+	X	-
9й месяц эксперимента	-	-	+	+	+	+	-/+	X
12-й месяц эксперимента	-	-	+	+	+	+	-/+	X

Примечание – «-» - реакция отрицательная;
«+» - реакция положительная;
«-/+» - реакция положительная в 30% случаев;
«X» - исследования не проводились.

Согласно последним данным, ученые Дагестанского государственного университета А.Р. Мустафаев и К.С. Бекшоков производили внутрибрюшинное заражение крыс линии Wistar кровью людей, страдающих лейкозом, с целью последующего выявления у животных антител к *BLV* методом РИД. В итоге у 1 из 12 особей РИД была слабо положительна [52]. Наличие антител, без изучения динамики их накопления после однократного введения антигена, нельзя рассматривать как неоспоримое доказательство инфекционного процесса. Однако данные А.Р. Мустафаева и К.С. Бекшокова свидетельствуют об иммунореактивности подопытных животных по отношению к *BLV* и, очевидно, о присутствии этого вируса в крови человека с клиническими проявлениями лейкемии. В своих исследованиях Н.Г. Козырева и соавт. показали, факт межвидовой передачи вируса лейкоза крупного рогатого скота кроликам алиментарным путем, тем самым подтвердив инфекционные свойства молока больных лейкозом коров [24].

Наши исследования показали, что белые лабораторные крысы линии Wistar также являются восприимчивыми к пероральному заражению вирусом лейкоза крупного рогатого скота: через 3 месяца выкармливания молоком инфицированных и больных лейкозом коров крысы были инфицированы *BLV*. Исключение составили животные группы IIб - месячные крысята, которые, по-видимому, были защищены колостральными антителами. В

группе IIIа у животных отсутствовала иммунная реакция. П.Н. Смирнов констатирует, что при лейкозе в крови присутствуют дефектные лимфоциты и долгоживущие супрессоры, а сыворотка крови иммунных животных содержит ингибитор антител, что и объясняет длительный латентный период в иммунном ответе [73, 75]. Животные группы IIIб на 3-й месяц эксперимента не подвергались исследованию, так как находились в неонатальном периоде. Впоследствии, ПЦР исследованиями на 6, 9 и 12 месяцы эксперимента, *BLV* инфекция была установлена у всех подопытных животных I, II и III групп. Также у них была выражена иммунная реакция, в той или иной степени.

С целью дальнейшего изучения возможности трансплацентарной передачи *BLV* у крыс, потомство крыс второй генерации, также исследовали методом ПЦР в 3-4-х месячном возрасте. Трансплацентарная передача вируса была установлена у 30-33% подопытных животных. Это можно объяснить теорией П.Н. Смирнова, свидетельствующей, что иммунологический дефект, развившийся в организме под влиянием *BLV*, определяемый как вторичный, накладываемый на дефект первичной природы (предрасположенность к лейкозу), повышает риск заболевания лейкозом [73].

Крысы контрольных групп Ia и Ib были интактны к *BLV* на протяжении всего эксперимента. Так же, как и крысы V группы, что подтверждает мнение ряда исследователей, что термическая обработка делает молоко *BLV*-инфицированных коров не заразным для животных [72, 132, 189].

2.2.2. Патологические эффекты у *BLV*-инфицированных крыс

2.2.2.1. Динамика витальных изменений у экспериментальных животных

Клинические признаки и динамика массы тела животных

Наблюдение за экспериментальными животными вначале не показывало явных отклонений в поведении или клиническом состоянии экспериментальных животных. Не было отмечено падежа или каннибализма

у крыс в динамике эксперимента. Однако к концу эксперимента у крыс III группы аппетит и активность были снижены, у многих отмечалось затрудненное дыхание.

Можно констатировать и факт нарушения репродуктивной функции у крыс, поедавших молоко инфицированных и больных лейкозом коров. Потомство у самок из этих групп было малочисленным (менее 6 крысят) и начало появляться позже, чем у крыс, которым скармливали молоко интактных коров. В частности, во II группе крысята появились почти на 2 месяца, а в III группе - на 3 месяца позже, чем в I группе.

Следует отметить, что к концу периода наблюдения в экспериментальных группах у животных резко снизились приросты массы тела, вплоть до отрицательных значений и развилась кахексия. Особенно это было выражено у потомства III группы крыс, где положительная динамика отсутствовала вовсе. Изменения массы тела животных в динамике эксперимента представлены в таблице 3 и на рисунках 2 - 4.

Таблица 3 – Динамика изменения массы тела животных

Возраст Группа	6-7 мес.				10-11 мес. (а)/2-3 мес.(б)			13-14 мес.(а)/6-7 мес.(б)			16-17 мес.(а)/9-10 мес.(б)			20-21 мес(а)/13-14 мес.(б)		
	Масса тела, г	Масса тела, г	С/с прирост, г	Относит. прирост, %	Масса тела, г	С/с прирост, г	Относит. прирост, %	Масса тела, г	С/с прирост, г	Относит. прирост, %	Масса тела, г	С/с прирост, г	Относит. прирост, %	Масса тела, г	С/с прирост, г	Относит. прирост, %
I а	184,9 ±16,3	249,4 ±23,1	0,5 ±0,1	34,9 ±2,8	315,1 ±29,4	0,9 ±0,1	26,3 ±2,3	382,6 ±35,2	0,7 ±0,1	21,4 ±1,8	486,3 ±45,5	0,9 ±0,1	27,1 ±2,1			
I б	-	143,1 ±11,8	-	-	269,2 ±22,7	1,6 ±0,1	88, 1±7,7	412,6 ±35,7	1,5 ±0,1	53,3 ±4,6	498,7 ±44,8	0,8 ±0,1	20,9 ±1,7			
II а	174,6 ±15,7	322,4 ±30,5*	1,2 ±0,2*	84,6 ±7,8*	536,2 ±46,9*	2,8 ±0,3*	66,3 ±6,3*	832,7 ±77,2*	3,0 ±0,3*	55,3 ±5,1*	248,0 ±19,7*	-5,2 ±0,4*	-70,2 ±6,6*			
II б	-	128,7 ±10,9	-	-	296,4 ±21,6*	2,2 ±0,2*	130,3 ±11,2*	440,3 ±38,9	1,5 ±0,2	48,5 ±4,3	259,2 ±21,2*	-1,6 ±0,2*	-41,1 ±3,8*			
III а	196,7 ±17,7	351,9 ±33,1*	1,3 ±0,2*	78,9 ±7,1*	442,0 ±39,1*	1,2 ±0,1*	25,6 ±2,1	853,0 ±77,9*	4,2 ±0,4*	93,0 ±8,5*	230,3 ±18,4*	-5,5 ±0,4*	-73,0 ±7,1*			
III б	-	-	-	-	362,8 ±34,3*	-	-	356,2 ±32,6*	-0,1 ±0,0	-1,8 ±0,2*	257,1 ±0,2*	-0,8 ±0,1*	-27,8 ±2,1*			

Примечание – * - достоверные отличия от контрольной группы (I), $p < 0,05$.

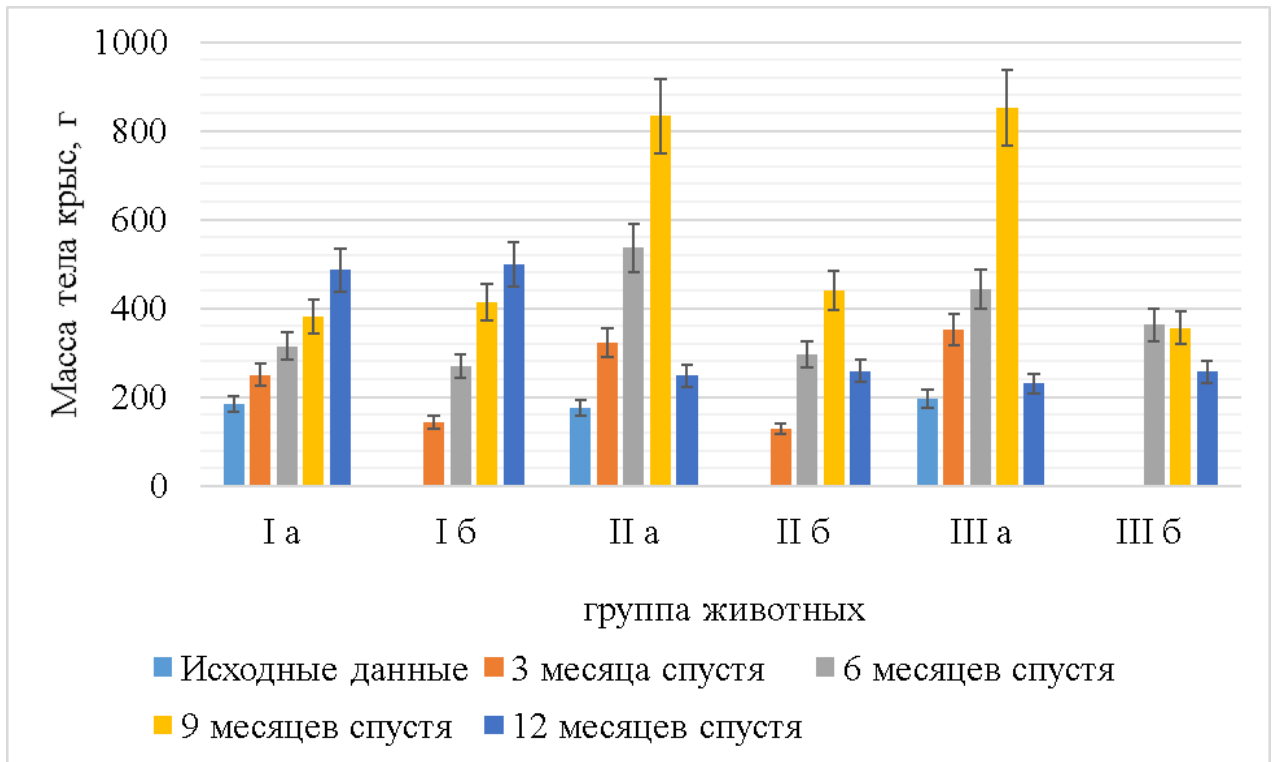


Рисунок 2 – Динамика изменения массы тела животных

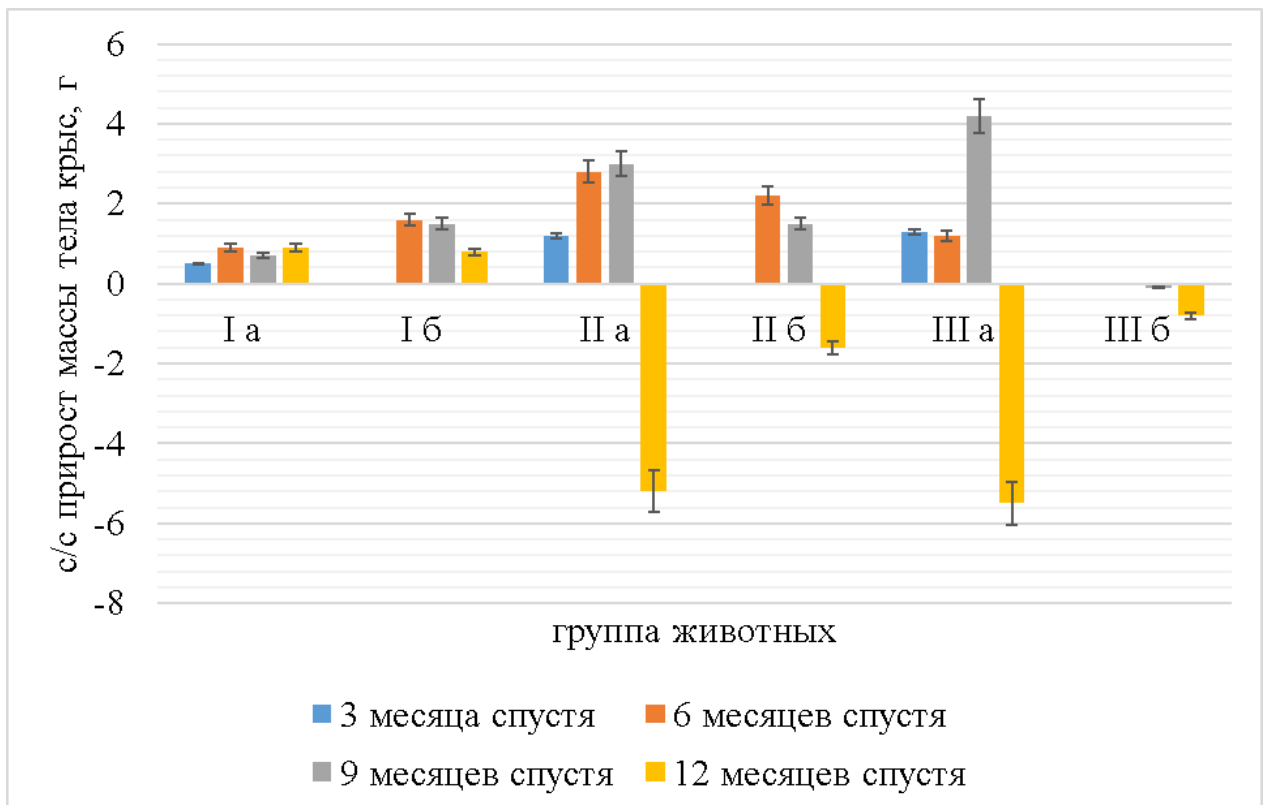


Рисунок 3 – Динамика среднесуточного прироста массы тела

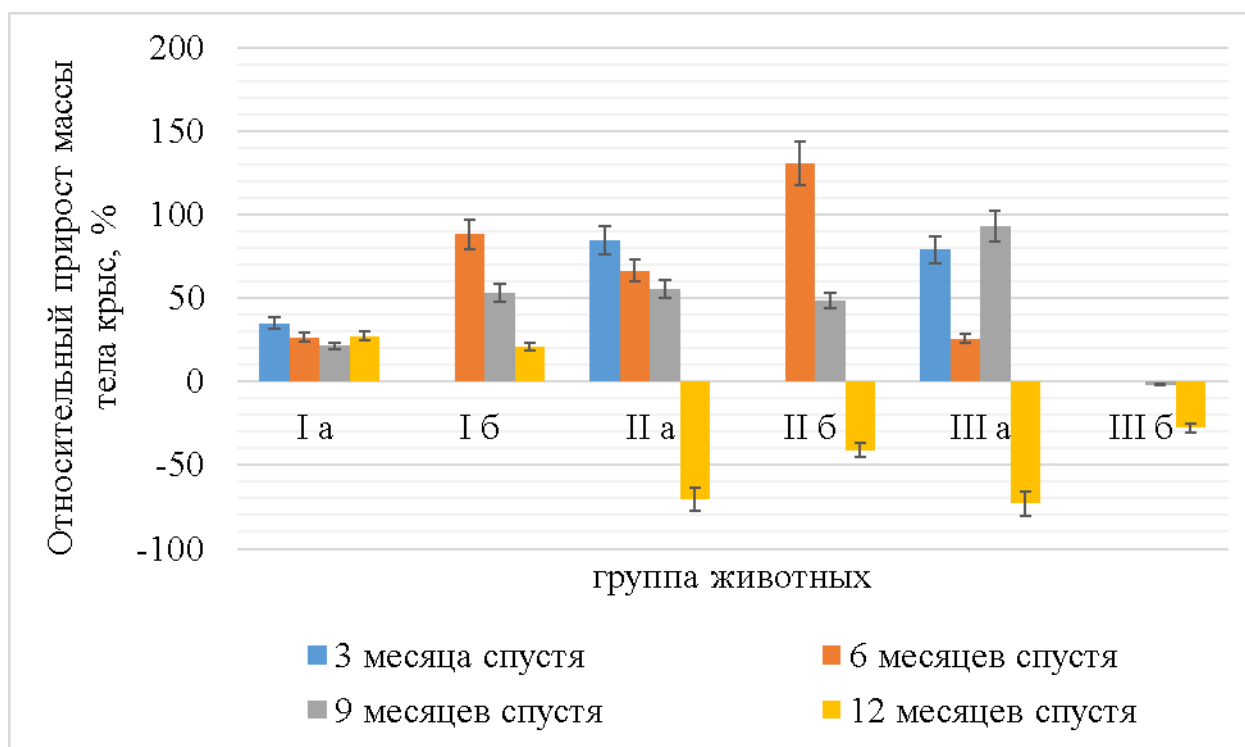


Рисунок 4 – Динамика относительного прироста массы тела

Как следует из данных таблицы 3 и показано на рисунке 2, изменения массы тела животных характеризовались выраженной положительной динамикой в первой половине эксперимента и резкой отрицательной динамикой к концу. Это может свидетельствовать об изменении гормонального фона у экспериментальных животных. А также может быть связано с более высокой жирностью молока больных и инфицированных коров, обусловленной снижением удоя в результате развития субклинических маститов. Наиболее выражена динамика среднесуточного прироста массы тела была у животных групп IIa и IIIa. В несколько меньшей степени динамика относительного прироста массы тела выражена у животных групп IIб и IIIб.

Наши данные коррелируют с результатами С.Н. Маргер, полученными при исследовании потомства больных и инфицированных лейкозом коров. Так, автором была установлена тенденция к повышению продуктивности первотелок, полученных от больных лейкозом коров, по сравнению с потомством здоровых. Автор связывает это с изменением гормонального фона у животных: уровень 11-оксикортикостероидов у животных,

полученных от больных лейкозом коров, превышал данный показатель у телочек, рожденных от интактных коров. Кроме того, автор констатирует, что потомство больных лейкозом коров относится к группе повышенного риска и частота регистрации болезней у таких телят в 2 раза выше, чем среди животных от интактных к лейкозу материей [43]. А по данным международного эпизоотического бюро какехсия – одно из самых распространенных клинических проявлений лейкоза у животных, особенно в терминальной стадии [195].

Динамика гемато-биохимического статуса

Для сравнительной оценки данных общего анализа крови (ОАК) (Таблицы 4 – 7) и результатов биохимического исследования крови крыс (Таблицы 8 – 11) мы ориентировались на референсные значения для крыс линии Wistar, приведенные в справочнике по физиологическим, биохимическим и биометрическим показателям нормы экспериментальных животных [79]. Однако эталонными считали результаты исследований контрольных групп, так как условия кормления крыс отличались от стандартных.

Таблица 4 – Гематологические показатели крыс (эксперимент 3 месяца)

Показатель	Группа животных/возраст					
	Ia/9 мес.	Ib/2 мес.	IIa/9 мес.	IIb/1 мес.	IIIa/9 мес.	IIIb/неонат
RBC, $10^{12}/L$	7,3±0,7	6,1±0,6	7,3±0,7#	5,9±0,5	5,7±0,5*#	–
HGB, g/l	139,5±14,0	125,3±1,1	139,1±12,6#	119,7±11,4*	115,3±10,9*#	–
MCHC, g/l	382,0±32,2	404,0±37,8	405,0±38,8	406,0±39,2	423,0±41,1	
RDWc, %	14,3±1,3	13,7±1,2	14,1±1,3	17,9±1,6*	15,4±1,3	–
MCV, fl	47,8±4,4	50,5±4,9	48,2±4,6	51,3±4,8	45,4±4,2	
WBC, $10^9/L$	11,5±1,1	11,7±1,1	21,2±1,9*#	14,6±1,3*	7,4±0,7*#	–
LYM, %	66,8±6,6	66,8±6,6	63,7±6,5#	57,6±5,6*	31,1±3,1*#	–
MID, %	6,1±0,6	6,0±0,6	8,1±0,8*	4,0±0,4*	7,7±0,7*	–
GRA, %	27,1±2,5	27,2±2,6	28,2±2,6#	38,4±3,3*	61,2±5,8*#	–
PLT, $10^9/L$	440,0±43,0	514,0±49,2	695,0±67,9*#	694,0±68,3*	754,0±72,2*#	–
MPV, fL	5,9±0,5	5,5±0,5	6,7±0,6*	7,6±0,7*	7,1±0,7*	–

Примечание – * - отличие опытной группы от контрольной (I);

- отличие опытных групп между собой;

p<0,05.

Приведенные в таблице 4 данные свидетельствуют о незначительном тромбоцитозе у животных экспериментальных групп, при этом несколько

увеличивается средний объем тромбоцитов. В группах IIa и IIIa можно предположить развитие аллергии, так как несколько превышен показатель средних клеток крови. В группе IIIa возросшее количество нейтрофилов свидетельствует об активной реакции на клеточном уровне. В группе IIa отмечен лейкоцитоз при сохранении общего соотношения лейкоцитарных фракций.

Таблица 5 – Гематологические показатели крыс (эксперимент 6 месяцев)

Показатель	Группа животных/возраст					
	Ia/12 мес.	Ib/5 мес.	IIa/12 мес.	IIb/4 мес.	IIIa/12 мес.	IIIb/3 мес.
RBC, $10^{12}/L$	7,9±0,7	7,6±0,7	7,0±0,7*	8,1±0,7	6,7±0,6*	6,9±0,6*
HGB, g/l	150,0±15,0	151,0±14,8	140,0±14,0	148,0±13,8	146,0±14,1	150,0±14,5
MCHC, g/l	384,0±30,9	396,0±31,1	318,0±29,4*	308,0±28,7*	341,0±32,2*	332,0±32,1*
RDWc, %	12,1±1,1	11,6±10,9	12,9±1,1	15,4±1,4*#	11,8±1,1	10,8±0,9#
MCV, fl	50,1±4,6	51,1±4,9	62,7±6,1*	58,7±5,6*#	63,5±6,2*	65,2±6,3*#
WBC, $10^9/L$	7,3±0,6	9,4±0,9	15,8±1,4*	15,5±1,5*#	14,0±1,4*	17,9±1,6*#
LYM, %	62,2±6,1	63,0±6,2	56,2±5,3#	66,3±6,1#	69,7±6,7*#	77,3±7,6*#
MID, %	4,3±0,4	4,4±0,4	3,9±0,3	4,1±0,4#	4,0±0,3	3,1±0,3*#
GRA, %	33,5±3,2	32,6±2,8	39,9±3,6*#	29,6±2,7#	26,3±2,5*#	19,6±1,7*#
PLT, $10^9/L$	505,0±48,6	508,0±47,5	647,0±63,6*	624,0±61,6*	697,0±68,4*	663,0±65,5*
MPV, fL	5,4±0,4	6,0±0,6	6,8±0,6*	6,6±0,6*#	7,4±0,7*	8,2±0,7*#

Примечание – * - отличие опытной группы от контрольной (I);

- отличие опытных групп между собой;

p<0,05.

Как следует из данных таблицы 5, спустя полгода с начала эксперимента в группах IIIa и IIIb наблюдали признаки гемолитической анемии, такие как снижение количества эритроцитов на фоне нормальных показателей гемоглобина крови и увеличения среднего объема эритроцитов, что может быть следствием интоксикации. Также в этих группах отмечается незначительный лимфоцитарный лейкоцитоз. У животных экспериментальных групп снова отмечен незначительный тромбоцитоз с увеличением среднего объема тромбоцитов, что может быть свидетельством нарушения гемопоэза и в частности созревания клеток. Исследования медицинских врачей показали, что у людей с острым лейкозом часто развивается первичный тромбоцитоз, обусловленный нарушением костномозгового кроветворения [21].

Таблица 6 – Гематологические показатели крыс (эксперимент 9 месяцев)

Показатель	Группа животных/возраст					
	Ia/15 мес.	Ib/8 мес.	IIa/15 мес.	IIb/7 мес.	IIIa/15 мес.	IIIb/6 мес.
RBC, $10^{12}/L$	7,3±0,6	7,8±0,7	5,9±0,6*	5,1±0,5*	5,6±0,5*	4,7±0,4*
HGB, g/l	141,0±13,8	146,0±14,1	124±12,2*	108,0±9,8*	128,0±12,4*	100,0±9,7*
MCHC, g/l	394,0±33,5	399,0±34,1	328,0±31,6*	308,0±29,4*	350,0±33,7*	315,0±30,8*
RDWc, %	11,6±1,1	11,5±1,1	12,2±1,1	17,2±1,3*	13,0±1,2*	14,0±1,2*
MCV, fl	52,1±5,1	53,4±5,0	63,9±6,1*	68,8±6,9*	65,0±6,3*	66,8±6,3*
WBC, $10^9/L$	9,4±0,8	10,4±0,9	14,3±1,2*#	15,4±1,5*#	17,6±1,6*#	20,4±1,8*#
LYM, %	54,0±5,2	56,1±5,3	57,0±5,4	57,6±5,5*#	61,7±5,9*	68,9±7,0*#
MID, %	6,5±0,6	4,9±0,5	5,6±0,5*	6,7±0,5*	5,9±0,6*	6,7±0,6*
GRA, %	39,5±3,7	39,0±3,8	37,4±3,6#	35,7±3,3#	32,4±3,1*#	24,4±2,3*#
PLT, $10^9/L$	530,0±52,4	491,0±45,1	668,0±64,2*#	650,0±63,4*#	684,0±66,3*#	890,0±90,0*#
MPV, fL	6,1±0,6	6,2±0,6	7,0±0,7*#	6,9±0,7*#	6,9±0,6*#	8,5±0,7*#

Примечание – * - отличие опытной группы от контрольной (I);

- отличие опытных групп между собой;

p<0,05.

Третий анализ гематологических показателей крыс (Таблица 6) выявил тенденцию развития наметившихся процессов. В группе IIb показатель ширины распределения эритроцитов по объему снова оказался несколько выше, что может свидетельствовать о развитии анизоцитоза у животных этой группы. Отмечена тенденция снижения количества эритроцитов и гемоглобина у крыс экспериментальных групп, что может быть признаком интоксикации. В группе IIIb нарастали признаки лимфолейкоза. Показатели количества и размера тромбоцитов у животных экспериментальных групп также несколько превышены.

Таблица 7 – Гематологические показатели крыс (эксперимент 12 месяцев)

Показатель	Группа животных/возраст					
	Ia/18 мес.	Ib/11 мес.	IIa/18 мес.	IIb/10 мес.	IIIa/18 мес.	IIIb/9 мес.
RBC, $10^{12}/L$	7,9±0,7	7,8±0,7	7,9±0,8	7,7±0,6#	7,8±0,7	8,0±0,8
HGB, g/l	145,0±13,8	135,0±12,7	128,0±11,6*	114,0±10,9*	125,0±11,8*	116,0±10,1*
MCHC, g/l	393,0±35,8	401,0±38,7	253,0±24,6*	266,0±25,5*	258,0±25,6*	277,0±25,9*
RDWc, %	10,8±0,9	11,4±1,1	18,2±1,6*	21,3±1,9*#	17,4±1,6*	15,9±1,4*#
MCV, fl	49,0±4,6	53,0±5,1	64,0±6,2*	62,0±6,1*	62,0±5,8*	60,0±5,4*
WBC, $10^9/L$	8,7±0,8	9,2±0,8	15,9±1,4*	23,4±2,2*#	14,9±1,3*	19,8±1,7*#
LYM, %	50,8±4,6	56,6±5,2	57,0±5,3*	34,7±3,2	56,6±5,2*	69,2±7,0
MID, %	4,7±0,4	5,2±0,5	6,7±0,6*#	4,3±0,4*#	3,7±0,3*#	11,3±1,2*#
GRA, %	44,5±4,2	38,2±3,6	36,3±3,3*	61,1±5,9*#	39,7±3,7*	19,5±12,0*#
PLT, $10^9/L$	472,0±45,2	357,0±33,7	1343,0±132,0*#	1833,0±181,0*	2057,0±201,0*#	1685,0±165,0*
MPV, fL	5,8±0,5	6,1±0,6	8,3±0,8*#	9,5±0,9*	9,5±0,9*#	8,8±0,8*

Примечание – * - отличие опытной группы от контрольной (I);

- отличие опытных групп между собой;

p<0,05.

Заключительный анализ гематологических показателей крыс (Таблица 7) свидетельствует, что при восстановлении количества эритроцитов в группах экспериментальных животных, гемоглобин крови и количество гемоглобина на 1 эритроцит снижено, в тоже время несколько превышен объем клеток и возростал показатель ширины распределения эритроцитов по объему. Все это может быть последствием гемолиза эритроцитов в результате интоксикации, что привело к наличию в крови большого количества юных форм эритроцитов. В группе IIIб присутствуют незначительные признаки лимфолейкоза, а в группе IIб – лейкоцитоз нейтрофильного типа. Во всех экспериментальных группах отмечено значительное увеличение количества тромбоцитов при увеличении показателя среднего объема клеток.

Полученные нами данные коррелируют с мнением ряда авторов. Так, И.М. Донник были выявлены патологические формы клеток крови, в частности эритроцитов, у *BLV*-инфицированных животных [13]. П.Н. Смирновым была установлена волнообразная аритмическая динамика гематологических показателей больных лейкозом животных, определенная как цикличность процесса. Каждый цикл включает фазы ремиссии и обострения (временного снижения и повышения лейкоцитоза) той или иной

степени выраженности. При переходе лейкозного процесса в опухолевую стадию цикличность изменений гематологических показателей становится более выраженной, амплитуда колебаний значительно увеличивается [74]. Подобное явление цикличности наблюдали и мы в своем эксперименте, причем цикличность была характерна не только для белых, но и для красных кровяных телец. Стойкая положительная динамика была нами отмечена у кровяных пластинок, тромбоцитов. Выявленные нами изменения тромбоцитарных показателей, также могут быть свидетельством иммуносупрессии, так как, по мнению О.А. Рожкова с соавт. тромбоцитам отводится в последнее время существенная роль в формировании иммунитета [69]. В тоже время, А.И. Павлова с соавт. констатируют, что изменение количественного состава иммунокомпетентных клеток крови при лейкозе не является нарушением клеточного гомеостаза, а служит маркером структурной реакции организма на поддержание его функционального гомеостаза [56].

Таблица 8 – Биохимические показатели крови крыс (эксперимент 3 месяца)

Показатель	Группа животных/возраст					
	Ia/9 мес	Ib/2 мес.	IIa/9 мес.	IIb/1 мес.	IIIa/9 мес.	IIIb/неонат
ЩФ, Е/л	261,9±25,3	697,5±68,7	195,9±18,8*#	579,5±55,3*	265,5±26,1#	–
Мочевина, ммоль/л	7,6±0,7	6,6±0,6	8,0±0,8#	6,9±0,6	6,4±0,6*#	–
Креатинин, мкмоль/л	51,5±4,8	44,6±4,1	39,2±3,6*#	52,5±5,1*	83,0±8,2*#	–
Глюкоза, ммоль/л	24,7±2,2	17,2±1,6	12,1±1,1*#	14,8±1,4*	14,4±1,3*#	–
Общий белок, г/л	74,5±7,1	92,7±8,9	64,2±6,2*	80,1±7,8*	66,3±6,5*	–
Альбумин, г/л	38,1±3,6	48,8±4,4	39,7±3,7	33,5±3,1*	38,8±3,6	–
АЛТ, Е/л	108,6±10,1	81,3±8,1	93,3±9,2*#	62,7±6,2*	42,5±4,1*#	–
АСТ, Е/л	176,5±17,5	162,5±16,1	381,3±37,8*#	123,3±11,9*	118,7±11,6*#	–
Билирубин общ, мкмоль/л	3,5±0,3	3,1±0,3	3,3±0,3	12,1±1,1*	3,2±0,3	–

Примечание – * - отличие опытной группы от контрольной (I);
- отличие опытных групп между собой;
p<0,05.

Как следует из данных, представленных в таблице 8, в группе Ша наблюдается увеличение креатинина, что может свидетельствовать о почечной патологии. В группе Пб увеличение общего белка происходит за счет глобулиновой фракции, что свидетельствует об активной иммунной реакции на антигены возбудителя. В группах Па и Ша коэффициент де Ритиса составляет 4 и 3, соответственно, что может быть показателем сердечной патологии.

Таблица 9 – Биохимические показатели крови крыс (эксперимент 6 месяцев)

Показатель	Группа животных					
	Ia/12 мес	Ib/5 мес.	IIa/12 мес.	IIb/4 мес.	IIIa/12 мес.	IIIb/3 мес.
ЩФ, Е/л	287,3±25,9	226,5±21,9	150,3±14,5*#	723,6±70,9*	251,2±24,7*#	308,4±28,5*
Мочевина, ммоль/л	6,7±0,6	7,5±0,7	5,1±0,5*#	4,6±0,4*	3,6±0,3*#	4,8±0,4*
Креатинин, мкмоль/л	59,3±5,6	56,8±5,3	48,4±4,4*#	73,3±6,9*#	62,1±6,1#	69,9±6,8*#
Глюкоза, ммоль/л	3,5±0,3	4,31±0,4	7,4±0,7*#	7,5±0,7*#	6,3±0,6*#	12,9±1,1*#
Общий белок, г/л	63,3±6,1	69,1±6,5	74,2±7,1*#	61,1±5,9	66,1±6,4#	71,6±6,9*#
Альбумин, г/л	31,8±2,9	30,1±2,8	39,7±3,7*#	30,1±2,9#	26,2±2,3*#	24,8±2,1*#
АЛТ, Е/л	52,8±5,1	69,8±6,5	44,7±4,2*	70,2±6,7#	42,4±4,1*	80,8±7,8*#
АСТ, Е/л	112,9±11,6	199,4±18,9	222,8±21,3*#	234,0±22,4*	178,6±16,9*#	237,2±22,7*
Билирубин общ., мкмоль/л	2,8±0,3	1,2±0,1	7,6±0,6*#	15,1±1,4*#	6,4±0,4*#	12,8±1,2*#

Примечание – * - отличие опытной группы от контрольной (I);

- отличие опытных групп между собой;

p<0,05.

Спустя полгода с начала эксперимента изменения в биохимических показателях крови крыс относительно контроля становятся более выраженными (Таблица 9). В группе Па наблюдается значительное снижение уровня фермента щелочной фосфатазы, что может являться показателем нарушений в работе щитовидной железы, в первую очередь ее гиперфункции. В группах Ша и Пб возрастает глобулиновая фракция белка, что может быть следствием прогрессирования инфекционного процесса. Коэффициент де Ритиса в экспериментальных группах продолжает расти и свидетельствовать о сердечной патологии. Повышение билирубина, так же, как и, увеличение печеночного фермента аланинаминотрансферазы (АЛТ) в

группе IIIb, может быть маркером начинающейся патологии печени либо гемолитической анемии в экспериментальных группах. Высокий уровень щелочной фосфатазы на фоне увеличения количества билирубина и предельных значений АЛТ в группе IIb, так же, как и у потомства III группы, могут являться маркерами заболеваний гепатобилиарной системы. Увеличение креатинина в сыворотке крови крысят IIb и IIIb групп может быть признаком начинающейся почечной недостаточности, так как повышение концентрации креатинина при почечной недостаточности происходит раньше, чем повышение концентрации мочевины.

Таблица 10 - Биохимические показатели крови крыс (эксперимент 9 месяцев)

Показатель	Группа животных					
	Ia/15 мес.	Ib/8 мес.	IIa/15 мес.	IIb/7 мес.	IIIa/15 мес.	IIIb/6 мес.
ЩФ, Е/л	224,3±21,2	334,3±32,4	203,4±19,7*#	122±12,1*#	144,5±13,7*#	190,2±18,5*#
Мочевина, ммоль/л	4,8±0,3	7,2±0,7	6,7±0,6*#	7,4±0,7	3,5±0,3*#	6,7±0,6
Креатинин, мкмоль/л	52,1±5,9	54,4±5,3	64,4±6,2*	69,5±6,7*#	60,1±5,8*	75,2±7,2*#
Глюкоза, ммоль/л	5,2±0,5	7,5±0,7	5,4±0,5	8,9±0,8*#	5,8±0,5*	2,1±0,2*#
Общий белок, г/л	47,2±4,5	44,3±4,2	45,5±4,4	72,1±7,1*#	50,8±4,7	40,5±3,8#
Альбумин, г/л	28,5±2,6	29,6±2,7	30,6±2,9	29,2±2,8#	28,2±2,7	32,9±3,1*#
АЛТ, Е/л	52,8±5,1	65,2±6,4	62,1±5,8*#	50,1±4,7*#	42,4±4,1*#	25,9±2,2*#
АСТ, Е/л	130,2±11,5	200,5±18,9	232,1±23,1*#	232,7±22,1*	174,3±16,9*#	213,3±20,8*
Билирубин общ, мкмоль/л	2,8±0,2	4,4±0,4	11,9±1,1*#	6,3±0,6*#	7,4±0,7*#	12,8±1,1*#

Примечание – * - отличие опытной группы от контрольной (I);

- отличие опытных групп между собой;

p<0,05.

Спустя еще 3 месяца с начала эксперимента (Таблица 10) нами было отмечено дальнейшее снижение уровня фермента щелочной фосфатазы, что может свидетельствовать о развитии эндокринных нарушений у крыс экспериментальных групп. Наиболее яркие изменения наблюдали у потомства III группы, поедающих молоко больных коров: высокий креатинин и низкий общий белок в комплексе свидетельствуют о преобладании катаболических процессов в организме над анаболическими; низкая глюкоза на фоне высококалорийной диеты – показатель состояния интоксикации; не

значительно представлена глобулиновая фракция белков крови – выраженная иммуносупрессия; стабильно низкий уровень АЛТ показатель злокачественных новообразований в организме; высокий коэффициент де Ритиса – тяжелое поражение миокарда; высокий билирубин – поражения печени и гемолитические процессы. В других экспериментальных группах биохимические изменения могут являться признаками поражения почек (увеличение показателей мочевины и креатинина), печени (синхронный рост билирубина и АЛТ) и миокарда (высокий коэффициент де Ритиса), а также можно отметить выраженную иммунную реакцию в группе IIб (увеличение глобулиновой фракции белка).

Таблица 11 – Биохимические показатели крови крыс (эксперимент 12 месяцев)

Показатель	Группа животных					
	Ia/18 мес.	Ib/11 мес.	IIa/18 мес.	IIб/10 мес.	IIIa/18 мес.	IIIб/9 мес.
ЩФ, Е/л	370,6±36,6	337,3±51,3	298,9±28,6*#	216,1±20,9*#	461,3±44,8*#	295,2±27,9*#
Мочевина, ммоль/л	6,4±0,6	5,5±0,5	8,0±0,8*#	10,8±1,0*#	9,2±0,9*#	9,3±0,9*#
Креатинин, мкмоль/л	50,8±4,8	66,2±6,4	106,7±10,1*	76,4±7,4*	105,6±10,2*	74,4±7,3*
Глюкоза, ммоль/л	4,6±0,4	5,2±0,5	6,2±0,6*#	14,7±1,5*#	24,9±2,2*#	12,6±1,2*#
Общий белок, г/л	72,0±7,1	62,9±6,1	46,7±4,3*#	54,2±5,1*#	67,8±6,6#	62,5±5,9#
Альбумин, г/л	38,8±3,7	37,8±3,6	37,8±3,7	37,9±3,5	44,1±4,2*	41,6±3,9
АЛТ, Е/л	58,8±5,7	79,7±7,7	90,3±8,9*	94,5±8,1*#	99,4±9,8*	46,7±4,4*#
АСТ, Е/л	124,4±12,8	172,3±16,2	272,0±26,1*	277,6±25,9*	268,4±23,6*	233,7±22,2*
Билирубин общ, мкмоль/л	4,4±0,4	4,6±0,4	14,1±1,4*	12,2±1,2*#	15,1±0,5*	15,8±0,5*#

Примечание – * - отличие опытной группы от контрольной (I);

- отличие опытных групп между собой;

p<0,05.

Заключительное исследование сыворотки крови крыс (Таблица 11) снова показало наиболее значительные изменения биохимических показателей относительно контроля в группе животных IIIб - можно предположить нарушения в работе печени, почек, сердца, изменение гормонального фона, развитие онкологических заболеваний. Медицинскими врачами установлено, что у мужчин с острыми лейкозами имеет место

дисфункция эндокринной системы гипофиз-гонады, что приводит к нарушению обмена веществ [16]. Выравнивание уровня щелочной фосфатазы в сыворотке крови животных экспериментальных групп может быть следствием увеличения ее за счет печеночной фракции, так как отмечается дальнейший рост АЛТ и билирубина, все это свидетельствует о деструкции гепатоцитов и снижении функции органа. Возросшие показатели мочевины и креатинина вероятнее всего являются следствием почечной недостаточности. Следует отметить и снижение иммунной реакции у животных всех экспериментальных групп (низкий глобулин). Высокий уровень глюкозы может быть показателем дисфункции обменных процессов, как следствие нарушения гормонального фона.

Таким образом, наиболее динамичны в сыворотке крови крыс были показатели щелочной фосфатазы. Показатели мочевины и креатинина у экспериментальных животных возрастают со временем, как и глюкоза крови. В целом относительно стабильны оказались показатели общего белка и альбумина. Ферменты АСТ и АЛТ имели небольшую положительную динамику, в то время как общий билирубин крови был сильно увеличен у экспериментальных крыс относительно контроля и имел выраженную положительную динамику во времени.

2.2.2.2. Динамика постмортальных изменений у экспериментальных животных

Патологоанатомические и цитологические изменения

При вскрытии, наиболее выраженные патоморфологические изменения были выявлены нами у крыс, поедавших молоко инфицированных и больных лейкозом коров, через 6 месяцев от начала эксперимента, как у родительских особей, так и у потомства. На вскрытии у крыс, поедавших молоко инфицированных и больных лейкозом коров, макроскопически отмечали изменение цвета и консистенции печени, обнаруживали диффузные и локальные беловатые наложения на брыжейке и печени (Рисунок 5),

беловатые крупинчатые образования на различных участках кишечника, по виду напоминавшие разросшиеся пейеровы бляшки (Рисунок 6). Кроме того, были отмечены пиометра, катаральная и гнойная пневмония. В мазках-отпечатках из легких крыс обнаруживали диплококки, что свидетельствует о развитии эпизоотии у животных. Изменения отмечали у 30% экспериментальных животных II и III групп.

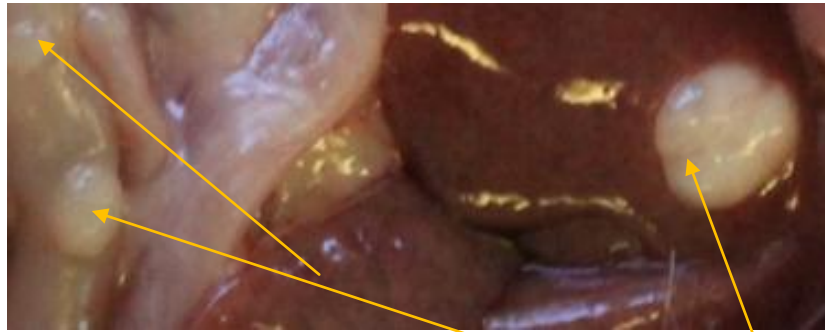


Рисунок 5 – Наложения на брыжейке и печени

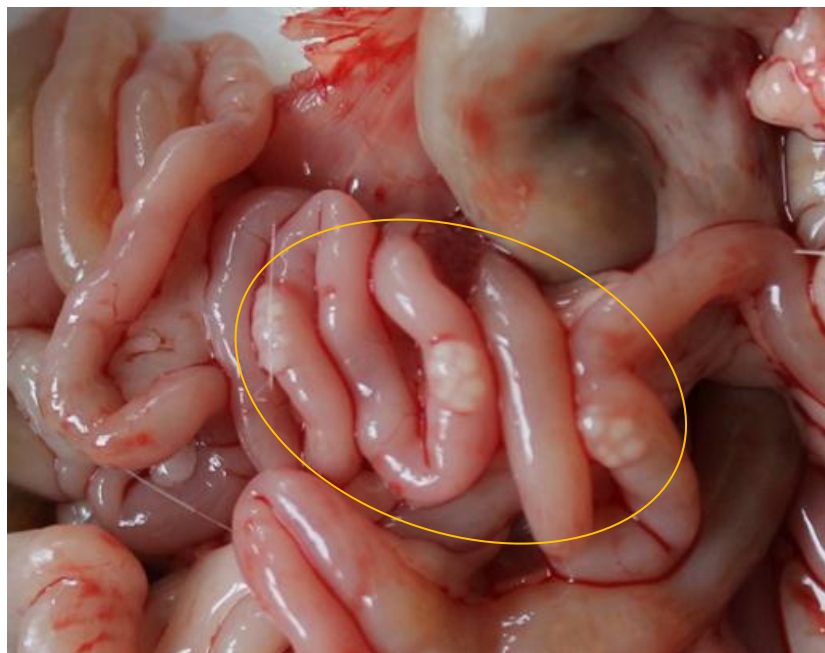


Рисунок 6 – Беловатые крупинчатые образования на кишечнике

Цитологические исследования показали наличие в мазках-отпечатках из селезенки крыс II и III групп присутствие не характерных для ткани животных I группы клеточных элементов, свидетельствующих о наличии гиперплазии, аденокарциномы, мастоцитомы и фибросаркомы селезенки (Рисунок 7).

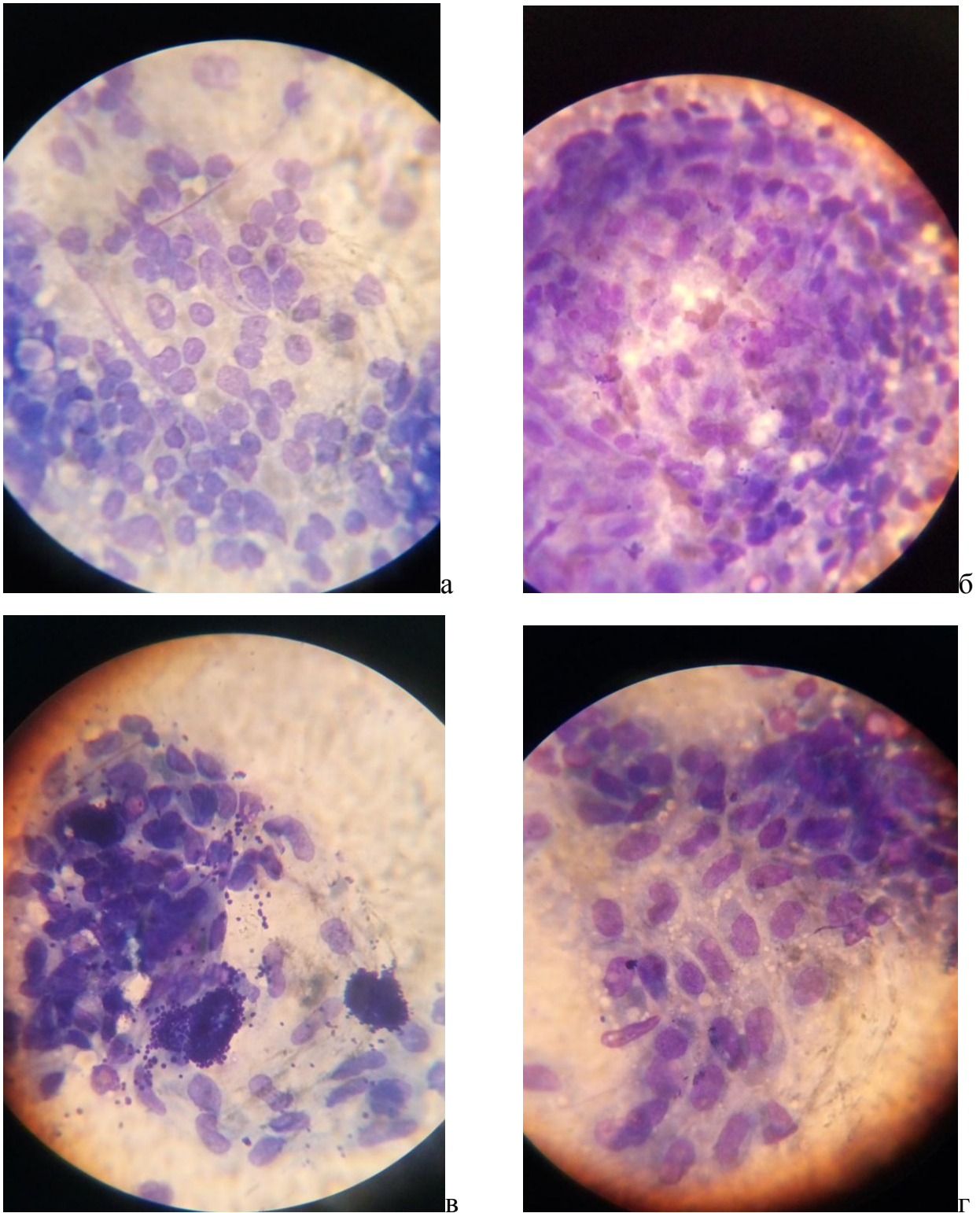


Рисунок 7 – Гиперплазия (а), аденокарцинома (б), мастоцитома (в) и фибросаркома (г) селезенки (x1600, Лейкодиф 200)

При гиперплазии селезенки (Рисунок 7а) в цитограмме на фоне базофильного межклеточного вещества, эозинофилов и клеток воспаления (нейтрофилов), обнаруживали зрелые лимфоциты, лимфобласты,

центробласты, центроциты, а также плазматические клетки, мастоциты и гистиоциты. Клеток опухолевого роста в исследуемом материале обнаружено не обнаружено. Зрелые лимфоциты имели вид мелких клеток округлой формы со скудной, базофильной цитоплазмой, содержащей округлые ядра без ядрышек с ровной, неутолщенной ядерной оболочкой и грубым, глыбчатым, темnobазофильным хроматином. Лимфобласты и центробласты (малые и крупные клетки с нерасщепленными ядрами) имели вид мелких и крупных лимфоцитов округлой формы со скудной, базофильной цитоплазмой, содержащей округлые ядра с ровным контуром и мелкими ядрышками, мелкозернистым, равномерно распределенным хроматином. Центроциты встречались в виде крупных и мелких округлых клеток со слабобазофильной цитоплазмой, ядрами овальной и округлой формы, с вдавлениями и мелкими ядрышками, с расщепленной, неутолщенной ядерной оболочкой и грубым хроматином. Плазматические клетки имели вид крупных и средних клеток с умеренной, базофильной цитоплазмой и перинуклеарной зоной просветления, содержащих округлые, эксцентрично расположенные ядра с мелкозернистым, неравномерно распределенным хроматином. Мастоциты встречались в виде крупных и мелких клеток округлой формы, содержащих азурофильные цитоплазматические гранулы. Гистиоциты имели вид крупных и средних клеток полигональной формы с обильной базофильной цитоплазмой, содержащей фагоцитированные фрагменты ядер, а также эксцентрично расположенные овальные ядра с ровной, неутолщенной с ядерной оболочкой и равномерно распределенным, крупнозернистым, базофильным хроматином.

Аденокарцинома селезенки (Рисунок 7б) характеризовалась наличием в мазке, на фоне клеток воспаления атипичных клеток эпителиального происхождения с высоким ядерно-цитоплазматическим отношением. Крупные и средние, округлой и овальной формы клетки с умеренной, слабобазофильной, вакуолизированной цитоплазмой располагались скоплениями, имели эксцентрично расположенные крупные и мелкие ядра,

вытянутой и полигональной формы с неровной, утолщенной ядерной оболочкой и неравномерно распределенным, базофильным, мелкозернистым хроматином, содержали 1-2 увеличенных ядрышка.

При мастоцитоме (Рисунок 7в) в мазках-отпечатках на фоне клеток воспаления и множества эозинофилов обнаруживали атипичные клетки мезенхимального происхождения с высоким ядерно-цитоплазматическим отношением. Крупные и средние, округлой и полигональной формы клетки со скудной цитоплазмой, содержащей азурофильные цитоплазматические гранулы, располагались разрозненно, имели расположенные эксцентрично ядра округлой формы с мелкозернистым, неравномерно распределенным, базофильным хроматином.

Фибросаркома селезенки (Рисунок 7г) также характеризовалась наличием в мазках-отпечатках атипичных клеток мезенхимального происхождения с высоким ядерно-цитоплазматическим отношением. Крупные и средние, полигональной и вытянутой формы клетки с обильной, базофильной, вакуолизированной цитоплазмой располагались скоплениями и содержали 1-2 ядра среднего или крупного размера, вытянутой формы с неровной, утолщенной ядерной оболочкой, 2-3 увеличенными ядрышками и неравномерно распределенным, темnobазофильным, мелкозернистым хроматином.

Полученные нами данные находят подтверждение в работах отечественных и зарубежных исследователей. Так, по данным Д.С. Соколова (2004) в печени при лейкозе часто обнаруживают локализованные на поверхности и в глубоких слоях органа саловидные очаги серо-белого цвета, [70, 78], а Т.П. Кудрявцева (1980) сообщает, что при лейкозе крупного рогатого скота регистрируют локальные или диффузные опухолевые изменения в тонком и реже толстом кишечнике [35]. Цитологическими исследованиями были выявлены изменения морфологии клеток лимфоцитарного ряда, нарушение соотношения в них ядра и цитоплазмы, большое количество незрелых, пролиферирующих и атипичных клеток,

располагающихся диффузно или скоплениями, в первую очередь, в тканях иммунокомпетентных органов, таких как селезенка [6, 117].

***Динамика относительной массы висцеральных органов
экспериментальных животных***

Первое вскрытие животных (n=6) было осуществлено спустя 3 месяца от начала эксперимента и три последующих проводились через каждые 3 месяца. Достоверные различия были отмечены нами в динамике изменения относительной массы внутренних органов животных. Полученные данные приведены в таблицах 12-14 и на рисунках 7-11.

Таблица 12 – Динамика относительной массы печени и селезенки крыс (%)

Орган Группа	Печень				Селезёнка			
	3 месяца спустя	6 месяцев спустя	9 месяцев спустя	12 месяцев спустя	3 месяца спустя	6 месяцев спустя	9 месяцев спустя	12 месяцев спустя
I а	3,62±0,28	3,06±0,26	3,09±0,24	2,82±0,21	0,36±0,03	0,42±0,04	0,51±0,05	0,48±0,04
I б	4,11±0,34	3,84±0,31	4,31±0,38	3,73±0,29	0,38±0,03	0,32±0,03	0,40±0,04	0,36±0,03
II а	3,65±0,27	1,35±0,11*	2,01±0,19*	3,27±0,22*	0,46±0,04*	0,33±0,03*	0,21±0,02*	0,40±0,04*
II б	3,77±0,31	4,01±0,35	1,44±0,11*	3,46±0,32	0,52±0,05*	0,38±0,03*	0,18±0,01*	0,30±0,03*
III а	3,34±0,30	1,42±0,12*	1,48±0,13*	3,62±0,27*	0,44±0,04*	0,49±0,04*	0,18±0,01*	0,16±0,01*
III б	-	1,61±0,13*	1,66±0,14*	2,88±0,23*	-	0,39±0,03*	0,21±0,02*	0,17±0,01*

Примечание – * - достоверные отличия от контрольной группы (I), $p < 0,05$.

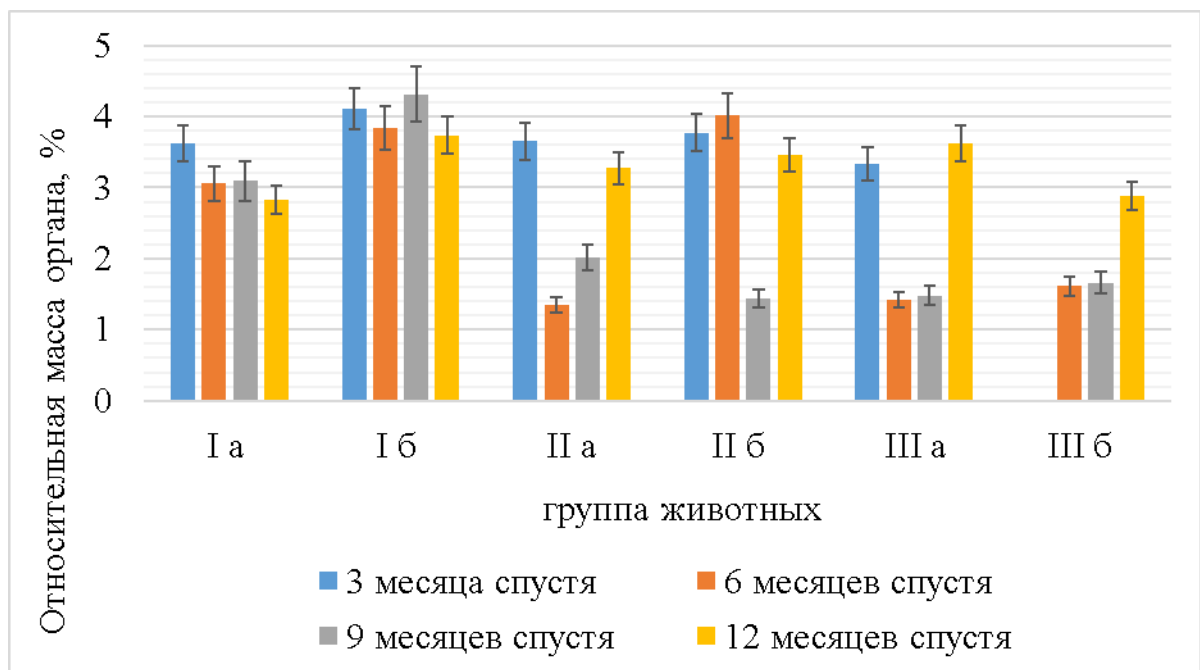


Рисунок 8 – Динамика относительной массы печени животных

Динамика изменения относительной массы печени экспериментальных животных (Таблица 12 и Рисунок 8) характеризовалась вначале снижением относительной массы органа, что, вероятно, было связано с резким увеличением массы тела крыс. А затем значительным увеличением показателя, особенно в III группе животных, что может быть связано, как с развитием кахексии у животных, так и с воспалительными процессами и интоксикацией.

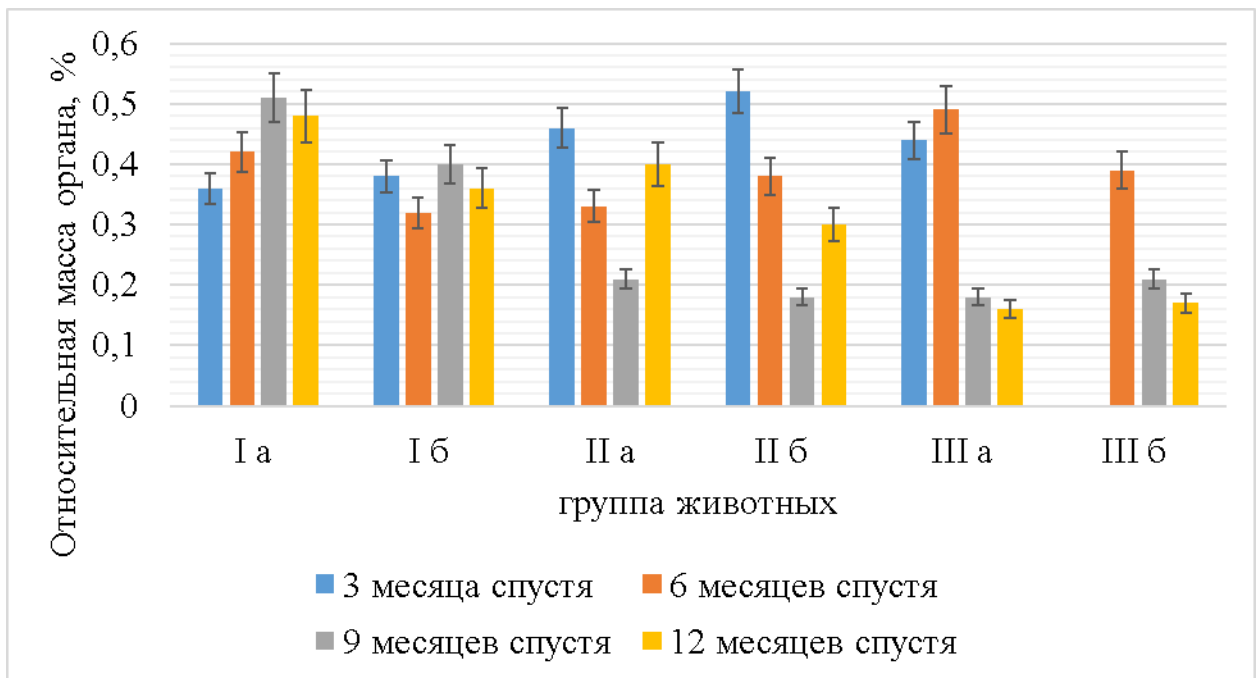


Рисунок 9 – Динамика относительной массы селезенки животных

Динамика изменения относительной массы селезенки животных (Таблица 12 и Рисунок 9) имела тенденцию первоначального снижения этого показателя у крыс II группы на фоне роста общей массы тела, а затем увеличения органа к концу эксперимента, обусловленную, возможно, воспалительными и пролиферативными процессами в селезенке и снижением приростов массы тела животных. У крыс III группы была отмечена тенденция снижения объема органа, вероятно, связанная с атрофическими процессами.

Таблица 13 – Динамика относительной массы почек и легких крыс (%)

Орган Группа	почки				легкие			
	3 месяца спустя	6 месяцев спустя	9 месяцев спустя	12 месяцев спустя	3 месяца спустя	6 месяцев спустя	9 месяцев спустя	12 месяцев спустя
I а	0,71±0,06	0,56±0,05	0,58±0,05	0,62±0,06	0,72±0,06	0,65±0,06	0,63±0,06	0,62±0,06
I б	0,70±0,07	0,54±0,05	0,56±0,05	0,60±0,05	0,54±0,05	0,48±0,04	0,49±0,05	0,51±0,05
II а	0,72±0,07	0,46±0,04*	0,69±0,06*	0,83±0,08*	0,68±0,06	0,39±0,04*	0,52±0,05*	0,69±0,07*
II б	0,72±0,07	0,71±0,07*	0,39±0,04*	0,73±0,07*	0,55±0,05	0,52±0,05	0,59±0,06	0,68±0,07*
III а	0,77±0,07	0,44±0,04*	0,31±0,03*	0,39±0,03*	0,71±0,06	0,45±0,04*	0,49±0,05*	1,71±0,19*
III б	-	0,41±0,04*	0,47±0,04*	0,69±0,06*	-	0,53±0,05	0,58±0,06	0,69±0,7*

Примечание – * - достоверные отличия от контрольной группы (I), $p < 0,05$.

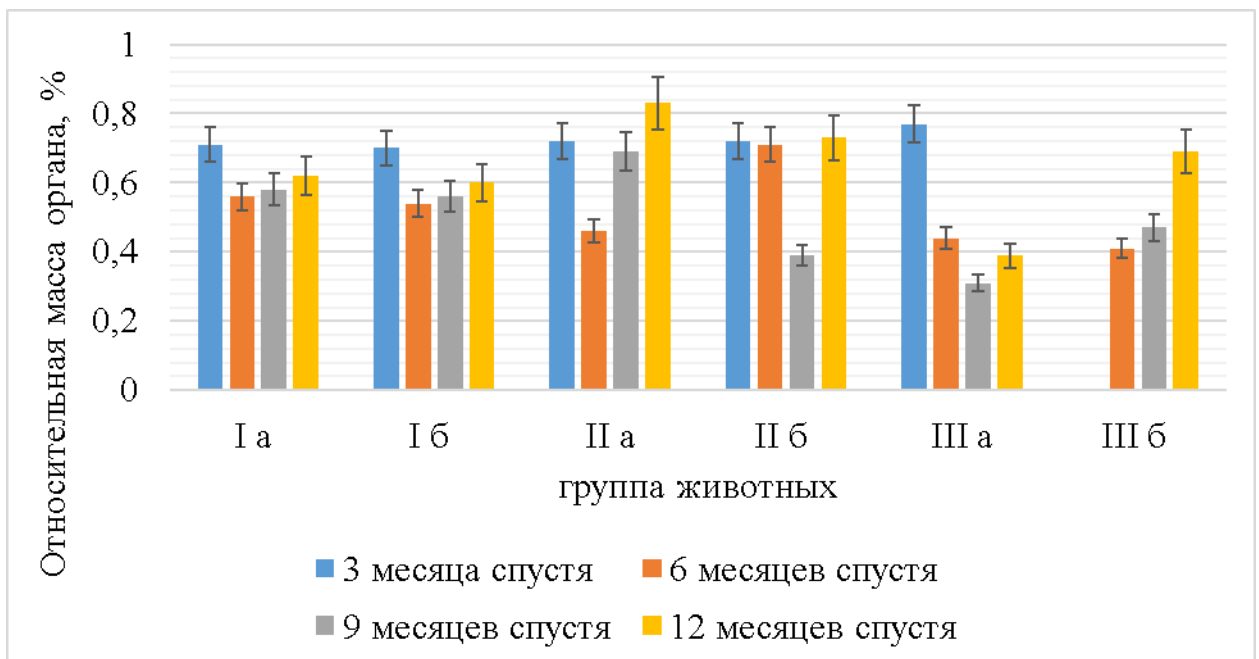


Рисунок 10 – Динамика относительной массы почек животных

Динамика изменения относительной массы почек (Таблица 13, Рисунок 10) животных характеризовалась сначала снижением, по-видимому, на фоне прироста массы тела животных, а затем увеличением объема органа во всех экспериментальных группах, что может быть связано с гипертрофией почек в результате интоксикации либо развитием пролиферативных процессов. За исключением животных группы IIIб, у которых не происходило первоначального прироста массы тела, и относительная масса почек увеличивалась постоянно.

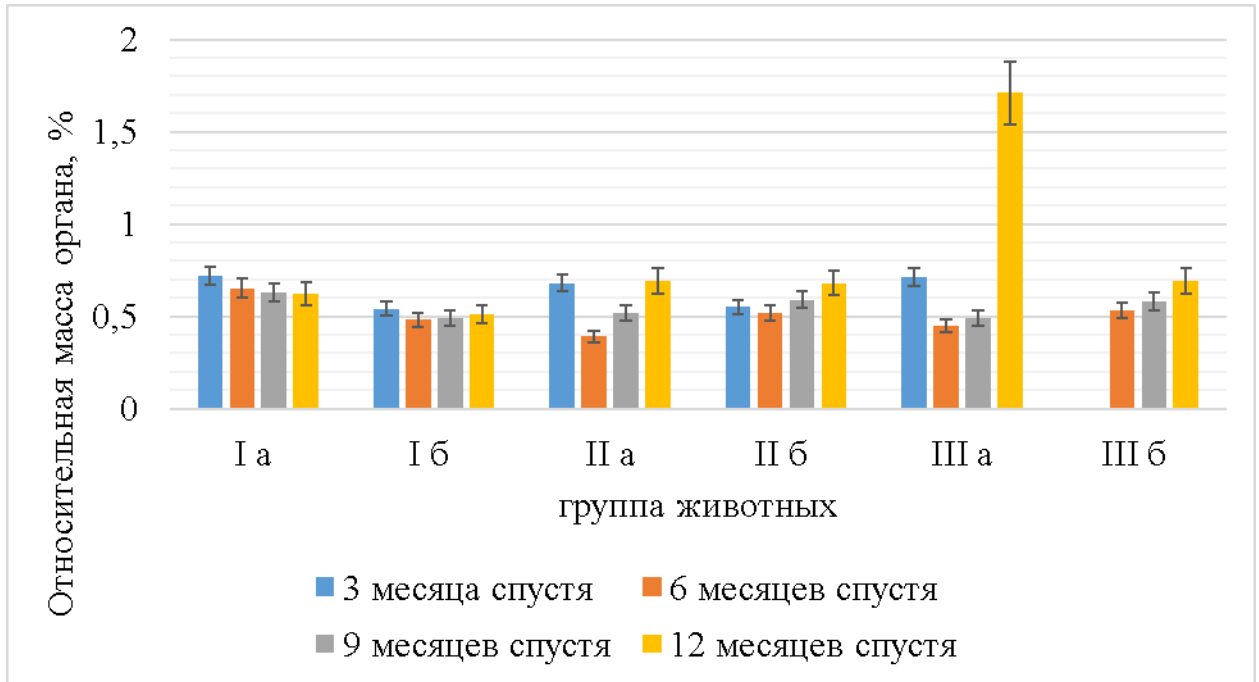


Рисунок 11 – Динамика относительной массы легких животных

Как следует из данных, приведенных в таблице 13 и проиллюстрировано на рисунке 11, относительная масса легких у крыс III группы резко возрастала. Это было обусловлено развитием у большинства из них одно- и двусторонней крупозной и гнойной пневмонии. В мазках-отпечатках из легких крыс с гнойной пневмонией были обнаружены стрептококки, что свидетельствует о развитии эпизоотии в данной группе животных. Это может быть связано с *BLV*-индуцированной иммуносупрессией у крыс. По данным научно-исследовательского коллектива М.И. Гулюкина пневмонии часто сопровождают экспериментальную *BLV*-инфекцию у кроликов [24], что подтверждает полученные нами данные. Незначительное увеличение объема органа относительно контроля было отмечено у крыс IIб группы, хотя визуально воспалительных процессов выявлено не было.

Таблица 14 – Динамика изменения относительной массы сердца крыс (%)

Орган Группа	Сердце			
	1 вскрытие	2 вскрытие	3 вскрытие	4 вскрытие
I а	0,64±0,06	0,58±0,05	0,61±0,06	0,59±0,06
I б	0,61±0,06	0,54±0,05	0,49±0,05	0,52±0,05
II а	0,52±0,05*	0,27±0,02*	0,29±0,03*	0,30±0,03*
II б	0,67±0,06	0,33±0,3*	0,28±0,03*	0,31±0,03*
III а	0,54±0,05*	0,26±0,02*	0,28±0,02*	0,31±0,02*
III б	-	0,29±0,03*	0,31±0,03*	0,30±0,03*

Примечание – * - достоверные отличия от контрольной группы (I), $p < 0,05$.

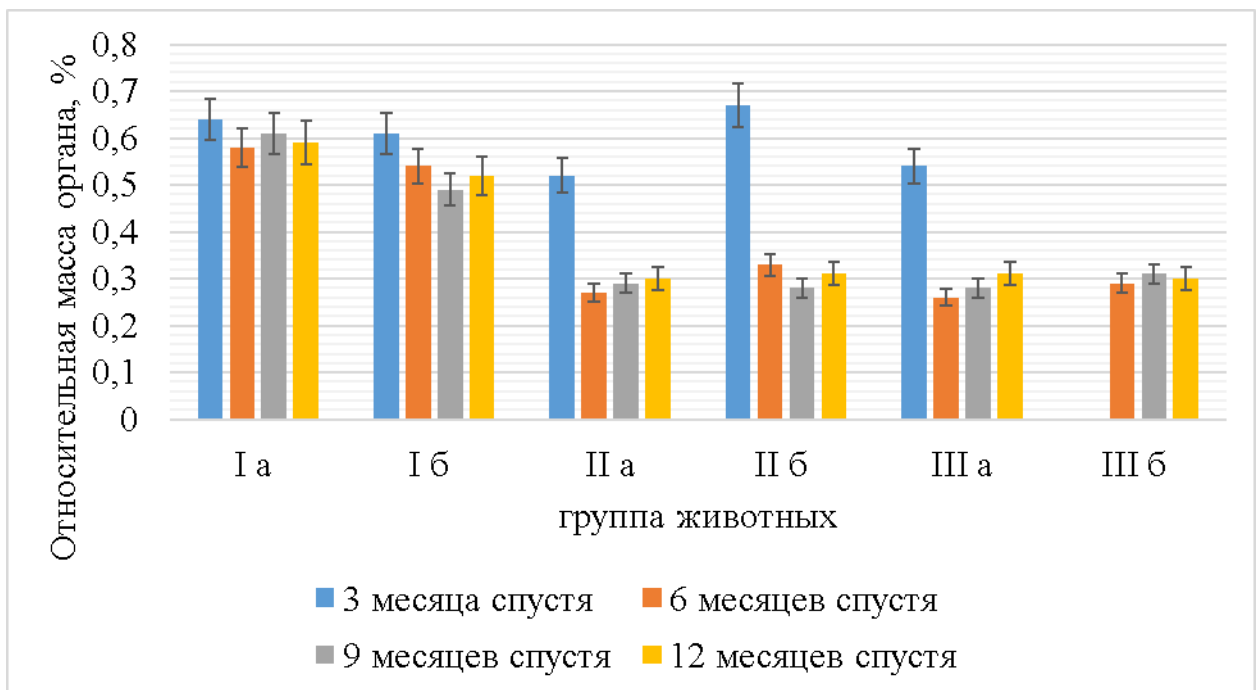


Рисунок 12 – Динамика относительной массы сердца животных

Динамика изменения относительной массы сердца животных в опытных группах (Таблица 14, Рисунок 12) характеризовалась снижением объема органа в 2,5-3 раза по сравнению с контролем, несмотря на развитие кахексии к концу эксперимента. Это может быть связано с развитием дистрофических и атрофических процессов в органе на фоне нарушения обменных процессов.

Полученные нами данные находят подтверждение в результатах исследований многих авторов, констатирующих, что при *BLV*-инфекции нарушения выявляются не только в органах гемопоэтической системы, но и в

других жизненно важных органах у животных. В результате воспалительных, пролиферативных, дистрофических и атрофических процессов изменяется относительная масса органа [35, 37, 70]. При этом, очень часто выраженные изменения обнаруживают в селезенке [46, 77], печени [76], почках [78] и сердце [46, 70].

Данные по использованию кролика в качестве лабораторной модели при воспроизведении *BLV*-инфекции Козыревой и соавт. свидетельствуют, что из паренхиматозных органов экспериментальных животных (селезенка, легкое, почка) были получены культуры клеток, в которых на нескольких пассажах наблюдалось синцитиеобразование и был выявлен провирус *BLV* [24].

В своих исследованиях Р. Dimitrov с соавт показали, что пневмония является частым эффектом при *BLV*-инфекции у кроликов [120], а А. Burny с соавт. [110] сообщают, что ВЛКРС вызывает множественные эффекты у разных видов животных.

2.2.3. Разработка способа коррекции клинического состояния у молодняка при *BLV*-инфекции матерей

Сравнительный анализ данных гемато-биохимического статуса телят и крыс от *BLV*-инфицированных матерей

Сравнительный анализ данных гемато-биохимического статуса телят и потомства крыс показал, что у полученного от *BLV*-инфицированных матерей молодняка, патологии развиваются по единому принципу (Таблица 15).

Таблица 15 – Гемато-биохимический статус телят и потомства крыс при *BLV*-инфекции матерей

Показатель	Телята		Потомство крыс	
	Данные	Реф.знач.	Данные	Реф.знач.
Морфология крови				
RBC, 10 ¹² /L	4,2±0,7	5-10	5,9±0,5	7,8-8,1
HGB, g/l	124,5±11,5	80-150	119,7±11,4	121-125
WBC, 10 ⁹ /L	27,1±4,0	4-10	14,6±1,3	6,0-6,5
LYM, %	65,5±16,5	45-65	57,6±5,6	45-57
PLT, 10 ⁹ /L	425,0±38,0	100-400	514,0±49,2	243-505
Биохимические показатели				
ЩФ, Е/л	1143,0±96,0	18-153	579,5±55,3	327-332
Креатинин, мкмо/л	243,6±32,6	56-162	52,5±5,1	37-43
Глюкоза, ммоль/л	2,0±0,2	2,3-4,1	2,7±0,3	4,2-4,4
Общий белок, г/л	39,4±8,9	62-82	60,1±5,8	68-84
Билир.общ, мкмо/л	4,0±0,1	0,7-1,4	3,1±0,3	0,9-1,0

Примечание – * - достоверные отличия показателей в динамике, $p < 0,05$.

Как следует из данных таблицы 15, эритропения и сниженный гемоглобин крови являются маркерами анемии, а в сочетании с лейкоцитозом являются признаками интоксикации и воспаления. Отмечается лейкомоидная реакция и тромбоцитоз, что может быть следствием анемии у животных. Увеличение креатинина на фоне снижения общего белка является показателем преобладания катаболических процессов над анаболическими. Рост билирубина и активности ЩФ свидетельствует о повреждении печени, а снижение глюкозы – об интоксикации.

Результаты наших исследований коррелируют с литературными данными и свидетельствуют, что при *BLV*-инфекции патологические процессы наиболее прогрессируют и ярко выражены у потомства больных и инфицированных лейкозом животных:

- клинически со временем развивается кахексия;
- в крови прогрессируют лейкоцитоз и тромбоцитоз, признаки анемии, воспаления и аллергии в крови;
- биохимические исследования выявляют маркеры воспаления, поражения печени, сердца, почечной недостаточности и гормональных нарушений;

- на вскрытии обнаруживаются гиперпластические и воспалительные явления, а при цитологических исследованиях – злокачественные процессы в селезенке.

При этом обнаруживается определенная цикличность в гемато-биохимических показателях у *BLV*-инфицированных крыс, подобно процессам, протекающим в организме *BLV*-инфицированных коров [74]. Таким образом, крысы являются адекватной биологической моделью при изучении лейкоза крупного рогатого скота, так как в развитии лейкозного процесса у крыс и крупного рогатого скота прослеживается много параллелей.

Так как у потомства, полученного от инфицированных вирусом лейкоза матерей, патологические изменения выражены в значительной степени, их клинический статус требует коррекции в зависимости от проявляющейся патологии. Известно, что у телят неонатального возраста, полученных от *BLV*-инфицированных коров в большинстве случаев проявляются признаки диспепсии (метеоризм, кишечные колики, диарея). Поставленная перед нами задача заключалась в создании лекарственной композиции и разработке способа ее применения для профилактики и терапии диспепсии у новорожденных телят, полученных от инфицированных лейкозом коров.

Эффективность применения разработанной композиции для профилактики и терапии диспепсических проявлений у телят от *BLV*-инфицированных коров

Наши многолетние наблюдения показали, что у телят неонатального возраста, полученных от *BLV*-инфицированных коров в большинстве случаев, если не предпринимать превентивных мер, не зависимо от породы, проявляются признаки диспепсии (метеоризм, кишечные колики, диарея). Разные исследователи предлагают различные подходы по коррекции или предотвращению диспепсических состояний у телят, в том числе применение химиотерапевтических препаратов [5], фитопрепаратов [41], пробиотиков [7],

сложных композиций [18]. Поставленная перед нами задача заключалась в создании лекарственной композиции и разработке способа ее применения для профилактики и терапии диспепсических состояний у новорожденных телят, полученных от инфицированных и больных энзоотическим лейкозом коров. Разработанная нами композиция должна быть не дорогим и доступным в отношении состава лекарственным средством, отличающимся синергическим действием ее компонентов.

Разработанная нами композиция включает:

- препарат АСД-2 фракция (1 мл) – метаболическое средство, иммуномодулятор, антисептик, обладает противовоспалительными свойствами;

- 4%-ный раствор гентамицина сульфата (5 мл) – антибиотик, эффективен в отношении многих условно-патогенных микроорганизмов, не абсорбируется в желудочно-кишечном тракте;

- порошок фуразолидона (0,1 г) - противомикробное средство местного воздействия, обладает противопаразитарным эффектом;

- 0,9% изотонический раствор натрия хлорида (до 100 мл) – обладает дезинтоксикационными и регидратирующими свойствами.

Исследования по применению разрабатываемой нами композиции для лечения животных проводились на 1531 голове новорожденных телят голштинской породы из неблагополучного по лейкозу колхоза «Заря» Тамалинского района Пензенской области в количестве. У телят, рожденных от инфицированных и больных лейкозом коров, отмечали диспепсические состояния, проявляющиеся метеоризмом кишечника и ярко выраженным болевым синдромом (коликами). Для лечения 1310 телятам выпаивали разработанную нами лекарственную композицию натошак два раза в день, утром и вечером. В качестве контроля другой группе (221 голова) для лечения использовали энрофлон - антибиотик широкого спектра действия согласно инструкции. Результаты исследования эффективности

разработанного способа для лечения диспепсических состояний у новорожденных телят представлены в таблице 16.

Таблица 16 – Эффективность лечения диспепсических состояний телят

Группа	Общее поголовье больных	Исход лечения					
		3дн. выздоровления		5дн. выздоровления		Летальный исход	
		голов	%	голов	%	голов	%
2009 год							
Опыт	302	262	86,75	40	13,25	-	-
Контроль	70	42	60,00	24	34,29	4	5,71
2010 год							
Опыт	330	274	83,03	56	16,97	-	-
Контроль	70	37	52,86	30	42,86	3	4,28
2011 год							
Опыт	362	320	88,40	42	11,60	-	-
Контроль	45	24	53,33	20	44,45	1	2,22
2012 год							
Опыт	316	292	92,41	24	7,59	-	-
Контроль	36	28	77,78	6	16,67	2	5,55
Всего (в среднем)							
Опыт	1310	1148	87,63	162	12,37	-	-
Контроль	221	131	59,28	80	36,20	10	4,52

Как следует из данных, представленных в таблице 16, в результате применения разработанной лекарственной композиции в среднем у 87,63 % телят экспериментальных групп диспепсические проявления прекратились на 3 день лечения, у 12,37 % – на 5 день. У телят контрольных групп в 59,28 % случаев в среднем отмечалось выздоровление на 3-й день, 36,20 % телят выздоровели на 5-й день. Следовательно, применение разработанной нами композиции для лечения диспепсических состояний у новорожденных телят, позволило сократить сроки терапии для 28,35 % животных до 3-х дней. При этом сохранность поголовья повысилась до 100 %, в то время как в контрольных группах, при лечении только антибиотиком, летальность составила в среднем 4,25 %.

Полученные нами данные коррелируют с результатами ряда исследователей. Так по данным А.Е. Мосолкова, диспепсические явления могут привести к потере 5 % поголовья молодняка неонатального возраста [50], а, по мнению Р.О. Васильева и Т.А. Трошиной комплексный подход к

лечению диспепсии у телят в возрасте 3-5 дней приводит к выздоровлению 100 % заболевших животных [5].

Молодняк, полученный от больных и инфицированных лейкозом коров, относится к группе риска не только в отношении заболеваемости и сохранности, кроме того у таких телят снижаются приросты массы тела. В таблице 17 приведены сравнительные данные по динамике прироста массы тела телят в эксперименте по применению разработанной композиции для лечения диспепсии молодняка.

Таблица 17 – Прирост массы тела телят в динамике лечения

Группа животных	Прирост массы тела, кг			
	1 сутки	10 сутки	20 сутки	30 сутки
Телята от интактных коров	37,2±1,2	43,5±1,4	50,9±1,6	58,8±1,7
Телята от <i>BLV</i> -инфицированных коров (испытуемый препарат)	35,1±0,9	41,3±1,1	47,8±1,3	54,9±1,4
Телята от <i>BLV</i> -инфицированных коров (энрофлон)	34,6±0,8	37,8±0,9*	43,3±1,2*	50,4±1,3*

Примечание – * - достоверные отличия от контрольной группы, $p < 0,05$.

Как следует из данных таблицы 17, телята, полученные от *BLV*-инфицированных коров, рождались с массой тела на 6-7 % меньше, чем телята от интактных коров. Лечение только энрофлоном привело к замедлению прироста массы тела телят более чем на 14 %, по сравнению с телятами от интактных к лейкозу коров. В то время как комплексный подход к терапии с применением разработанной нами композиции способствовал сохранению среднесуточных приростов массы тела, что наглядно иллюстрирует Рисунок 13.

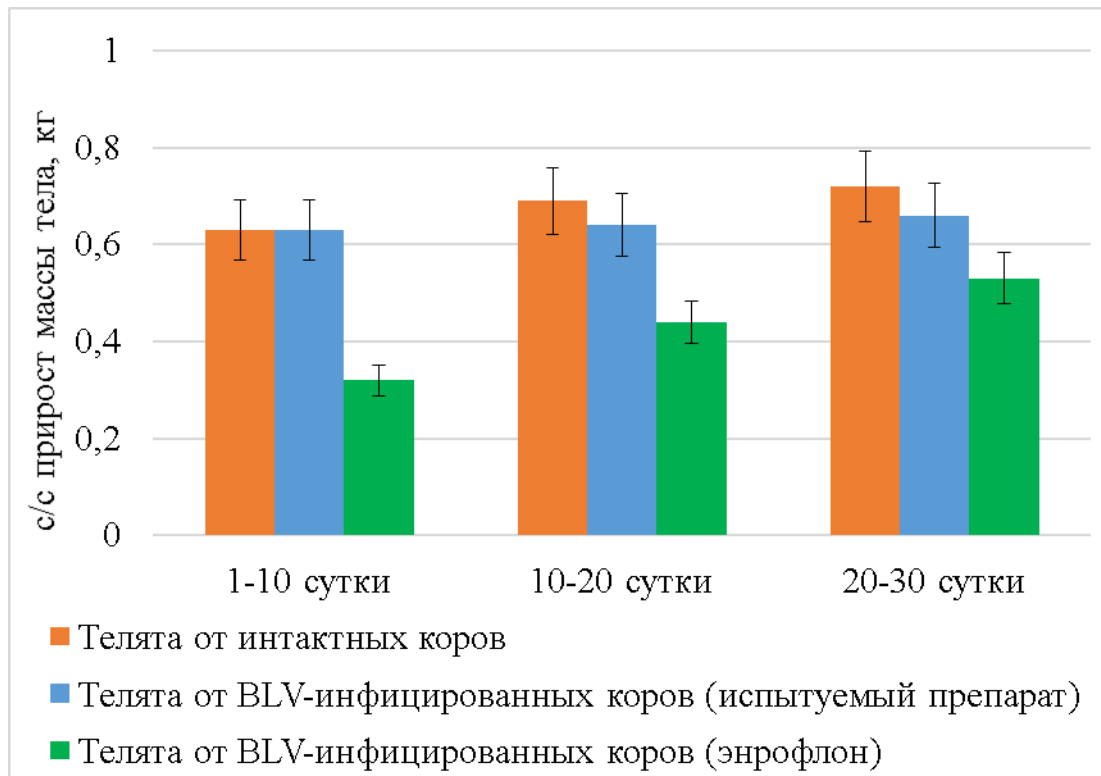


Рисунок 13 – Среднесуточный прирост массы тела телят в динамике лечения

Как показано на рисунке 13, применение разработанной нами композиции способствует сохранению среднесуточных приростов массы тела телят, полученных от инфицированных лейкозом коров, на уровне 630-660 г. В то время как при лечении антибиотиком, среднесуточные приросты массы тела телят в этот период времени были на уровне 300-500 г. Полученные нами данные находят подтверждение в результатах других исследователей. По данным Г.А. Бурменской с соавт. при своевременной комплексной терапии диспепсии телят удается поддерживать среднесуточные приросты массы тела у животных до 520-670 грамм [3]. Результаты А.А. Эленшлегер и Е.О. Политовой свидетельствуют, что при отсутствии адекватной терапии, приросты массы тела молодняка, страдающего диспепсией, не превышают 0,3-0,5 кг/сутки, что связывают с превалированием катаболических процессов над анаболическими [85].

Для обоснования полученных данных нами были проведены исследования крови телят, результаты которых приведены в таблицах 18 и

19. Полученные показатели по крови телят сравнивали со справочными данными [45].

Таблица 18 – Динамика показателей общего анализа крови телят при лечении диспепсии разработанным способом

Показатель	Возраст телят		
	1 сутки	12 сутки	Реф.знач.
RBC, $10^{12}/L$	4,1±0,2	7,8±0,5	5-8
HGB, g/l	124,5±11,5	105,0 ±2,0	80-120
MCHC, g/l	346,0±11,0	359,0±9,0	300-350
RDWc, %	17,8±0,2	18,9±1,6	x
MCV, fl	50,4±0,9	47,5±3,5	40-50
WBC, $10^9/L$	27,1±4,0	23,8±2,3*	4-10
LYM, %	65,5±16,5	57,6±5,6*	45-65
MON, %	2,9±0,2	4,0±0,4*	2-7
GRA, %	31,6±16,7	38,4±3,3*	16-75
PLT, $10^9/L$	425,0±38,0	293,0±38,0*	100-400
MPV, fL	5,1±0,1	6,5±0,3*	x

Примечание – * - достоверные отличия показателей в динамике, $p < 0,05$.

Результаты ОАК телят, полученных от *BLV* положительных коров (Таблица 18), показывают, что при клинических проявлениях диспепсии у новорожденных телят в крови отмечается выраженный лейкоцитоз, признаки которого, при наличии терапии, несколько снижаются на 12-й день жизни. При этом относительное содержание лимфоцитов, макрофагов и гранулоцитов остается в пределах нормы. В своих исследованиях Р.О. Васильев и Т.А. Трошина [5] также отмечают лейкоцитоз у телят с клиническими проявлениями диспепсии и констатируют снижение количества лейкоцитов в динамике лечения, что коррелирует с полученными нами данными. Как следует из данных таблицы 18, морфологическая картина крови телят в первый день жизни характеризуется высоким содержанием всех форменных элементов в единице объема крови, что может являться следствием дегидратации организма в результате развития диареи.

Таблица 19 – Динамика биохимических показателей крови телят при лечении диспепсии разработанным способом

Показатель	Возраст телят		
	1 сутки	12 сутки	Реф.знач.
ЩФ, Е/л	1143,0±96,0	710,1±321,9*	18-153
Мочевина, ммоль/л	4,0±0,4	4,5±0,5*	3,3-5,0
Креатинин, мкмоль/л	243,6±32,6	143,6±5,1*	56-162
Глюкоза, ммоль/л	2,0±1,1	2,4±1,6*	2,3-4,1
Общий белок, г/л	39,4±8,9	47,8±2,3*	62-82
Альбумин, г/л	18,9±1,3	22,6±8,1*	28-39
Глобулин, г/л	20,5±1,9	25,2±2,6*	34-43
АСТ, Е/л	40,3±3,0	43,4±4,8	45-110
АЛТ, Е/л	18,9±1,2	20,6±3,7	6,9-35
Коэф. Ритиса	2,1	2,1	1-2
Билирубин общ, мкмоль/л	4,0±0,1	3,6±1,1*	0,7-14
Билирубин прямой, мкмоль/л	1,9±0,4	1,6±0,3*	0-5,1
Са, ммоль/л	2,2±0,1	2,5±0,3	2,1-2,8
Р, ммоль/л	1,4±0,1	1,3±0,1*	1,4-2,5
Са/Р	1,6	1,9*	2/1
Мg, ммоль/л	1,3±0,1	1,1±0,1*	0,7-1,2

Примечание – * - достоверные отличия показателей в динамике, $p < 0,05$.

Данные, представленные в таблице 19, свидетельствуют, что многие биохимические показатели крови телят достоверно изменились в динамике лечения. Некоторые показатели, такие как уровень ЩФ, содержание мочевой кислоты и креатинина варьировали в широких пределах, что может быть связано с различным уровнем дегидратации. Содержание глюкозы в сыворотке крови телят в первые сутки было несколько снижено. А.Ф. Исмагилова и Чудов И.В. также отмечают снижение уровня глюкозы в крови больных диспепсией телят и объясняют это явление нарушением процесса перекисного окисления липидов, что приводит к накоплению недоокисленных продуктов обмена. Нарушение в кислотно-щелочном балансе может провоцировать перераспределение ионов Mg из клеток в межклеточную жидкость, что приводит к увеличению содержания его в крови. А.Ф. Исмагилова и Чудов И.В. также, отмечают изменение соотношения электролитов крови, в частности снижение уровня кальция и неорганического фосфора, как результат нарушения абсорбции в кишечнике при развитии синдрома диспепсии, чем также объясняется уменьшение

содержания общего белка крови и его фракций [18]. Положительная динамика была нами отмечена в отношении креатинина, показатель которого к 12-му дню жизни телят пришел к физиологической норме. Содержание обеих фракций билирубина было в пределах физиологической нормы. Не имела выраженной динамики активность трансаминаз и их соотношение.

Исследования по эффективности разработанной нами композиции и способа ее применения для профилактики диспепсических состояний у телят проводились на 1938 новорожденных телятах симментальской породы 1 - 5 – дневного возраста из неблагополучного по лейкозу колхоза «Заря» Тамалинского района Пензенской области. Новорожденным телятам опытной группы (814 голов) с целью профилактики диспепсических состояний выпаивали разработанную лекарственную композицию за 30 минут до выпойки молозива, однократно. В качестве контроля другой группе телят (1124 голов), лекарственную композицию не давали. Результаты исследования по эффективности разработанного способа для профилактики диспепсических состояний у новорожденных телят отражены в таблице 20.

Таблица 20 – Эффективность профилактики диспепсических состояний телят

Группа	Общее исследуемое поголовье	Эффективность профилактики			
		Отсутствие признаков диспепсии		Признаки диспепсии	
		голов	%	голов	%
2013 год					
Опыт	236	227	96,19	9	3,81
Контроль	278	186	66,91	92	33,09
2014 год					
Опыт	184	172	93,48	12	6,52
Контроль	316	217	68,67	99	31,33
2015 год					
Опыт	202	186	92,08	16	7,92
Контроль	256	204	79,69	52	20,31
2016 год					
Опыт	192	166	86,46	26	13,54
Контроль	274	196	71,53	78	28,47
Всего					
Опыт	814	751	92,26	63	7,73
Контроль	1124	803	71,44	321	28,55

Как следует из данных таблицы 20, в результате применения лекарственной композиции в среднем у 92,26 % телят экспериментальных групп диспепсические явления отсутствовали после однократной выпойки разрабатываемой композиции, в среднем 7,73 % однократного применения композиции оказалось мало, и животных перевели в лечебную группу. При отсутствии применения композиции у 28,55 % телят на 1-2 день жизни отмечались признаки диспепсии. Следовательно, применение композиции с профилактической целью снижает вероятность развития диспепсических явлений у телят на 20,82 %.

При профилактике диспепсических явлений, в том числе и у телят, важным показателем является состояние микрофлоры желудочно-кишечного тракта. В качестве контроля использовали группу телят, где профилактика диспепсических проявлений в неонатальном возрасте не проводилась. Опытной группе телят выпаивали разработанную нами композицию однократно за полчаса до первой выпойки молозива. Исследование некоторых наиболее значимых показателей кишечной микрофлоры выполняли на 1, 3, 7 и 14 сутки жизни телят.

Данные результатов исследования микробиоценоза кишечника телят в динамике профилактики с использованием разработанной композиции и без какой-либо профилактики представлены на рисунках 14-20.

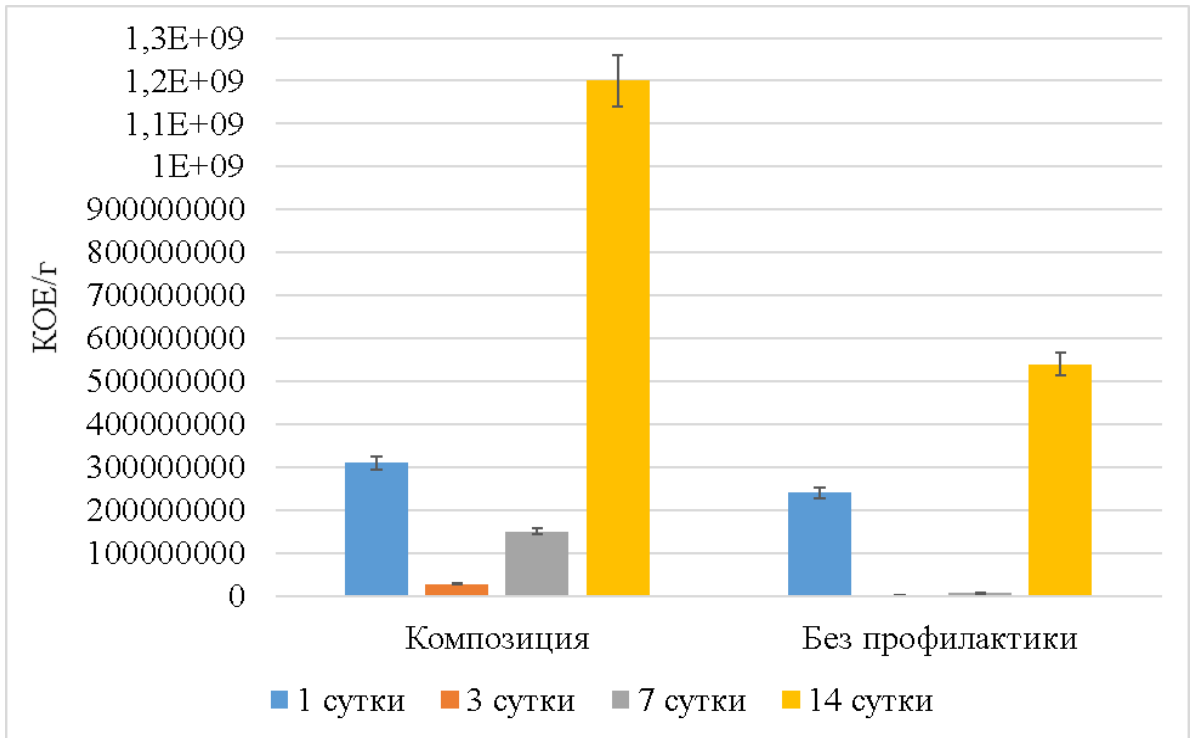


Рисунок 14 – Динамика бактерий рода *Lactobacillus*

Как иллюстрирует рисунок 14, через 14 дней после начала профилактики диспепсии телят, количество лактобацилл в содержимом кишечника постепенно увеличивалось. При отсутствии профилактики, отмечали дефицит лактобацилл, в то время как при использовании композиции количество лактобацилл было более, чем 2 раза выше.

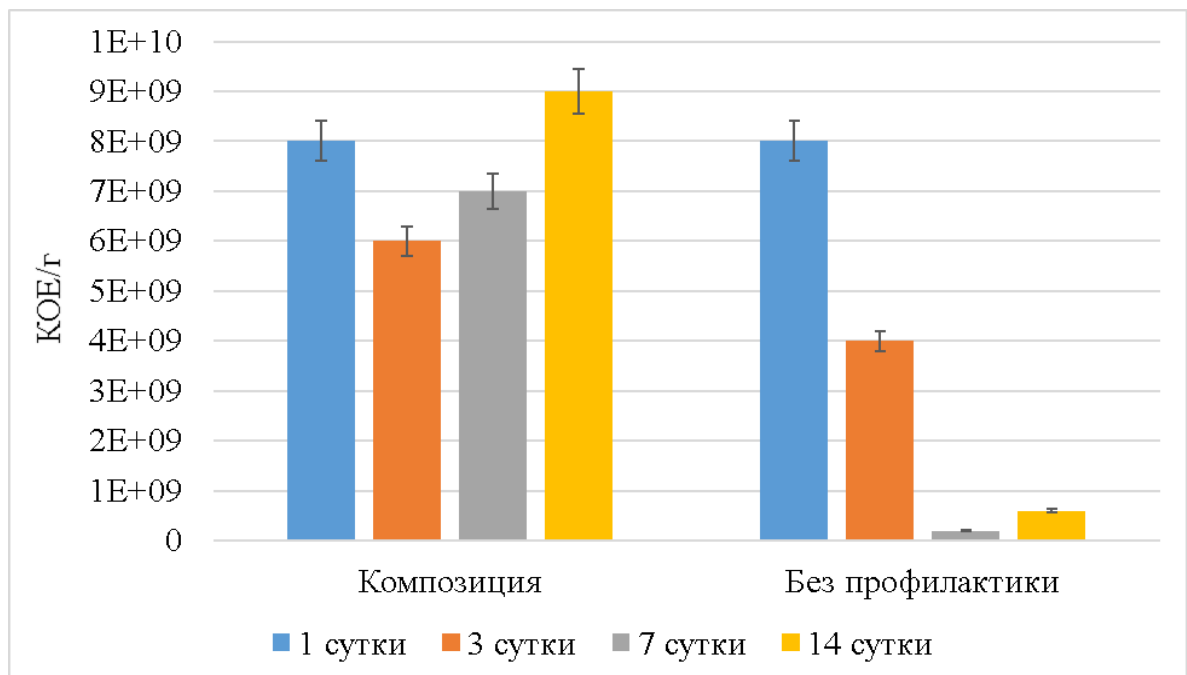


Рисунок 15 – Динамика бактерий рода *Bifidobacterium*

Как отражено на рисунке 15, профилактическая эффективность испытуемой композиции в отношении заселения кишечника телят бифидобактериями оказалась очень высокой. В то время, как без профилактики конкурентное действие других микроорганизмов вызывало вначале резкое снижение количества бифидобактерий и медленное восстановление их количества.

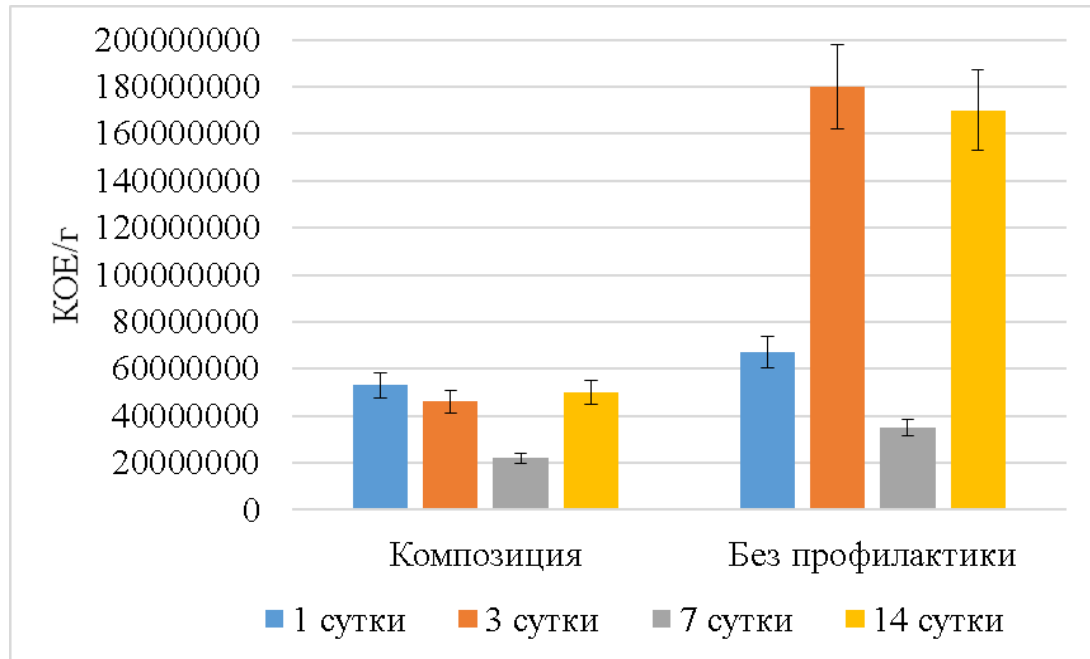


Рисунок 16 – Динамика бактерий рода *Enterococcus*

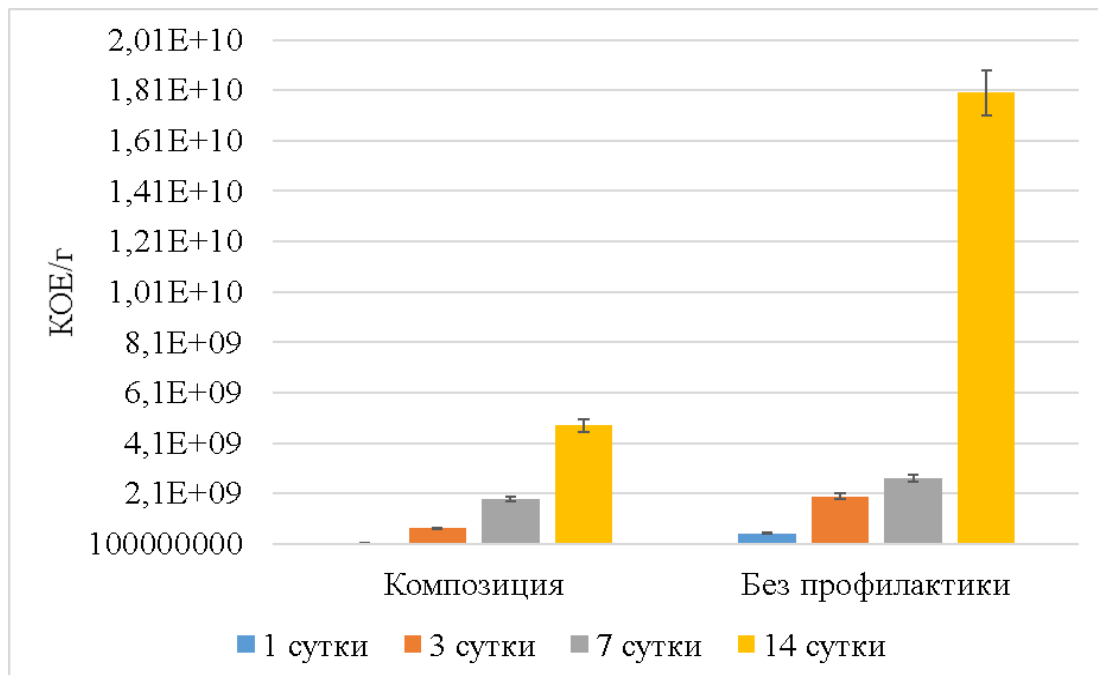


Рисунок 17 – Динамика бактерий вида *E.coli*

Энтерококки и кишечная палочка являются нормальными представителями желудочно-кишечного тракта животных. Однако их относят к группе условно-патогенных микроорганизмов. В норме их количество должно быть на уровне 10^5 - 10^6 КОЕ/г и 10^7 - 10^8 КОЕ/г соответственно. Результаты исследований, отраженные на рисунках 16 и 17, могут являться свидетельством увеличения количества условно-патогенных энтерококков и кишечной палочки на фоне снижения содержания молочнокислых микроорганизмов в контроле.

Результаты исследований, отраженные на рисунке 18, подтверждают ранее полученные нами данные о прогрессировании условно-патогенной кишечной микрофлоры, в частности стафилококков, у телят, полученных от иммунокомпрометированных коров, без профилактики разработанным нами способом.

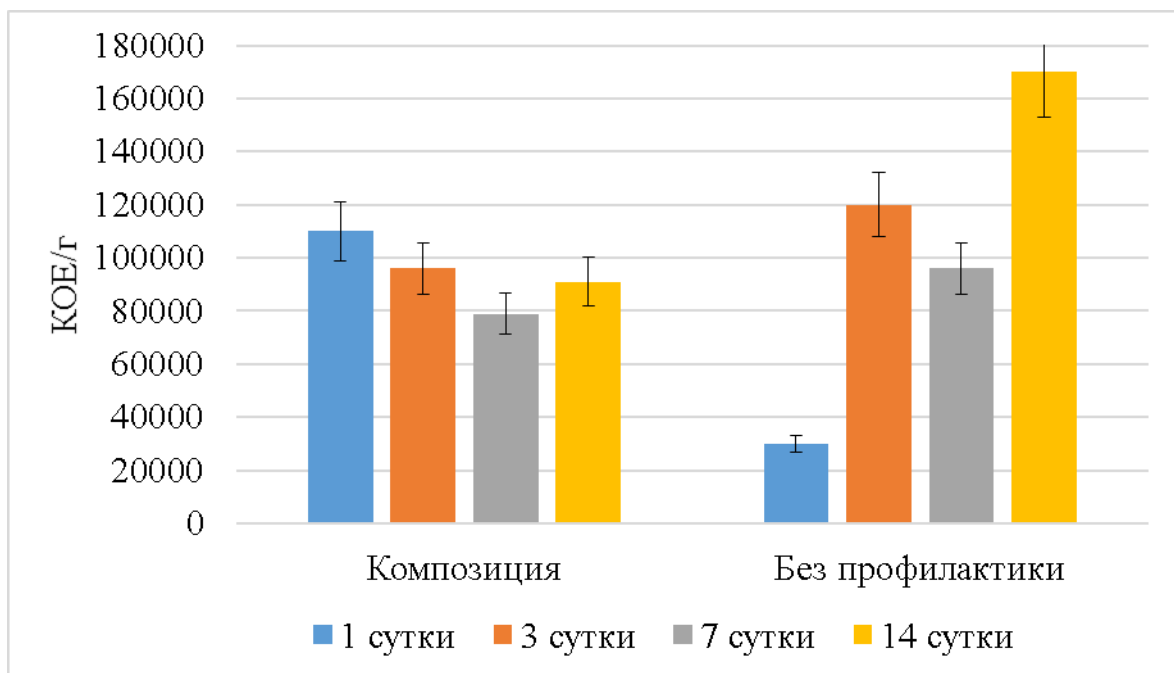


Рисунок 18 – Динамика бактерий рода *Staphylococcus*

Представленные на рисунках 19 и 20 данные свидетельствуют о том, что изменение количества протей и дрожжеподобных грибов в содержимом кишечника происходит достаточно быстро и самостоятельно под влиянием нормальной кишечной микрофлоры. При этом количество микроскопических

грибов сначала резко увеличивается на фоне дефицита молочнокислых бактерий.

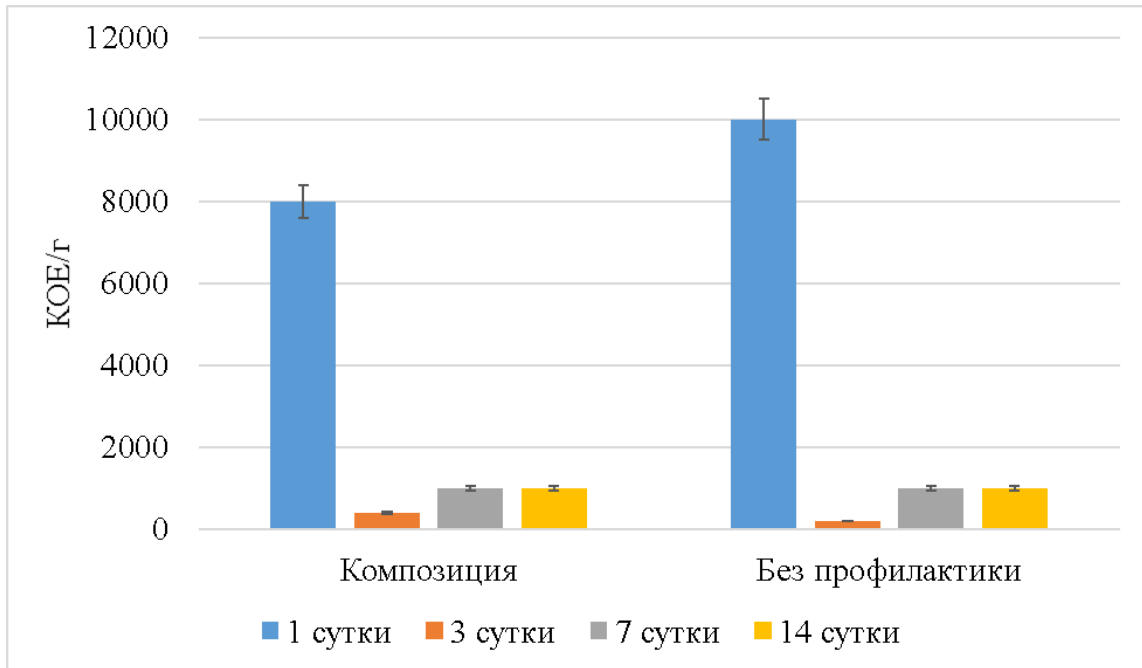


Рисунок 19 – Динамика бактерий рода *Proteus*

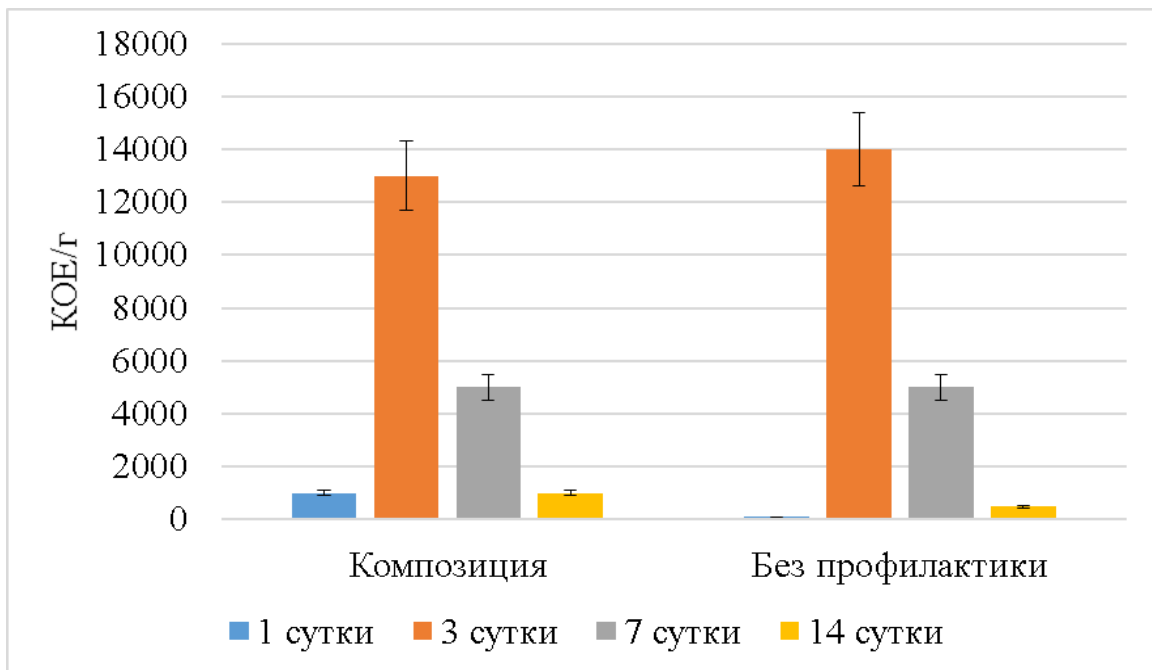


Рисунок 20 – Динамика количества микроскопических грибов

Таким образом, заявленное изобретение является не дорогим и доступным в отношении состава лекарственной композиции, отличающейся синергическим действием ее компонентов, легко воспроизводимым и высокоэффективным способом профилактики и терапии диспепсических

состояний у новорожденных телят в короткие сроки. При этом не развиваются дисбиотические реакции и привыкание к компонентам лекарственной композиции, о чем свидетельствуют динамика микробиоценоза кишечника телят и стойкая нормализация деятельности желудочно-кишечного тракта, даже после отмены применения разработанной композиции.

На данную разработку нами получен патент РФ № 2646831 на изобретение.

Эффективность применения разработанной композиции подтверждается успешным внедрением ее на Тамалинской районной СББЖ, в СПК Мартынов, КХ «Заря» и ИП КФХ Князькова. Показано, что применение разработанной композиции для лечения диспепсии телят, полученных от *BLV*-инфицированных коров позволяет: снизить частоту развития диспепсических состояний у телят неонатального возраста на 21-30% при увеличении привесов молодняка на 30-33% по сравнению с традиционными способами профилактики диспепсии (Приложение 3); снизить в 3 раза убытки, связанные с уменьшением среднесуточных приростов массы тела животных, уменьшить в 2,6 раз прямые затраты на лечение телят и повысить сохранность молодняка неонатального возраста до 100% (Приложение 4); повысить экономическую эффективность при лечении телят в 4,75 раз (Приложение 5); избежать прямого экономического ущерба, причиняемого диспепсией телят в размере более чем 48 тыс. рублей за 8 календарных месяцев 2018 года (Приложение 6).

Результаты, полученные при выполнении диссертационного исследования, вошли в проект «Система диагностических и лечебно-профилактических мероприятий по борьбе с лейкозом у крупного рогатого скота», удостоенный Диплома I степени и золотой медали на 20-ой Российской агропромышленной выставке «Золотая осень» в номинации Инновационные разработки в области ветеринарии (Приложение 7).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Энзоотический лейкоз – злокачественное заболевание крупного рогатого скота, возбудитель которого, онкогенный ретровирус, способен паразитировать *in vitro* в клонах, как естественно восприимчивых клеток (лимфоциты, моноциты, гранулоциты), так и в широком диапазоне других клеток, в том числе не принадлежащих природным хозяевам вируса: фетальных клетках почки ягненка (FLK), клетках бычьей почки (MDBK), почки хомячка (ВНК), кошачьих фибробластах (СС81), человеческих эпителиальных клетках рака шейки матки (HeLa). В организме крупного рогатого скота *BLV* обнаруживается не только в клетках крови, но также в лимфоцитах тимуса, в эпителиальных клетках печени и почек, в эпителиальных клетках молочной железы. Естественно восприимчивым хозяином *BLV* является крупный рогатый скот, однако положительный результат показало и экспериментальное заражение данным возбудителем многих других видов животных, в частности овец, коз, свиней, кур, кроликов, кошек, обезьян. В организме зараженных животных вирус провоцирует антителообразование и способствует развитию патологических изменений, как специфичных для лейкоза, например, спленомегалия, так и не специфичных, в частности, пневмония. В последнее время в центральной печати появляется все больше научно обоснованных предположений о потенциальной заразности и онкогенности *BLV* для человека. В этой связи, изучение взаимодействия вируса с гетерологичными организмами является крайне актуальной проблемой современной вирусологии.

Использование адекватной лабораторной модели будет способствовать решению этой проблемы. В настоящее время в качестве модели для изучения патогенеза энзоотического лейкоза широко используются овцы, относящиеся к полигастричным животным, как и крупный рогатый скот, а также моногастричные кролики, являющиеся травоядными животными. Крысы, моногастричные всеядные млекопитающие, признаны учеными филогенетически родственными приматам животными, особенно после

того, как геном крыс был полностью расшифрован. Установлено, что геном крысы схож с человеческим не только по числу генов, анализ генома показал, что у крыс и людей около 90% общих генов. Исследователи Национального института здравоохранения США сообщают, что в геноме коровы присутствуют аналоги 80% генов ДНК человека. Ученые считают, что строение человеческих хромосом имеет больше общего с хромосомами коров, чем с крыс. Это очень значимый факт, так как взаимодействие *BLV* с инфицированным организмом происходит именно на генетическом уровне. При изучении патогенеза инфекции на молекулярно-генетическом уровне, исследователями были зафиксированы наиболее частые сайты интеграции провируса в хромосому, обусловленные структурой генома клетки-хозяина. Учитывая факт крайней схожести геномов крупного рогатого скота, крысы и человека, можно предположить, что при заражении крыс, не только интеграция провируса *BLV* с геномом зараженной клетки будет успешной, но и спровоцированные этим фактом изменения, будут носить аналогичный характер. Данное предположение требует экспериментального подтверждения, что и послужило предпосылкой для выполнения настоящей научно-исследовательской работы.

Выбор способа заражения экспериментальных животных также был не маловажной частью исследования. Известно, что пероральное инфицирование имеет место в популяции естественно восприимчивых к вирусу лейкоза животных. Более того, данный путь является наиболее вероятным способом передачи вируса человеку через молоко *BLV*-инфицированных коров. Поэтому возможное стойкое заражения гетерологичных организмов путем выпаивания им молока инфицированных коров является значимым научным фактом.

Важное значение имеет изучение возможных эффектов *BLV*-инфекции в гетерологичном организме моногастричного всеядного млекопитающего и сравнение этих эффектов с последствиями *BLV*-инфекции у природных хозяев возбудителя.

Наблюдение за экспериментальными животными не показало явных отклонений в их поведении или клиническом состоянии. В своей книге «Болезнь века – лейкоз крупного рогатого скота» П.Н. Смирнов сообщает, что внешние клинические проявления EBL исследователи отмечают у крупного рогатого скота в небольшом количестве случаев и, в основном, у животных, многие годы являющихся носителем вируса. Результаты наших исследований выявили нарушения репродуктивной функции у крыс, поедавших молоко инфицированных и больных лейкозом коров. Потомство у самок из этих групп было малочисленным и начало появляться несколько позже, чем у крыс, которым скармливали молоко интактных коров. В частности, во II и в III группах крысята появились на 2 и 3 месяца позже, соответственно, чем в I группе. В своих исследованиях С.С. Абакин и соавт. [1] отмечают увеличение сервис-периода и индекса осеменения у коров, инфицированных вирусом лейкоза.

При исследовании крови крыс нами было установлено, что уже через 3 месяца скармливания им молока инфицированных и больных лейкозом коров, вирус интегрировался в хромосомы клеток их крови. При этом провирусная ДНК не была детектирована у месячных крысят первой генерации, полученных от иммунных к *BLV* крыс, что свидетельствует о выраженном протективном эффекте колостральных антител, которые мы выявили методом ИФА, и находит подтверждение в ранних работах отечественных [82] и зарубежных [111, 112] исследователей. То есть, на начальной стадии инфекции потомство крыс рождается здоровым и колостральный иммунитет защищает его от заражения по меньшей мере в течение месяца. Однако, спустя еще 3 месяца у животных этой генерации вирус уже присутствовал в крови. Исследование возможности трансплацентарной передачи вируса ЭЛКРС у крыс показало, что потомство *BLV*-инфицированных крыс, полученных от инфицированных лейкозом матерей, наиболее подвержено риску трансплацентарной передачи вируса. Полученные от них крысята, не имевшие контакта с молоком

инфицированных и больных лейкозом коров, оказались *BLV*-носителями в 30% случаев. Полученные нами данные коррелируют с результатами ряда исследователей. В частности, А.С. Опанасюк [54] было показано, что передача *BLV* в системе «мать-плод» зависит от степени компроматации коров к лейкозу: 7,6% - при носительстве вируса, 10% - от коров с гематологическими проявлениями и 57% - от клинически больных матерей.

На кишечнике вскрытых нами крыс пролифераты напоминали сильно разросшиеся пейеровы бляшки. Часто пролифераты присутствовали на печени. И, что заслуживает особого внимания, пролиферативные процессы постоянно регистрировались у животных Шб группы, иммунная реакция у которых была выражена в наименьшей степени по сравнению с другими экспериментальными крысами. Это объясняется теорией П.Н. Смирнова (2017), что слабые антигенные реакции стимулируют рост высокоантигенных опухолей, поэтому частота неоплазий у больных с клеточным иммунодефицитом более высока, чем в среднем в популяции [56].

Тромбоцитоз также был отмечен нами у инфицированных лейкозом коров, молоко которых скармливали крысам. Можно предположить, что циркулирующий в данном хозяйстве тип вируса провоцирует развитие лимфолейкоза в меньшей степени, чем местных пролиферативных процессов и мегакариоцитарного лейкоза. И что особенно важно, изменения в организме крупного рогатого скота коррелируют с изменениями у крыс. Проведенные нами исследования позволяют, что белые лабораторные крысы линии Wistar являются адекватной биологической моделью для изучения вируса лейкоза крупного рогатого скота и полученные на них результаты можно интерпретировать на сельскохозяйственных животных.

Полученные нами данные имеют важное, как теоретическое, так и практическое значение, так как открывают перспективу изучения реакции всех звеньев иммунитета при разработке средств специфической профилактики лейкоза и эффективности специфических противовирусных препаратов с наименьшими экономическими затратами.

Выводы

1. Впервые установлено, что скормливание крысам термически не обработанного молока инфицированных и больных лейкозом коров приводит к развитию у них *BLV*-инфекции, частота трансплацентарной передачи вируса потомству 2-ой генерации инфицированных животных составляет 30%.

2. При *BLV*-инфекции у крыс клинически выявлено нарушение репродуктивной функции, затрудненное дыхание и развитие кахексии.

3. Показано, что у *BLV*-инфицированных крыс в крови прогрессирует тромбоцитоз и увеличивается средний объем тромбоцитов, обнаруживают маркеры аллергии, гемолитической анемии и лимфолейкоза.

4. Биохимическими исследованиями крови выявлены маркеры интоксикации, эндокринных нарушений и развития злокачественных процессов у *BLV*-инфицированных крыс, а также признаки поражения печени, почек и миокарда, независимо от того молоко инфицированных или больных лейкозом коров им скормливали.

5. При *BLV*-инфекции у крыс обнаружены такие постмортальные изменения, как увеличение относительной массы внутренних органов, неоплазия на внутренних органах, а также явления гиперплазии, аденокарциномы, мастоцитомы и фибросаркомы в селезенке.

6. Показано, что выявленные у *BLV*-инфицированных крыс патологические изменения патогномичны для лейкоза и наиболее ярко выражены у потомства экспериментальных животных, при этом гематобиохимические нарушения у телят и крыс от *BLV*-инфицированных матерей носят аналогичный характер.

7. Разработана лекарственная композиция для коррекции клинического статуса у молодняка, полученного от *BLV*-инфицированных матерей.

Практические предложения

1. Крысы линии Wistar рекомендуются в качестве лабораторной модели для изучения патогенеза и эффектов *BLV*-инфекции, в том числе в гетерологичных организмах и у потомства инфицированных животных.

2. Разработанные лекарственная композиция и способ ее применения для профилактики и терапии диспепсических состояний новорожденных телят, полученных от инфицированных лейкозом коров (патент РФ на изобретение № 2646831), рекомендуются ветеринарным специалистам для предотвращения ущерба, причиняемого снижением жизнеспособности и приростов массы тела у молодняка, полученного от иммуносупрессированных коров.

Перспективы дальнейшей разработки темы

Разработка настоящей темы является перспективной при создании новых средств специфической профилактики и терапии лейкоза крупного рогатого скота. Использование лабораторных крыс в качестве биологической модели при изучении *BLV*-инфекции позволит в короткие сроки исследовать реакцию всех звеньев иммунной системы при испытании вакцин и эффективность новых противовирусных препаратов с минимальными затратами на достаточном по объему биоматериале в нескольких поколениях животных.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АЛТ – аланинаминотрансфераза

АСД– атисептик стимулятор Дорогова

АСТ – аспартатаминотрансфераза

ВЛ КРС – вирус лейкоза крупного рогатого скота

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ИФА – иммуноферментный анализ

КОЕ – колоний образующие единицы

КРС – крупный рогатый скот

ОАК – общий анализ крови

ОТ – обратная транскрипция

ПЦР – полимеразная цепная реакция

РИД – реакция иммунодиффузии

РНК – рибонуклеиновая кислота

ЩФ – щелочная фосфатаза

ЭЛ КРС (*EBL*) – энзоотический лейкоз крупного рогатого скота

BLV – *Bovine leukemia virus*

GRA – гранулоциты

HGB – гемоглобин

LYM – лимфоциты

MCHC – среднее содержание гемоглобина в 1 эритроците

MCV – средний объем эритроцитов

MID – средние клетки крови

MPV – средний объем тромбоцита

PLT – тромбоциты

RBC – эритроциты

RDWc – вариативность красных кровяных клеток по величине

RT-PCR – ПЦР в реальном времени

WBC – белые клетки крови

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абакин, С.С. Оценка хозяйственно-полезных качеств коров молочных пород, инфицированных вирусом лейкоза крупного рогатого скота в хозяйствах ставропольского края / С.С. Абакин, Е.С. Суржилова, В.А. Оробец // Вестник АПК Ставрополя. – 2017. – № 1. – С. 63-66.
2. Абдессмед, Д. Популяционно-биологические предпосылки экспансии ретровирусов крупного рогатого скота / Д. Абдессмед, Е.С. Красникова, В.А. Агольцов [и др.] // Теоретическая и прикладная экология. – 2018. – № 3. – С. 116-124.
3. Бурменская, Г.А. Терапевтическая эффективность препарата «БАЦЕЛЛ-М» при диспепсии телят / Г.А. Бурменская, Д.П. Винокурова, М.Н. Лифенцова // Ученые записки учреждения образования Витебская ордена Знак почета государственная академия ветеринарной медицины. – 2016. – Т. 52, № 3. – С. 12-15.
4. Вангели, С.В. Сравнительная ультраструктурная характеристика культур клеток, хронически инфицированных вирусом лейкоза крупного рогатого скота: дис... канд.вет.наук: 06.02.02 / Вангели Сергей Валерьевич – Москва, 2015. – 114 с.
5. Васильев, Р.О., Сравнительная эффективность разных схем лечения диспепсии у телят / Р.О. Васильев, Т.А. Трошина // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2015. – № 4. – С. 109-114.
6. Винокурова, З.В. Гемобластозы крупного рогатого скота в Якутии (патоморфологическая характеристика): автореферат дис... канд. вет. наук: 16.00.02 / Винокурова Зинаида Васильевна – Якутск, 2000. – 156 с.
7. Гадзаонов, Р.Х. Использование пробиотика в профилактике диспепсии у новорожденных телят / Р.Х. Гадзаонов, И.В. Пухаева, Дз.Ю. Хекилаев // Известия Горского государственного аграрного университета. – 2015. – № 52 (4). – С. 168-172.

8. Генджи́ев, А.Я., Обзор эпизоотической ситуации по лейкозу крупного рогатого скота в хозяйствах Республики Калмыкия/ А.Я. Генджи́ев, С.С. Абакин // Вестник АПК Ставрополья. – 2018. – № 1. – С. 28-33.
9. Гулюкин, М.И. Победить лейкоз можно / М.И. Гулюкин // Животноводство России. – 2016. – № 2. – С. 29-32.
10. Гулюкин, М.И. Экспериментальное воспроизведение лимфолейкоза на телятах / М.И. Гулюкин, Л.Г. Бурба, Л.А. Иванова [и др.] // Ветеринария. – 1987. – №2. – С. 2—28.
11. Гулюкин, М.И. Характеристика перевиваемых культур клеток, хронически инфицированных ВЛКРС / С.В. Вангели, М.И. Гулюкин, Г.А. Надточей [и др.] // Ветеринария. – 2007. – № 10. – С. 50-52.
12. Диагностическая система для выявления ДНК провирусов лейкоза и иммунодефицита крупного рогатого скота методом мультиплексной полимеразной цепной реакции / Е.С. Красникова, О.С. Ларионова, А.В. Красников, Г.Х. Утанова, А.С. Белякова // Патент №2615465 по заявке 2015132112 от 31.07.2015 опубликован 04.04.2017 Бюл. № 10. – 14 с.
13. Донник, И.М. Поиск маркеров лейкоза крупного рогатого скота на основе цитогенетических исследований / И.М. Донник, О.В. Трофимов, И.В. Пак // Ветеринария Кубани. – 2016. – №1. – С. 11-13.
14. Донник, И.М. Молекулярно-генетические и иммуно-биохимические маркеры оценки здоровья сельскохозяйственных животных / И.М. Донник, И.А. Шкуратова // Вестник Российской академии наук. – 2017. – Т. 87, № 4. – С. 36—366.
15. Дрогун, А.Г. Клинико-морфологические исследования крупного рогатого скота при лейкозе и лейкемоидных реакциях / А.Г. Дрогун, В.М. Лемеш, В.Н. Якубов // Патоморфология, патогенез и диагностика болезней сельскохозяйственных животных. М.: Колос, 1980. – С. 199-200.
16. Ермолин, А.Э. Состояние системы гипофиз-гонады у мужчин с острыми лейкозами: Автореф. Дис... канд. мед. наук: 14.00.05 / Ермолин Александр Эдуардович – Москва, 2002. – 24 с.

17. Закирова, З.Р. Геноидентификация вируса бычьего лейкоза: Дис... канд. вет. наук: 06.02.02, 06.02.01 / Закирова Зухра Рустамовна – Казань, 2015. – 167 с.

18. Исмагилова, А.Ф. Терапевтическая эффективность применения композиции МЭК+А+П при лечении токсической диспепсии у телят / А.Ф. Исмагилова, И.В. Чудов // Российский журнал проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. – 2014. – № 2. – С. 80-86.

19. Итэсь, Ю.В. Результаты комплексных иммунобиохимических исследований крупного рогатого скота разной породной принадлежности и компрометации к лейкозу: автореферат дис... канд. биол. наук: 16.00.03 / Итэсь Юрий Викторович. – Новосибирск, 2002. – 22 с.

20. Климов, Е.А. К вопросу о возможности заражения человека вирусом лейкоза крупного рогатого скота / Е.А. Климов, Г.Ю. Косовский // Ветеринарная медицина. – 2012. – № 2. – С. 9-11.

21. Клинические рекомендации по диагностике и терапии Ph–негативных миелопролиферативных заболеваний (истинная полицитемия, эссенциальная тромбоцитемия, первичный миелофиброз) / под руководством академика В.Г. Савченко // Рекомендации утверждены на II Конгрессе гематологов России, апрель 2014. – 81 с.

22. Ковтун, В.Я. О патоморфологической диагностике гемобластозов у крупного рогатого скота / В.Я. Ковтун // Патоморфология, патогенез и диагностика болезней сельскохозяйственных животных. М.: Колос, 1980. – С. 189-190.

23. Козырева, Н.Г. Распространение лейкоза крупного рогатого скота и генетические варианты возбудителя на территории животноводческих хозяйств Центрального федерального округа Российской Федерации / Н.Г. Козырева, М.И. Гулюкин // Ветеринария Кубани. – 2017. – №6. – С. 4-9.

24. Козырева, Н.Г. Алиментарная передача вируса лейкоза крупного рогатого скота / Н.Г. Козырева, Л.А. Иванова, Т.В. Степанова [и др.] // Инфекционные болезни. – 2017. – Т. 15, № S1. – С. 128-129.

25. Красникова, Е.С. Гемато-биохимический статус коров при *BLV*- и *BIV*-инфекции / Е.С. Красникова, В.А. Агольцов, А.В. Кудинов // Научная жизнь. – 2016. – № 2. – С. 159-167.

26. Красникова, Е.С. Диагностическая оценка серологического и молекулярно-генетического методов лабораторных исследований на ретровирусные инфекции крупного рогатого скота / Е.С. Красникова, В.А. Агольцов, П.С. Мелкина // Ветеринарная патология. – 2013. – № 3. – С. 23-29.

27. Красникова, Е.С. Иммунобиологические проявления ретровирусных инфекций крупного рогатого скота / Е.С. Красникова, А.В. Кудинов, А.С. Белякова // Научная жизнь. – 2015. – № 1. – С. 168-175.

28. Красникова, Е.С. Биологическая безопасность продукции животных, инфицированных вирусами энзоотического лейкоза и иммунодефицита КРС / Е.С. Красникова, О.С. Ларионова // Вестник ветеринарии. – 2014. – № 2(69). – С. 85-87.

29. Красникова, Е.С. О необходимости ужесточения мер контроля над энзоотическим лейкозом крупного рогатого скота / Е.С. Красникова, Т.А. Плютина // Труды Кубанского государственного аграрного университета. – 2014. – № 50. – С. 131-133.

30. Красникова, Е.С. Оценка качества молока, полученного от инфицированных ретровирусами коров и определение способов его переработки / Е.С. Красникова, Г.Х. Утанова, Н.А. Федосов [и др.] // Научное обозрение. – 2015. – № 17. – С. 10-15.

31. Красникова, Е.С. Биологическое обоснование совершенствования ветеринарных правил по борьбе с лейкозом крупного рогатого скота / Е.С. Красникова, Р.В. Радинов, А.С. Белякова // Агрофорсайт. – 2017. – № 1. – С. 1-3.

32. Красникова, Е.С. Гематологические показатели крыс линии Wistar при экспериментальной *BLV*-инфекции / Е.С. Красникова, А.В. Красников, Р.В. Радионов [и др.] // Инновации и продовольственная безопасность. – 2018. – № 4(22) – С. 138-145.

33. Красникова, Е.С. Биохимические показатели крыс линии Wistar при экспериментальной *BLV*-инфекции / Е.С. Красникова, А.В. Красников, Р.В. Радионов [и др.] // Инновации и продовольственная безопасность. – 2019. – № 2(24) – С. 138-145.

34. Красникова, Е.С. Применение новой лекарственной композиции для лечения диспепсии телят, полученных от *BLV*-инфицированных коров / Е.С. Красникова, Р.В. Радионов, А.С. Белякова // Вестник Красноярского ГАУ. – 2019. – № 2. – С. 127-129.

35. Кудрявцева, Т.П. Лейкоз животных. / Т.П. Кудрявцева // М.: Россельхозиздат, 1980. – 158 с.

36. Лазарев, И.М. Опухоли лимфатических узлов (цитологическая диагностика). Атлас / И.М. Лазарев. Кишинев: Штиинца, 1990. – 48 с.

37. Таджибаев, А.А. Патоморфологические изменения при спонтанном и экспериментальном лейкозе: Автореферат дисс... канд. вет. Наук: 16.00.02 / Таджибаев Абдумаджид Абдухаликович – Москва, 1984. – 19 с.

38. Кузнецова, А.Е. Разработка технологии выделения нового антигена и условий постановки диагностической реакции на лейкоз крупного рогатого скота / А.Е. Кузнецова, В.Н. Ласкавый, Е.И. Тихомирова [и др.] // В сборнике: Современные социально-экономические процессы: проблемы, закономерности, перспективы сборник статей III Международной научно-практической конференции: в 2 частях. – 2017. – С. 178-180.

39. Кузнецова, А.Е. Влияние метаболических процессов на устойчивость крупного рогатого скота к лейкозу / А.Е. Кузнецова, В.Н. Ласкавый, Е.И. Тихомирова [и др.] // Вестник Чеченского государственного университета. – 2017. – № 2 (26). – С. 101-106.

40. Ласкавый, В.Н. Новый антиген для новой диагностической реакции на лейкоз крупного рогатого скота / В.Н. Ласкавый, А.Е. Кузнецова, Е.И. Тихомирова // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2016. – Т. 18, № 2–3. – С.740-745.

41. Лашин, А.П. Фитопрофилактика диспепсии у новорожденных телят / А.П. Лашин, Н.В. Симонова, Н.П. Симонова // Вестник Красноярского государственного аграрного университета. – 2015. – № 9 (108). – С. 189-192.

42. Магер, С.Н. Краткий аналитический обзор приоритетных фундаментальных и прикладных исследований в области ветеринарной экологии и лейкозологии / С.Н. Магер, В.В. Храмцов // Сибирский вестник сельскохозяйственных наук. – 2005. – №2. – С. 124-126.

43. Маргер, С.Н. Биологическая характеристика потомства здоровых и больных лейкозом коров, и ассоциативное развитие лейкоза и туберкулеза у животных: Автореферат дис...докт. биол. наук: 16.00.03 / Маргер Сергей Николаевич Новосибирск, 2006. – 18 с.

44. Малинин, М.Л. Зависимость восприимчивости крупного рогатого скота к лейкозу от биохимических показателей крови / М.Л. Малинин, А.Е. Кузнецова, М.А. Шibaева [и др.] // Фундаментальные исследования. – 2013 – Вып.8, №10. – С. 132-136.

45. Медведева, М.А. Клиническая ветеринарная лабораторная диагностика.: Справочник для ветеринарных врачей / М.А. Медведева. – М.: «Аквариум», 2009. – С. 416.

46. Меньшикова, З.Н. Ветеринарно-санитарная экспертиза мяса крупного рогатого скота на разных стадиях лейкоза / З.Н. Меньшикова, Т.В. Курмакаева // Материалы методической и научно-практической конференции. – М: МГАВМиБ им. К.И. Скрябина, 2001. – С. 226-228.

47. Меньшикова, З.Н. Особенности морфологии лимфоидной ткани и качества мяса при хроническом лимфолейкозе крупного рогатого скота / З.Н. Меньшикова, Т.В. Курмакаева, М.И. Гулюкин // Материалы Всероссийской конференции к 65-летию Свердловской НИВС. – Екатеринбург, 2001. – С. 115-117.

48. Меньшикова, З.Н. Электронномикроскопическая характеристика вариантов морфогенеза бычьего лейкозного вируса / З.Н. Меньшикова, А.З.

Махмуд // Сб. науч. тр. МВА «Теорет. и практич. вопросы лейкозов и злокач. опухолей с.х. животных». – Москва, 1979. – Т. 107. – С. 13-19.

49. Методические рекомендации «Выделение и идентификация бактерий желудочно-кишечного тракта животных» от 11.02.2004 №13–5–02/2043.

50. Мосолков, А.Е. Зависимость некоторых морфологических показателей крови больных диспепсией телят от уровня витаминов А и Е в крови стельных коров с учетом сезонов года / А.Е. Мосолков // Вестник АлтГАУ. – 2004. – №2 (14). – С. 61-62.

51. Мотавина, Л.И. Иммунобиологический статус коров-матерей, больных лейкозом и телят, инфицированных ВЛКРС, внутриутробно и спонтанно / Л.И. Мотавина, А.И. Иванов // Научное обеспечение устойчивого развития АПК: материалы Всероссийской научно-практической конференции. – Уфа, 2011. – С. 147-149.

52. Мустафаев, А.Р. К вопросу о барьерах специфичности вируса бычьего лейкоза в эксперименте с белыми крысами линии «Wistar» / А.Р. Мустафаев, К.С. Бекшоков // Вестник Дагестанского государственного университета. – 2014. – Вып. 1. – С. 135-138.

53. Об эпизоотической ситуации по ряду заразных и особо опасных болезней животных в Российской Федерации, август 2017 г. Владимир Николаевич Шевкопляс директор Департамента ветеринарии Минсельхоз РФ. – URL: <http://depvet.samregion.ru/assets/files/doklad.pdf> (дата обращения 11.04.2018).

54. Опанасюк, А.С. Функциональная активность лимфоидной системы плодов крупного рогатого скота, больного лейкозом: Дис.канд. вет. наук: 16.00.03 / Опанасюк Анна Сергеевна // Новосибирск, 1991. – С. 107.

55. Осипова, Н.И. Лейкоз скота и безопасность молочных продуктов / Н.И. Осипова // Ветеринария. Реферативный журнал. – 2004. – № 2. – С. 668.

56. Павлова, А.И. Сравнительные показатели Т- и В-лимфоцитов, иммуноглобулинов основных классов и циркулирующих иммунных

комплексов (ЦИК) у инфицированных *BLV* и условно-патогенной микрофлорой коров / А.И. Павлова, П.Н. Смирнов, Л.П. Корякина [и др.] // Инновации и продовольственная безопасность. – 2017. – № 1(15). – С. 17-21.

57. Петропавловский, М.В. Эпизоотологическая и филогенетическая оценка вируса лейкоза крупного рогатого скота на территории российской федерации / М.В. Петропавловский, И.М. Донник, Н.А. Безбородова // Инновации и продовольственная безопасность. – 2018. – № 3. – С. 161-165.

58. Письмо Департамента ветеринарии Министерства сельского хозяйства РФ от 30 марта 2018 г. N 25/735 О направлении информации об эпизоотической ситуации по заразным экономически значимым болезням животных на территории РФ – URL: <http://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/71817530/#review> (дата обращения 14.01.2018).

59. Пономарёва, И.С. Гемато-биохимический статус коров с разной степенью компрометации к лейкозу в Оренбуржье / И.С. Пономарёва, С.П.Загуменников, М.В. Сычёва, Р.М. Нургалиева, М.А. Поляков, Е.А. Назарова // Ветеринарна наука. – 2011. – Т. 13. – С. 84-86.

60. Пат. 2646831 Российская Федерация. МПК А61К 35/00 А61К 31/00. Лекарственная композиция и способ ее применения для профилактики и терапии диспепсических состояний новорожденных телят, полученных от инфицированных лейкозом коров / Р.В. Радионов, Е.С. Красникова; заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВО Саратовский ГАУ. – № 2017114186; заявл. 25.04.2017; опубл. 07.03.2019 Бюл. № 8. – 10 с.

61. Мищенко, В.А. Проблема лейкоза крупного рогатого скота / В.А. Мищенко, О.Н. Петрова, А.К. Караулов, А.В. Мищенко // Владимир: ФГБУ «ВНИИЗЖ», 2018 – С. 38.

62. Прудникова, В.Н. Иммунологические и гематологические проявления лейкоза у коров в зависимости от породной принадлежности: Автореферат дисс... канд. вет. наук: 16.00.03 / Прудникова Виолетта Николаевна, Барнаул, – 2008. – С 23.

63. Радионов, Р.В. Исследование морфологических и биохимических показателей крови коров при *BIV* и *BLV* инфекции / Р.В. Радионов, А.П. Силаев // Современные тенденции сельскохозяйственного производства в мировой экономике: материалы Международной научно–практической конференции. – Кемерово, 2016. – С 290-294.

64. Радионов, Р.В. Влияние молока *BLV*-инфицированных и больных лейкозом коров на лабораторных крыс / Р.В. Радионов, А.А. Смагина // Наука и инновации в АПК XXI века: сборник материалов всероссийской научно-практической конференции молодых ученых, посвященная 145-летию академии. – Казань, 2018. – С. 169-172.

65. Радионов, Р.В. Морфометрия органов крыс при экспериментальной *BLV* инфекции / Р.В. Радионов, В.В. Павленко // Актуальные проблемы ветеринарной медицины, пищевых и биотехнологий: материалы Международной научно–практической конференции. – Саратов, 2018. – С. 94-98.

66. Радионов, Р.В. Экономическая эффективность применения разработанной лекарственной композиции для лечения диспепсии у телят, полученных от *BLV*-инфицированных коров / Р.В. Радионов, А.С. Белякова // Вклад ученых в повышение эффективности агропромышленного комплекса России: сборник статей Международной научно-практической конференции, посвящённой 20-летию создания Ассоциации «Аграрное образование и наука». – Саратов. 2018. – С.128-132.

67. Радионов, Р.В. Профилактика и лечение диспепсии телят, полученных от инфицированных лейкозом коров / Р.В. Радионов, Е.С. Красникова, О.С. Ларионова // Саратовский форум ветеринарной медицины и продовольственной безопасности Российской Федерации: Материалы Национальной научно-практической конференции. – Саратов, 2018. – С. 275-278.

68. Радионов, Р.В. Разработка лекарственной композиции для лечения и профилактики диспепсии у телят, полученных от *BLV*-инфицированных

коров / Р.В. Радионов // Современное состояние животноводства: проблемы и пути их решения: сборник материалов Международной научно–практической конференции. – Саратов, 2018. – С.297-299.

69. Рожков, О.А. Влияние концентрата фульвовой кислоты на морфобioхимические показатели крови крупного рогатого скота, инфицированного *BLV* / О.А. Рожков, В.И. Боровой, П.Н. Смирнов [и др.] // Инновации и продовольственная безопасность – .2016. – № 2 (12). – С. 5-10.

70. Рудакова, О.Н. Анализ современных методов диагностики и ветеринарно–санитарная экспертиза мяса при лейкозе крупного рогатого скота: дис... канд. биол. наук: 16.02.05 / Рудакова Оксана Николаевна. – Москва, 2010. – 137 с.

71. Семененко, М.П. Оценка биохимических, гематологических и иммунологических показателей у инфицированных вирусом лейкоза КРС, больных лейкозом и интактных коров / М.П. Семененко, Н.Ю. Басова, Е.В. Кузьмина // Ветеринария Кубани. – 2011. – №2. – С. 22-23.

72. Смирнов, П.Н. Болезнь века – лейкоз крупного рогатого скота / П.Н. Смирнов. – Новосибирск, 2007. – 301 с.

73. Смирнов, П.Н. Идеальная модель развития лейкозного процесса у крупного рогатого скота: по материалам собственных исследований / П.Н. Смирнов // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2015. – № 2. – С. 80-82.

74. Смирнов, П.Н. Хронобиологические исследования патологического процесса при лейкозе жвачных / П.Н. Смирнов // Инновации и продовольственная безопасность. – 2016. – № 4. – С. 7-14.

75. Смирнов, П.Н. Природа антител к антигену *BLV* по принадлежности их к определённому классу иммуноглобулинов/ П.Н. Смирнов // Вестник НГАУ. – 2016. – №2(39). – С. 91-96.

76. Сноз, В.Г. Локализация патологоанатомических и гистологических изменений в органах и тканях крупного рогатого скота при гемобластозах на разных стадиях развития патологического процесса / В.Г. Сноз // Материалы

Всероссийской научно-методической конференции по патанатомии сельскохозяйственных животных. – Воронеж, 1994. – С. 67-68.

77. Сноз, Г.В. Патолого–морфологические особенности органов и тканей крупного рогатого скота при спонтанных и экспериментальных лимфолейкозе и лимфобластозной лимфосаркоме: / В.Г. Сноз // Лейкозы крупного рогатого скота: сборник научных трудов. – М.: МВА им. К.И.Скрябина, 1985. – С. 74-78.

78. Соколов, Д.С. Краткий аналитический обзор состояния изученности проблемы ветеринарно-санитарной оценки мяса при лейкозе крупного рогатого скота / Д.С. Соколов // Материалы Международного Сибирского ветеринарного конгресса. – Новосибирск, 2004. – С. 200.

79. СПРАВОЧНИК. Физиологические, биохимические и биометрические показатели нормы экспериментальных животных / Под редакцией В.Г. Макарова и М.Н. Макаровой. – СПб.:Изд-во «ЛЕМА», 2013. – 116 с.

80. Стародуб, Н.Ф. Инфекционный лейкоз крупного рогатого скота и его диагностика / Н.Ф. Стародуб, В.Н. Стародуб // *Biopolymers and Cell*. – 2003. – Т. 19, № 4. – С. 307-316.

81. Трофимов, О.В. Поиск маркеров лейкоза крупного рогатого скота на основе цитогенетических исследований / О.В. Трофимов, И.В. Пак, И.М. Донник // *Ветеринария Кубани*. – 2016. – № 1. – С. 11-13.

82. Чекишев, В.М. Зависимость резистентности телят от уровня колострального иммунитета/ В.М. Чекишев, В.С. Васильев, А.И. Кабанцев // *Ветеринария*. – 1985. – № 11. – С. 25-26.

83. Черных, О.Ю. Иммунобиологический статус потомства коров, инфицированных вирусом лейкоза: автореф. дисс... канд. биол. наук: 16.00.02 / Черных Олег Юрьевич – Ставрополь, 2005. – 23 с.

84. Шкута, А.Б. Краткий обзор диагностической эффективности гематологического метода диагностики лейкоза крупного рогатого скота /

А.Б. Шкута // Материалы Международного Сибирского ветеринарного конгресса. – Новосибирск, 2005. – С. 172.

85. Эленшлегер, А.А. Оценка определения коэффициента катаболизма у новорожденных телят, больных диспепсией / А.А. Эленшлегер, Е.О. Политова // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2014. – № 4. – С. 114-119.

86. Abakin, S.S. GeNo.typing of isolates of bovine leukemia virus as the basis of a multiplex test system for early diagNo.sis/ S.S. Abakin, T.L. Krasovskaya, V.I. Zaerko [et al.] // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. – 2018. – Т. 9, N. 3. – С. 981-984.

87. Acaite, J. The eradication experience of enzootic bovine leukosis from Lithuania / J. Acaite V. Tamosiunas, K. Lukauskas [et al.] // Prev Vet Med. – 2007. – No. 82. – P.83-89.

88. Agresti, A. Use of polymerase chain reaction to diagNo.se bovine leukemia virus infection in calves at birth/ A. Agresti, W. Ponti, M. Rocchi [et al.] // Am J Vet Res. – 1993. – N. 54. – P. 373-378.

89. Aida, Y. Further pheNo.typic characterization of target cells for bovine leukemia virus experimental infection in sheep/ Y. Aida, M. Miyasaka, K. Okada[et al.] // Am J Vet Res. – 1989. – N. 50. – P.1946-1951.

90. Aida, Y. Mechanisms of pathogenesis induced by bovine leukemia virus as a model for human T–cell leukemia virus/ Y. Aida, H. Murakami, M. Takahashi [et al.] // Front Microbiol. – 2013. – N.4. – P. 328.

91. Aida, Y. PheNo.type and ontogeny of cells carrying a tumor–associated antigen that is expressed on bovine leukemia virus–induced lymphosarcoma/ Y. Aida, K. Okada, H. Amanuma // Cancer Res. – 1993. – No. 53. – P.429-437.

92. Altaneroва, V. Induction of leukemia in chicken by bovine leukemia virus due to insertional mutagenesis / V. Altaneroва, J. Ban, R. Kettmann [et al.] // Arch für Geschwulstforsch. – 1990. – N. 60. – P – 89-96.

93. Andersen, T.H. Indirect hemagglutination test for detection of antibody against bovine leukemia virus/ T.H. Andersen// Ann Rech Vet. – 1978. – N.9(4). – P. 675-682.

94. APHIS. Bovine Leukosis Virus (BLV) on U.S. Dairy Operations, 2007. United states department of agriculture; 2008. – URL: http://www.aphis.usda.gov/animal_health/nahms/dairy/downloads/dairy07/Dairy07_is_BLV.pdf.

95. Artemev, D.A. The study of the structural features of the lymphocytes from cattle with and without retroviral infection using atomic force microscopy/ D.A. Artemev, E.S. Krasnikova, A.V. Krasnikov [et al.] // В сборнике: Progress in Biomedical Optics and Imaging – Proceedings of SPIE 5, Optical Technologies in Biophysics and Medicine. – 2018. – С. 107160G.

96. Bai, L. Identification and characterization of common B cell epitope in bovine leukemia virus via high-throughput peptide screening system in infected cattle/ L. Bai, H. Otsuki, H. Sato [et al.] // Retrovirology. – 2015. – N. 12. – P.106.

97. Bai, L. Novel CD8(+) cytotoxic T cell epitopes in bovine leukemia virus with cattle/ L. Bai, S.N. Takeshima, E. Isogai [et al.] // Vaccine. – 2015. – N.33. – P.7194-7202.

98. Balic, D. Identification of a new genotype of bovine leukemia virus / D. Balic, I. Lojkic, M. Periskic [et al.] // Arch Virol. – 2012. – N.157. – P.1281- 1290.

99. Bartlett, P.C. Bovine leukemia virus and cow longevity in Michigan dairy herds/ P.C. Bartlett, B. Norby, T.M. Byrem [et al.] // J Dairy Sci. – 2013. – N.96. – P.1591-1597.

100. Benavides, B. Epidemiological study of bovine leukemia virus in dairy cows in six herds in the municipality of Pasto Nariño/ B. Benavides, D. Quevedo, M. Cruz // Revista Lasallista de Investigación. – 2013. – No.10. – P.18-26.

101. Bezditko, L.V. The biochemical indexes of blood of calves under gastrointestinal infection / L.V. Bezditko // Научные труды Южного филиала Национального университета биоресурсов и природопользования Украины

"Крымский агротехнологический университет". Серия: Ветеринарные науки. – 2013. – N. 151. – С. 144-148.

102. Boris-Lawrie, K. In vivo study of genetically simplified bovine leukemia virus derivatives that lack tax and rex/ K. Boris-Lawrie, V. Altanerova, C. Altaner [et al.] // J Virol. – 1997. – N. 71. – P.1514-1520.

103. Brym, P. Evaluation of reference genes for qRT–PCR gene expression studies in whole blood samples from healthy and leukemia–virus infected cattle/ P. Brym, A. Rusc, S. Kaminski // Vet ImmuNo.l ImmuNo.pathol. – 2013. – N. 153. – P.302-307.

104. Buehring, G.C. Bovine leukemia virus linked to breast cancer in Australian women and identified before breast cancer development/ G.C. Buehring, H. Shen, D.A. Schwartz [et al.] // PLoS One. – 2017. – N. 12(6). – P. e0179367.

105. Buehring, G.C. Bovine leukemia virus DNA in human breast tissue/ G.C. Buehring, H.M. Shen, H.M. Jensen, Y. Choi, D. Sun, G. Nuovo // Emerging Infectious Diseases. –2014. –N.20. –P. 772–782.

106. Buehring, G.C. Exposure to bovine leukemia virus is associated with breast cancer: A case–control study/ G.C. Buehring, H.M. Shen, H.M. Jensen [et al.] // PLOS One. – 2015. – N. 10(9). – P. e0134304.

107. Buehring, G.C. Humans have antibodies reactive with *Bovine Leukemia virus*/ G.C. Buehring, S.M. Philpott, K.Y. Choi //AIDS. Res. Hum. Retroviruses. – 2003. – V. 19. – P. 1105-1113.

108. Burgu, I. Control and eradication programme of enzootic bovine leucosis (EBL) from selected dairy herds in Turkey/ I. Burgu, F. Alkan, T. Karaoglu [et al.] // Dtsch Tierarztl Wochenschr. – 2005. – N.112. – P.271-274.

109. Burny, A. Bovine leukemia – facts and hypotheses derived from the study of an infectious cancer / A. Burny, Y. Cleuter, R. Kettmann [et al.] //Vet Microbiol. – 1988. – N. 17. – P.197-218.

110. Burny, A. A bovine leukemia virus, a versatile agent with various pathogenic effects in various animal species/ A. Burny, C. Bruck, V. Cleuter [et al.] // *Cancer Res. (suppl.)*. – 1985. – N. 45. – P. 4578-4582.
111. Burr ridge, M.J. The zoonotic potential of bovine leukemia virus / M.J. Burr ridge // *Vet. Res. Commun.* – 1981. – N. 5. – P.117-126.
112. Burr ridge, M.J. Fall in antibody titer to bovine leukemia virus in the periparturient period/ M.J. Burr ridge, M.C. Thurmond, J.M. Miller [et al.] // *Can J Comp Med.* – 1982. – N. 46. – P.270-271.
113. Camargos, M.F. Molecular characterization of the env gene from Brazilian field isolates of bovine leukemia virus / M.F. Camargos, A. Pereda, D. Stancek [et al.]// *Virus Genes.* – 2007. – N. 34. – P. 343-350.
114. Camargos, M.F. Partial sequencing of env gene of bovine leukaemia virus from Brazilian samples and phylogenetic analysis / M.F. Camargos, D. Stancek, M.A. Rocha [et al.] // *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health.* – 2002. – N. 49. – P.325-331.
115. Copeland, T.D. Complete amino acid sequence of the nucleic acid-binding protein of bovine leukemia virus / T.D. Copeland, M.A. Morgan, S. Oroszlan // *FEBS Lett.* – 1983. – N. 156. – P.37-40.
116. Coulston, J. Molecular cloning and sequencing of an Australian isolate of proviral bovine leukaemia virus DNA: comparison with other isolates / J. Coulston, H. Naif, R. Brandon [et al.] // *J Gen Virol.* – 1990. – N. 71. – P.1737-1746.
117. de Brogniez, A. Quantification of Cell Turnover in the Bovine Leukemia Virus Model / A. de Brogniez, P.Y. Barez, A. Carpentier [et al.] // *Methods Mol Biol.* – 2017. – No. 1582. – P.173-182.
118. Demirhan, I. Characterization of the RNA dependent DNA polymerase of bovine leukemia virus / I. Demirhan, V. Altanerova, A. Chandra // *Anticancer. Res.* – 1996. – V. 16. – P 2501-2505.
119. Diglio, C.A. Induction of syncytia by the bovine C-type leukemia virus / C.A. Diglio, J.F. Ferrer // *Cancer Res.* – 1976. – N. 36. – P.1056-1067.

120. Dimitrov, P. Pathological features of experimental bovine leukaemia viral (BLV) infection in rats and rabbits / P. Dimitrov, K. Simeonov, K. Todorova [et al.] // *Bull Vet Inst Pulawy*. – 2012. – N. 56. – P. 115-120.

121. Dimmock, C.K. Factors affecting the natural transmission of bovine leukaemia virus infection in Queensland dairy herds / C.K. Dimmock, Y.S. Chung, A.R. MacKenzie // *Aust Vet J*. – 1991. – N. 68. – P.230-233.

122. Donham, K. Seroepidemiologic studies on the possible relationships of human and bovine leukemia / K. Donham, M.J. Van Der Maaten, J.M. Miller [et al.] // *J.Natl. Cancer Inst*. – 1977. – N. 59. – P.851-853.

123. Donham, K. J. Epidemiologic relationships of the bovine population and human leukemia in Iowa/ K.J. Donham, J.W. Berg, R.S. Sawin // *Amer. J. Epidemiol*. – 1980. – N. 112. – P. 80-92.

124. Dutcher, R.M. Bovine leukemia / R.M. Dutcher // *Growth*. – 1965. – N. 29. – P. 1-5.

125. EFSA Panel on Animal Health and Welfare (AHAW). Assessment of listing and categorisation of animal diseases within the framework of the Animal Health Law (Regulation (EU) No. 2016/429): enzootic bovine leukosis (EBL)/ S.J. More, A. Bøtner, A. Butterworth [et al.] // *EFSA Journal*. – 2017. – N. 15(8). – P. 1-28.

126. European Panel on Animal Health and Welfare (EPAHW) Scientific opinion on enzootic bovine leukosis. – *EFSA J*. – 2015. – N. 13. – P.63. – URL: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2015.4188>.

127. Evermann, J.F. Transmission of bovine leukosis virus by blood inoculation/ J.F. Evermann, R.F. DiGiacomo, J.F. Ferrer [et al.] // *Am J Vet Res*. – 1986. – N. 47. – P.1885-1887.

128. Faquet, C.M. Virus Taxonomy. Classification and Nomenclature of viruses. Family Retroviridae / C.M. Faquet, M.A. Mayo, J. Maniloff [et al.] // *Eighth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. Elsevier Acad Press, 2005. – P. 421-440.

129. Felmer, R. Molecular analysis of a 444 bp fragment of the bovine leukaemia virus gp51 env gene reveals a high frequency of Non-silent point mutations and suggests the presence of two subgroups of BLV in Chile / R. Felmer, G. MuNo.z, J. Zuniga [et al.] // *Vet Microbiol.* – 2005. – N.108. – P.39-47.
130. Ferrer, J.F. Milk of dairy cows frequently contains a leukemogenic virus / J.F. Ferrer, S.J. Kenyon, P. Gupta // *Science.* – 1981. – N. 213. – P.1014-1016.
131. Ferrer, J.F. Persistent lymphocytosis in cattle: its cause, nature and relation to lymphosarcoma / J.F. Ferrer, R.R. Marshak, D.A. Abt [et al.] // *Ann Rech Vet.* – 1978. – N. 9. – P.851-857.
132. Ferrer, J.F. Role of colostrum and milk in the natural transmission of the bovine leukemia virus/ J.F. Ferrer, C.E. Piper // *Cancer Res.* – 1981. – N.41. – P. 4906-4909.
133. Florins, A. Even attenuated bovine leukemia virus proviruses can be pathogenic in sheep/ A. Florins, N. Gillet, M. Boxus [et al.] // *J Virol.* – 2007. – N. 81. – P.10195-10200.
134. Fukai, K. A case of an embryo transfer calf infected with bovine leukemia virus from the recipient cow/ K. Fukai, M. Sato, M. Kawara [et al.] // *Zentralbl Veterinarmed.* – 1999. – N. 46. – P. 511-515.
135. Gilden, R.V. Characteristics of the major internal protein and RNA dependent DNA polymerase of bovine leukemia virus/ R.V. Gilden, C.W. Long, M. Hanson [et al.] // *J.Gen.Virol.* – 1975. – N. 29. – P.305-314.
136. Gillet, N.A. Mechanisms of leukemogenesis induced by bovine leukemia virus: Prospects for Novel anti-retroviral therapies in human/ N. Gillet, A. Florins, M. Boxus [et al.] // *Retrovirology.* – 2007. – N. 4. – P.18.
137. Gillet, N.A. Bovine leukemia virus small Noncoding RNAs are functional elements that regulate replication and contribute to Oncogenesis in vivo / N.A. Gillet, M. Hamaidia, A. de Brogniez [et al.] // *PLoS Pathog.* – 2016. – N. 12. – P. e1005588.

138. Giovanna, M. Bovine leukemia virus gene segment detected in human breast tissue/ M. Giovanna, J.C. Ulloa, A.M. Uribe [et al.] // *Open Journal of Medical Microbiology*. – 2013. – Vol.3 – N.1. – P. 84-90.
139. Graves, D.C. In vitro transmission and propagation of the bovine leukemia virus in monolayer cell cultures/ D.C. Graves, J.F. Ferrer // *Cancer Res.* – 1976. – N. 36. – P.4152-4159.
140. Gutiérrez, G. Characterization of colostrum from dams of BLV endemic dairy herds/ G. Gutiérrez, M. Lomonaco, I. Alvarez [et al.] // *Vet Microbiol.* – 2015. – V. – 177. – P.366-369.
141. Gutiérrez, G. Vaccination against δ -Retroviruses: The Bovine Leukemia Virus Paradigm/ G. Gutiérrez, S.M. Rodríguez, A. de Brogniez [et al.] // *Viruses*. – 2014. – No. 6(6). – P. 2416-2427.
142. Hafez, S.M. Preliminary studies on enzootic bovine leukosis in Saudi dairy farms/ S.M. Hafez, M. Sharif, A. Al-Sukayran [et al.] // *Dtsch Tierarztl Wochenschr.* – 1990. – N. 97. – P.61-63.
143. Hajj, H.E. Animal models on HTLV-1 and related viruses: what did we learn? / H.E. Hajj, R. Nasr, Y. Kfoury, Z. Dassouki, R. Nasser, G. Kchour, O. Hermine, A. Bazarbachi // *Front Microbiol.* – 2012. – N.3. – P.333.
144. Hamard-Peron, E. Retroviral matrix and lipids, the intimate interaction/ E. Hamard-Peron, D. Muriaux // *Retrovirology*. – 2011. – N. 8. – P.15.
145. Hernández-Herrera, D.Y. Bovine leukosis virus detection in Creole Colombian breeds using nested-PCR / D.Y. Hernández-Herrera, A. Posso-Terra, J. Benavides [et al.] // *Acta agronómica*. – 2011. – N. 60. – P.311-317.
146. Hopkins, S.G. Natural transmission of bovine leukemia virus in dairy and beef cattle/ S.G. Hopkins, R.F. DiGiacomo // *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* – 1997. – N. 13. – P.107-128.
147. Inabe, K. Transmission and propagation in cell culture of virus produced by cells transfected with an infectious molecular clone of bovine leukemia virus/ K. Inabe, K. Ikuta, Y. Aida // *Virology*. – 1998. – V.245. – P.53-64.

148. Jaworski, J.P. Short communication: relationship between the level of bovine leukemia virus antibody and provirus in blood and milk of cows from a naturally infected herd / J.P. Jaworski, N.G Porta, G. Gutierrez [et al.] // *J Dairy Sci.* – 2016. – V. 99. – P. 5629-5634.

149. Jimba, M. BLV-CoCoMo-qPCR: Quantitation of bovine leukemia virus proviral load using the CoCoMo algorithm / M. Jimba, S.N. Takeshima, K. Matoba [et al.] // *Retrovirology.* – 2010. – No. 7. – P.91.

150. Jimba, M. BLV-CoCoMo-qPCR: a useful tool for evaluating bovine leukemia virus infection status/ M. Jimba, S.N. Takeshima, H. Murakami [et al.] // *BMC Vet Res.* – 2012. – N. 8. – P.167.

151. Kabeya, H. Characterization of immune responses caused by bovine leukemia virus envelope peptides in sheep/ H. Kabeya, K. Ohashi, C. Sugimoto // *J. Vet. Med. Sci.* –1999. –V. 61, No.5. – P. 475–480.

152. Katoh, I. Bovine leukemia virus RNA sequences involved in dimerization and specific gag protein binding: close relation to the packaging sites of avian, murine, and human retroviruses/ I. Katoh, T. Yasunaga, Y. Yoshinaka // *J Virol.* – 1993. – N. 67. – P.1830-1839.

153. Kelly, E.J. Early detection of bovine leukemia virus in cattle by use of the polymerase chain reaction/ E.J. Kelly, M.K. Jackson, G. Marsolais [et al.] // *Am J Vet Res.* – 1993. – N. 5. – P.205-209.

154. Kerkhofs, P. Longterm protection against bovine leukaemia virus replication in cattle and sheep/ P. Kerkhofs, J.S. Gatot, K. Knapen // *J. Gen.Virol.* – 2000. – V. 81. – P. 957-963.

155. Kettmann, R. Leukemogenesis by bovine leukemia virus: proviral DNA integration and lack of RNA expression of viral long terminal repeat and 3' proximate cellular sequences/ R. Kettmann, J. Deschamps, Y. Cleuter [et al.] // *Proc Natl Acad Sci U S A.* – 1982. – N. 79. – P.2465-2469.

156. Kettmann, R. Integration of bovine leukemia virus DNA in the bovine genome / R. Kettmann, M. Meunier-Rotival, J. Cortadas [et al.] // *Proc Natl Acad Sci U S A.* – 1979. – N. 76. – P.4822-4826.

157. Kincaid, R.P. RNA virus microRNA that mimics a B-cell oncomiR / R.P. Kincaid, J.M Burke, C.S. Sullivan // Proc Natl Acad Sci U S A. – 2012. – N. 109. – P.3077-3082.
158. Kirkland, P.D. Enzootic Bovine Leukosis / P.D. Kirkland, B.J. Rodwell // Australia and New Zealand Standard Diagnostic Procedures, 2005. – P.1-14.
159. Kittelberger, R. Detection of antibodies against the core protein p24 of the bovine leukaemia virus in cattle for confirmatory serological testing/ R. Kittelberger, M.P. Reichel, R.M. Meynell // J. Virol. Methods. – 1999. – V. 77. – N. 1. – 109-114.
160. Krasnikova, E.S. Analysis of hemo–biochemical status of cows infected with retroviruse / E.S. Krasnikova, A.V. Krasnikov, V.V. Annikov [et al.] // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. – 2018. – T. 9. – N. 3. – C. 1122-1128.
161. Krasnikova, E.S. The hemato–biochemical status of rats – *Wistar* line under the *Bovine Leukemia Virus* experimental infection/ E.S. Krasnikova, F. Bouchemla, A.V. Krasnikov, R. V. RadioNov, A. S. Belyakova // Veterinary World. – 2019. –N. –P. 1122-1128.
162. Lassauzet, M.L. Factors associated with transmission of bovine leukemia virus by contact in cows on a California dairy / M.L. Lassauzet, M.C. Thurmond, W.O. Johnson [et al.] //Am J Epidemiol. – 1991. – V. 133. – P.164-176.
163. Lee, E. Sequencing and phylogenetic analysis of the gp51 gene from Korean bovine leukemia virus isolates/ E. Lee, E.J. Kim, H.K. Joung [et al.] // Virol J. – 2015. – N. 12. – P.64.
164. Lee, E. Molecular epidemiological and serological studies of bovine leukemia virus (BLV) infection in Thailand cattle / E. Lee, E.J. Kim, J. Rattanaphart [et al.] //Infect Genet Evol. – 2016. – N. 41. – P. 245-254.
165. Lee, L.C. Bovine leukemia virus infection in a juvenile alpaca with multicentric lymphoma/ L.C. Lee W.K., Scarratt, G.C. Buehring [et al.] // Can Vet J. – 2012. – N. 53. – P.283-286.

166. Levy, D. Bovine leukemia virus specific antibodies among French cattle. I. Comparison of complement fixation and hematological tests/ D. Levy, L. Deshayes, B. Guillemain [et al.] // *Int J Cancer*. – 1977. – N. 19(6). – P. 822-827.

167. Levy, D. Bovine leukemia virus specific antibodies among French cattle. II. Radioimmunoassay with the major structural protein (BLV p24) / D. Levy, L. Deshayes, A.L. Parodi [et al.] // *Int J Cancer*. – 1977. – N. 20. – P. 543-550.

168. Lomonaco, M. Epidemiological features of BLV natural infection/ M. Lomonaco, I. Alvarez, C. Martínez [et al.] // *Retrovirology*. – 2014. – N. 11. – P. 45.

169. Ltanerova, V. Infection of rats with bovine leukaemia virus: establishment of a virus-producing rat cell line / V. Ltanerova, D. Portetelle, R. Kettmann [et al.] // *J Gen Virol*. – 1989. – N. 70. – P. 1929-1932.

170. Ma, J.G. First report of Bovine leukemia virus infection in Yaks (*Bos mutus*) in China/ J.G Ma, W.B. Zheng, D.H. Zhou [et al.] // *Biomed Res Int*. – 2016. – N. 9 – P. 170-167.

171. Maresca, C. Enzootic bovine leukosis: report of eradication and surveillance measures in Italy over an 8-year period (2005–2012)/ C Maresca, S Costarelli, A Dettori [et al.] // *Prev Vet Med*. – 2015 – V. 119. – P. 222-226.

172. Martinez Cuesta, L. Can Bovine Leukemia Virus Be Related to Human Breast Cancer? A Review of the Evidence/ L. Martinez Cuesta, P.A. Lendez, M.V. Nieto Farias [et al.] // *J Mammary Gland Biol Neoplasia*. – 2018. – V. 23(3). – P. 101-107.

173. Meas, S. Seroprevalence of bovine immunodeficiency virus and bovine leukemia virus in draught animals in Cambodia / S. Meas, K. Ohashi, S. Tum [et al.] // *J Vet Med Sci*. – 2000. – N. 62. – P. 779-781.

174. Meas, S. Infection of Bovine immunodeficiency virus and bovine leukemia virus in water buffalo and cattle populations in Pakistan / S. Meas, J. Seto, C. Sugimoto [et al.] // *J Vet Med Sci*. – 2000. – V.62. – P.329-331.

175. Mekata, H. Evaluation of the natural perinatal transmission of bovine leukaemia virus/ H. Mekata, S. Sekiguchi, S. Konnai [et al.] // *Vet Rec.* – 2014. – V. 176. – P. 1-4.

176. Miller, J.M. A complement–fixation test for the bovine leukemia (C–type) virus/ J.M Miller, M.J. Van der Maaten // *J Natl Cancer Inst.* – 1974. – N.53(6). – P. 1699-1702.

177. Miller, J.M. Infectivity tests of secretions and excretions from cattle infected with bovine leukemia virus / J.M. Miller, M.J. Van Der Maaten // *J Natl Cancer Inst.* – 1979. – N. 62. – P. 425-428.

178. Miyasaka, T. Identification of bovine leukocyte antigen class II haplotypes associated with variations in bovine leukemia virus proviral load in Japanese black cattle/ T. Miyasaka, S.N. Takeshima, M. Jimba [et al.] // *Tissue Antigens.* – 2013. – N.81. – P.72-82.

179. Molteni, E. Molecular characterization of a variant of proviral bovine leukaemia virus (BLV) / E. Molteni, A. Agresti, R. Meneveri [et al.] // *Zentralbl Veterinarmed B.* – 1996. – N. 43. – P. 201-211.

180. Monti, G.E. Genetic diversity and spread of bovine leukaemia virus isolates in argentine dairy cattle/ G. Monti, R. Schrijver, D. Beier // *Arch Virol.* – 2005. – V. 150. – P. 443-458.

181. Monti, G.E. Evaluation of a new antibody–based enzyme–linked immuNo.sorbent assay for the detection of bovine leukemia virus infection in dairy cattle/ G.E. Monti, K. Frankena, B. Engel [et al.] // *J Vet Diagn Investig.* – 2005. – N. 17. – P. 451-457.

182. Moratorio, G. Phylogenetic analysis of bovine leukemia viruses isolated in South America reveals diversification in seven distinct geNo.types / G. Moratorio, G. Obal, A. Dubra [et al.] // *Arch Virol.* – 2010. – V. 155. – P. 481-489.

183. Mousavi, S. Prevalence of bovine leukemia virus (BLV) infection in the Northeast of Iran/ S. Mousavi, A. Haghparast, G. Mohammadi[et al.] // *Vet Res Forum.* – 2014. – N. 5. – P. 135-139.

184. Murakami, K. Nationwide survey of bovine leukemia virus infection among dairy and beef breeding cattle in Japan from 2009–2011/ K. Murakami, S. Kobayashi, M. Konishi [et al.] // *J Vet Med Sci.* – 2013. – N. 75. – P. 1123-1126.

185. Naif, H.M. Bovine leukemia Proviral DNA detection in cattle using the polymerase chain–reaction/ H.M. Naif, R.B. Brandon, R.C.W. Daniel [et al.] // *Vet Microbiol.* – 1990. – N. 25. – P.117-129.

186. Nekoei, S. Molecular detection of bovine leukemia virus in peripheral blood of Iranian cattle, camel and sheep/ S. Nekoei, T.T. Hafshejani, A. Doosti [et al.] // *Pol J Vet Sci.* – 2015. – N. 18. – P. 703-707.

187. Nekouei, O. Lifetime effects of infection with bovine leukemia virus on longevity and milk production of dairy cows/ O. Nekouei, J. VanLeeuwen, H. Stryhn [et al.] // *Prev Vet Med.* – 2016. – V. 133. – P. 1-9.

188. Nekouei, O.A. Study of prevalence, risk factors, and lifetime impacts of infection with bovine leukemia virus in the Canadian dairy industry/ Nekouei OA. // University of Prince Edward Island, Atlantic veterinary college, department of Health Management, 2015.

189. Nguyen, V.K. Evaluation of an enzyme–linked immunosorbent assay for detection of antibodies to bovine leukemia virus in serum and milk/ V.K. Nguyen, R.F. Maes // *J Clin Microbiol.* – 1993. – N. 31. – P. 979-981.

190. Nishimori, A. Direct polymerase chain reaction from blood and tissue samples for rapid diagnosis of bovine leukemia virus infection. / A. Nishimori, S. Konnai, R. Ikebuchi [et al.] // *J Vet Med Sci.* – 2016. – N. 78. – P. 791-796.

191. Nuotio, L. Eradication of enzootic bovine leukosis from Finland/ L. Nuotio, H. Rusanen, L. Sihvonon [et al.] // *Prev Vet Med.* – 2003. – N. 59. – P.43-49.

192. Ochirkhuu, N. Detection of bovine leukemia virus and identification of its genotype in Mongolian cattle / N. Ochirkhuu, S. Konnai, R. Odbileg [et al.] // *Arch Virol.* – 2016. – V. 161. – P. 985-991.

193. Ohshima, K. Survey for maternal antibodies to bovine leukemia virus (BLV) in calves born to cows infected with BLV/ K. Ohshima, N. Morimoto, Y. Kagawa [et al.] // *Nihon Juigaku Zasshi*. – 1984. – No. 46. – P. 583-586.

194. OIE. World animal health information database–version: 1.4. Paris France: World organisation for animal Health, 2009.

195. OIE. Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals: chapter 2.4.11. Enzootic Bovine Leukosis. Seventh Edition edn. France: World organization for animal health, 2012.

196. Okagawa, T. Increased bovine TIM-3 and its ligand expressions during bovine leukemia virus infection / T. Okagawa, S. Konnai, R. Ikebuchi [et al.] // *Vet. Res.* – 2012. – N. 43. – P. 45.

197. Panei, C.J. Estimation of bovine leukemia virus (BLV) proviral load harbored by lymphocyte subpopulations in BLV-infected cattle at the subclinical stage of enzootic bovine leukosis using BLV-CoCoMo-qPCR/ C.J. Panei, S.N. Takeshima, T. Omori [et al.] // *BMC Vet Res.* – 2013. – N. 9. – P. 95.

198. Polat, M. The molecular epidemiological study of bovine leukemia virus infection in Myanmar cattle/ M. Polat, H.H. Moe, T. Shimogiri [et al.] // *Arch Virol.* – 2017. – V. 162. – P. 425-437.

199. Polat, M. Detection and molecular characterization of bovine leukemia virus in Philippine cattle/ M. Polat, A. OhNo., S.N. Takeshima [et al.] // *Arch Virol.* – 2015. – V. 160. – P.285-296.

200. Polat, M. Epidemiology and genetic diversity of bovine leukemia virus / M. Polat , S.N. Takeshima, Y. Aida // *Virology Journal*. – 2017. – N. 14. – P. 209.

201. Polat, M. A new genotype of bovine leukemia virus in South America identified by NGS-based whole genome sequencing and molecular evolutionary genetic analysis/ M. Polat, S.N. Takeshima, K. Hosomichi [et al.] // *Retrovirology*. – 2016. – N. 13. – P. 4.

202. Rama, G. Development of a real time PCR assay using SYBR Green chemistry for bovine leukemia virus detection/ G. Rama, G. Moratorio, G. Greif [et al.] // *Retrovirology*. – 2011. – V. 17. – P. 8.

203. Robinson, L.A. Molecular evidence of viral DNA in Non-small cell lung cancer and Non-neoplastic lung / L.A. Robinson, C.J. Jaing, C.P. Campbell [et al.] // *British Journal of Cancer*. – 2016. – N. 115. – P.497-504.

204. Rodriguez, S.M. Bovine leukemia virus can be classified into seven geNo.types: evidence for the existence of two No.vel clades/ S.M. Rodriguez, M.D. Golemba, R.H. Campos [et al.] // *J Gen Virol*. – 2009. – N. 90. – P. 2788-2797.

205. Rola-Luszczak, M. The molecular characterization of bovine leukaemia virus isolates from Eastern Europe and Siberia and its impact on phylogeny/ M. Rola-Luszczak, A. Pluta, M. Olech [et al.] // *PLoS One*. – 2013. – N. 8. – P. e58705.

206. Romero, C.H. Transmission of Bovine Leukaemia Virus in milk / C.H. Romero, C. Geraldob, C.A. Rowe // *Trop Anim Health Prod*. – 1981. – N.15. – P.– 215-218.

207. Rosewick, N. Deep sequencing reveals abundant Noncanonical retroviral microRNAs in B-cell leukemia/lymphoma/ N. Rosewick, M. Momont, K. Durkin [et al.] // *Proc Natl Acad Sci U S A*. – 2013. – N. 110. – P. 2306-2311.

208. Ruiz, V. Bovine Leukemia Virus Infection in Neonatal Calves. Risk Factors and Control Measures / V. Ruiz, N.G. Porta, M. Lomónaco [et al.] // *Front Vet Sci*. – 2018. – N. 5. – P. 267.

209. Sandev, N. Prevalence of enzootic Bovine Leukosis in Bulgaria / N. Sandev, D. Illieva, N. Ruseva, V. Marasheva // *Bulletin UASVM Veterinary Medicine*. – 2015. – N.72. – P. 43-46.

210. Sandev, N. Influence of enzootic bovine leukosis virus upon the incidence of subclinical mastitis in cows at a different stage of infection/ N. Sandev, M. Koleva, R. Binev [et al.] // *Veterinarski Archiv*. – 2004. – N. 76. – P. 411-416.

211. Schoepf, K.C. Serological evidence of the occurrence of enzootic bovine leukosis (EBL) virus infection in cattle in Tanzania/ K.C. Schoepf, A.M. Kapaga, H.M. Msami [et al.] // *Trop Anim Health Prod.* – 1997. – N. 29. – P.15-19.

212. Schwartz, I. Pathobiology of bovine leukemia virus. / I. Schwartz, D. Levy // *Vet.Res.* – 1994. – N. 25(6). – P. 521-536.

213. Stott, M.L. Integrated bovine leucosis proviral DNA in T helper and T cytotoxic/suppressor lymphocytes/ M.L. Stott, M.C. Thurmond, S.J. Dunn // *J. Gen. Virol.* – 1991. – V. 72. – P. 307-315.

214. Suzuki, S. Expression analysis of foxp3 in t cells from bovine leukemia virus infected cattle/ S. Suzuki, S. Konnai, T. Okagawa [et al.] // *Microbiol. Immunol.* – 2013. – N. 57. – P. 600-604.

215. Tabel, H. Bovine leukosis. V. Epidemiological study of bovine C-type virus by the use of the complement fixation test / H. Tabel, S. Chander, M.J. Van Der Maaten [et al.] // *Can J Comp Med.* – 1976. – N. 40(4). – P. 350-354.

216. Tajima, S. Induction of expression of bovine leukemia virus (BLV) in blood taken from BLV-infected cows without removal of plasma /S. Tajima, Y. Aida // *Microbes Infect.* – 2005. – N. 7. – P. 1211-1216.

217. Tajima, S. A mutant form of the tax protein of bovine leukemia virus (BLV), with enhanced transactivation activity, increases expression and propagation of BLV in vitro but not in vivo / S. Tajima, M. Takahashi, S.N. Takeshima, S. Konnai, S.A. Yin, S. Watarai, Y. Tanaka, M. Onuma, K. Okada, Y. Aida // *J Virol.* – 2003. – N. 77.–P. 1894–1903.

218. Takahashi, M. Involvement of bovine leukemia virus in induction and inhibition of apoptosis/ M. Takahashi, S. Tajima, K. Okada [et al.] // *Microbes Infect.* – 2005. – N. 7. – P. 19-28.

219. Takahashi, M. Ex vivo survival of peripheral blood mononuclear cells in sheep induced by bovine leukemia virus (BLV) mainly occurs in CD - B cells that express BLV / M. Takahashi, S. Tajima, S.N. Takeshima [et al.] // *Microbes Infect.* – 2004. – N. 6. – P. 584-595.

220. Takeshima, S.N. BLV-CoCoMo-qPCR-2: improvements to the BLV-CoCoMo-qPCR assay for bovine leukemia virus by reducing primer degeneracy and constructing an optimal standard curve / S.N. Takeshima, Y. Kitamura-Muramatsu, Y. Yuan [et al.] // *Arch Virol.* – 2015. – N. 160. – P.1325-1332.

221. Takeshima, S.N. Development of a direct blood-based PCR system to detect BLV provirus using CoCoMo primers / S.N. Takeshima, S. Watanuki, H. Ishizaki [et al.] // *Arch Virol.* – 2016. – N.161. – P. 1539-1546.

222. Tawfeeq, M.M. Evaluation of gene expression in peripheral blood cells as a potential biomarker for enzootic bovine Leukosis/ M.M. Tawfeeq, N. Horiuchi, Y. Kobayashi [et al.] // *J Vet Med Sci.* – 2013. – N.75. – P. 1213-1217.

223. Tozser, J. Comparative studies on retroviral proteases: substrate specificity/ J. Tozser // *Viruses.* – 2010. –N. 2. – P. 147-165.

224. Trainin, Z. The direct and indirect economic impacts of bovine leukemia virus infection on dairy cattle/ Z. Trainin, J. Brenner // *Israel Journal of Veterinary Medicine.* – 2005. – N. 60. – P. 90-105.

225. TroNo., K.G. Seroprevalence of bovine leukemia virus in dairy cattle in Argentina: comparison of sensitivity and specificity of different detection methods/ K.G. TroNo., D.M. Perez-Filgueira, S. Duffy [et al.] // *Vet Microbiol.* – 2001. – N. 83. – P. 235-248.

226. VanLeeuwen, J.A. Seroprevalence of antibodies against bovine leukemia virus, bovine viral diarrhea virus, *Mycobacterium Avium* subspecies paratuberculosis, and *Neospora caninum* in dairy cattle in Saskatchewan. / J.A. VanLeeuwen, L. Forsythe, A. Tiwari [et al.] // *Can Vet J.* – 2005. – N. 46. – P. 56-58.

227. VanLeeuwen, J.A. Seroprevalence of infection with *Mycobacterium Avium* subspecies paratuberculosis, bovine leukemia virus, and bovine viral diarrhea virus in maritime Canada dairy cattle/ J.A. VanLeeuwen, G.P. Keefe, R. Tremblay [et al.] // *Can Vet J.* – 2001. – N. 42. – P. 193-198.

228. Villalobos-Cortés, A. Enzootic bovine leucosis and the risk to human health / A. Villalobos – Cortés // African Journal of Biotechnology. – 2017. – N. 16(15). – P. 763-770.

229. Voneche, V. The 19-21 amino acid fragment of gp51 adopts an amphiphilic structure and plays a key role in the fusion events induced by bovine leukemia virus/ V. Voneche // J. Biol. Chem. – 1992. – V. 67. – P. 15193-15197.

230. Wang, C.T. Bovine leukemia virus infection in Taiwan: epidemiological study / C.T. Wang // J Vet Med Sci. – 1991. – N. 53. P. – 395-398.

231. Willems, L. The major homology region of bovine leukaemia virus p24gag is required for virus infectivity in vivo / L. Willems, P. Kerkhofs, L. Attenelle [et al.] // J Gen Virol. – 1997. – N. 78(3). – P.637-640.

232. Willems, L. Attenuation of bovine leukemia virus by deletion of R3 and G4 open reading frames/ L. Willems, P. Kerkhofs, F. Dequiedt [et al.] // Proc Natl Acad Sci U S A. – 1994. – N 91. – P. 11532-11536.

233. Yang, Y. Bovine leukemia virus infection in cattle of China: Association with reduced milk production and increased somatic cell score / Y. Yang, W. Fan, Y. Mao [et al.] // J Dairy Sci. – 2016. – N. 99(5). – P. 3688-3697.

234. Yuan, Y. Detection of the BLV provirus from nasal secretion and saliva samples using BLV-CoCoMo-qPCR-2: comparison with blood samples from the same cattle/ Y. Yuan, Y. Kitamura–Muramatsu, S. Saito, H. Ishizaki, M. Nakano., S. Haga, K. Matoba, A. Ohno., H. Murakami, S.N. Takeshima, Y. Aida // Virus Res. – 2015. – N. 10. – P. 248-254.

235. Zaghawa, A. An outbreak of enzootic bovine leukosis in upper Egypt: clinical, laboratory and molecular–epidemiological studies/ A. Zaghawa, D. Beier, I.H. Abd El-Rahim [et al.] // J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health. – 200. – N. 49. – P. 123-129.

236. Zhang, R. Lack of association between bovine leukemia virus and breast cancer in Chinese patients/ R. Zhang, J. Jiang, W. Sun [et al.] // Breast Cancer Res. – 2016. – N. 18(1). – P.101.

237. Zhao, X. Natural genetic variations in bovine leukemia virus envelope gene: possible effects of selection and escape/ X. Zhao, G.C. Buehring // *Virology*. – 2007. – V. 366. – P. 150-165.

238. Zhao, X.R. Sequence polymorphisms in the long terminal repeat of bovine leukemia virus: evidence for selection pressures in regulatory sequences/ X.R. Zhao, C. Jimenez, H. Sentsui [et al.] // *Virus Res.* – 2007. – N. 124. – P.113-124.

ПРИЛОЖЕНИЯ

Рекомендации Комитета по Этике

ФГБОУ ВО Саратовский Государственный медицинский университет
им. В.И. Разумовского Минздрава России

по протоколу № 1 от 04.09 2016 года

диссертационного исследования на соискание ученой степени

кандидата ветеринарных наук

аспиранта кафедры микробиологии, биотехнологии и химии

ФГБОУ ВО Саратовский ГАУ

Радионова Романа Владимировича

«Изучение влияния молока инфицированных и больных энзоотическим лейкозом коров на организм лабораторных животных»

Представлены в комиссию: аннотация планируемой диссертации, протокол исследования, выписка из протокола заседания ученого совета Факультета ветеринарной медицины, пищевых и биотехнологий об утверждении темы, паспорт на используемый для анестезии животных препарат (диэтиловый эфир).

Планируется на основании широкого распространения среди животных и потенциальной опасности для человека вируса лейкоза крупного рогатого скота провести исследования по выяснению возможности *BLV* интегрироваться в клетки гетерологичных организмов, в частности крыс линии Wistar, и провоцировать у них паталогические изменения.

Методы исследования: клинический, гематологический, биохимический, молекулярно-генетический, патоморфологический, гистологический, цитологический, морфометрический.

Используемые средства: Крысы будут разделены на 3 равные группы из расчета 2-3 самки на 1 самца, содержаться в идентичных условиях на полноценном рационе (зерно, трава, овощи, фрукты) и ежедневно получать вволю свежее сырое коровье молоко. Крысы будут содержаться в виварии Саратовского ГАУ в стандартных клетках для лабораторных крыс (545x395x200 мм) с кормушками и ниппельными поилками.

Фиксировать крыс при взятии крови планируется мануально путем иммобилизации в специализированном рукаве из плотной ткани. Перед аспирацией крови хвост крысы будет помещен в теплую воду на 2 минуты для лучшего наполнения латеральной хвостовой вены. Для гематологических и молекулярно-биологических исследований будут использованы пробирки со стабилизатором КЗ ЭДТА, для биохимических и серологических - с клот-активатором (PUTH, Россия).

Присутствие или отсутствие вируса BLV в крови экспериментальных животных будет устанавливаться методом классической полимеразной цепной реакции (ПЦР) с применением набора ЛЕЙКОЗ (ИнтерЛабСервис, Россия) и собственных разработок - мультиплексной ПЦР (патент РФ № 2615465) с целью исключения часто сопутствующей лейкозу *BIV*-инфекции. Амплификация и учет результатов будет осуществляться на оборудовании T100 и GelDoc XR PLUS (BioRad, США).

Выявление специфических противолейкозных антител в сыворотке крови крыс будет осуществляться методом твердофазного иммуоферментного анализа (ИФА) с применением набора для выявления антител к вирусу лейкоза крупного рогатого скота в сыворотке крови и молоке иммуоферментным методом (вариант №1 - скрининг) производства ФКП "Курская биофабрика - фирма "БИОК" (Россия).

Общий анализ крови (ОАК) будет проведен с помощью анализатора гематологического автоматического Abacus Junior 5 vet и оригинальных расходных материалов ("Diatron MI Zrt.", Венгрия). Биохимические исследования будут проведены на анализаторе StatFax 3300 с применением реагентов производства АО "ДИАКОН-ДС" (Россия).

Выводиться из эксперимента животные будут постепенно способом эвтаназии путем смещения шейных позвонков при предварительной аэрозольной анестезии

диэтиловым эфиром с целью вскрытия и дальнейшего изучения патоморфологических, гистологических и цитологических изменений.

Цитологические изменения в селезенке будут детектированы путем световой иммерсионной микроскопии мазков-отпечатков (x1600), окрашенных с использованием набора Лейкодиф 200 (Erba Lachema, Чехия) с применением микроскопа Армед XS-90 (Россия).

Все исследования подопытных крыс будут проводиться на базе структурных подразделений ФГБОУ ВО Саратовский ГАУ: ЦКП «Молекулярная биология», НИЛ «Геном», УНТЦ «Ветеринарный госпиталь».

Планируемое исследование с участием лабораторных животных будет проходить с соблюдением необходимых нормативных актов (Приказом Минздрава СССР «О мерах по дальнейшему совершенствованию организационных форм работы с использованием экспериментальных животных» № 755 от 12.08.1977; Приказом Минздрава РФ «Об утверждении правил лабораторного практикума» № 266 от 19.06.2003).

В связи с вышеизложенным планируемое исследование Радионова Романа Владимировича может считаться не противоречащим основам медицинской этики. Дополнительные рекомендации комиссия не дает.

Председатель комитета
доктор медицинских наук,
профессор кафедры факультетской
терапии лечебного факультета



Е. А. Наумова

Секретарь

О.Н. Семенова

«04» 09 2018 года

Подписи

ЗАВЕРЯЮ

Начальник ОК



РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

**ПАТЕНТ**

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2646831

Лекарственная композиция и способ ее применения для профилактики и терапии диспепсических состояний новорожденных телят, полученных от инфицированных лейкозом коров

Патентообладатель: *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова" (RU)*

Авторы: *Радионов Роман Владимирович (RU), Красникова Екатерина Сергеевна (RU)*

Заявка № 2017114186
 Приоритет изобретения 25 апреля 2017 г.
 Дата государственной регистрации в Государственном реестре изобретений Российской Федерации 07 марта 2018 г.
 Срок действия исключительного права на изобретение истекает 25 апреля 2037 г.

Руководитель Федеральной службы по интеллектуальной собственности

Г.П. Ивлиев



УТВЕРЖДАЮ

Руководитель СПК Мартынов
Константин Владимирович
_____ Мартынов К.В.
«15»_апреля 2017 г.

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по научной и
инновационной работе
ФГБОУ ВО Саратовский ГАУ
_____ И.Л. Воротников
«17»_апреля 2017 г.

А К Т

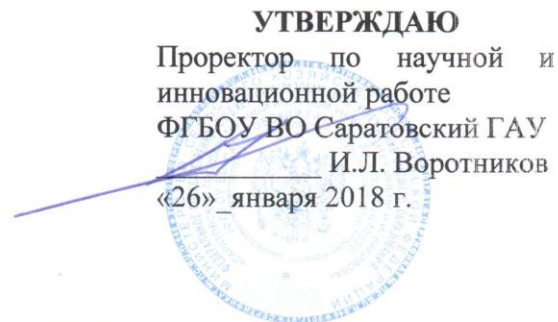
**о производственном испытании
и внедрении научных исследований**

Мы, нижеподписавшиеся, представители СПК Мартынов К.В. ветеринарный врач хозяйства Бурлаков А.Н. составили настоящий акт о том, что разработанная аспирантом кафедры микробиологии, биотехнологии и химии ФГБОУ ВО Саратовский ГАУ Радионовым Романом Владимировичем (научный руководитель к.б.н. доцент Красникова Е.С.) композиция для лечения и профилактики диспепсических состояний телят, полученных от инфицированных лейкозом коров, прошла производственную апробацию в СПК на поголовье в количестве 228 новорождённых телят. Эффективность разработки заключалась в повышении сохранности полученного молодняка до 100%, снижении развития диспепсических осложнений у телят неонатального периода на 21-30% и увеличении привесов молодняка первых дней жизни на 30-33% по сравнению с традиционными способами профилактики и лечения диспепсии телят неонатального возраста.

Разработанная композиция показала высокую эффективность при внедрении в деятельность СПК и может быть рекомендована для лечения и профилактики диспепсических состояний телят, полученных от инфицированных лейкозом коров.

Руководитель СПК
Мартынов Константин Владимирович

Ветеринарный врач СПК
Бурлаков Александр Николаевич



АКТ О ВНЕДРЕНИИ

Предмет внедрения: лекарственная композиция для лечения и профилактики диспепсических состояний телят, полученных от *BLV*-инфицированных коров.

Кем предложен: аспирантом кафедры микробиологии, биотехнологии и химии ФГБОУ ВО Саратовский ГАУ Радионовым Романом Владимировичем и научным руководителем аспиранта, доцентом кафедры микробиологии, биотехнологии и химии ФГБОУ ВО Саратовский ГАУ Красниковой Екатериной Сергеевной.

Источник информации: заявка на выдачу патента РФ № 2017114186/15(024798) от 25.04.2017г.

Где и кем внедрено: главным ветеринарным врачом Тамалинской районной СББЖ Новиков Д.Г.

Цель внедрения: повышение экономической эффективности животноводства.

Ответственные за внедрение: Главный ветеринарный врач Тамалинской районной СББЖ Новиков Д.Г.

Результаты внедрения:

- достигнута 100% сохранность поголовья телят неонатального периода, полученных от *BLV*-инфицированных коров;
- в 3 раза снижены убытки, связанные с уменьшением показателя среднесуточного прироста массы тела телят с диспепсическими явлениями;
- в 2,6 раза снижены прямые затраты, связанные с лечением диспепсии новорожденных телят.

Эффективность внедрения: экономическая эффективность предложенной авторами схемы лечения составила -1,14 рублей на 1 рубль затрат, в то время как при лечении телят по традиционной схеме с применением антибиотика этот показатель составлял 5,42 рублей убытка на 1 рубль затрат.

Главный ветеринарный врач
 Тамалинской районной СББЖ

/Новиков Д.Г./

УТВЕРЖДАЮ

Председатель колхоза «Заря»,
Тамалинского района, Пензенской
области

 Ромашкин А.Н.
«20» марта 2018г.

**УТВЕРЖДАЮ**

Проректор по научной и
инновационной работе
ФГБОУ ВО Саратовский ГАУ

 И.Л. Воротников
«23» марта 2018 г.

**А К Т****о внедрении результатов научных исследований**

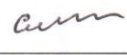
Комиссия в составе: председателя комиссии Ромашкина А.Н., главного зоотехника Сычёва В.В., заведующий МТФ Сухов Ю.М., установила, что применение разработки, описанной в патенте РФ №2646831 «Лекарственная композиция и способ ее применения для профилактики и терапии диспепсических состояний новорожденных телят, полученных от инфицированных лейкозом коров» (авторы Радионов Р.В. и Красникова Е.С.) является высоко эффективным способом повышения рентабельности животноводства. Внедрение разработанной авторами методики лечения диспепсических состояний телят в колхозе «Заря», полученных от BLV-инфицированных коров позволило снизить затраты, связанные с лечением телят в 4,75 раз по сравнению с использованием традиционного способа терапии.

Председатель комиссии

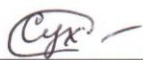


/ Ромашкин А.Н. /

Члены комиссии:



/Сычёв В.В./



/Сухов Ю.М./

УТВЕРЖДАЮИП Глава КФХ Князькова Антонина
Фёдоровна

Князькова А.Ф.

«01» сентября 2018 г.

**УТВЕРЖДАЮ**Проректор по научной и
инновационной работе
ФГБОУ ВО Саратовский ГАУ

И.Л. Воротников

«03» сентября 2018 г.

**А К Т****о внедрении результатов НИР в производство**

Мы, нижеподписавшиеся, автор и разработчик внедряемой методики ассистент кафедры болезней животных и ветеринарно-санитарной экспертизы ФГБОУ ВО Саратовский ГАУ Радионов Роман Владимирович и ветеринарный врач КФХ Цибин А. И. составили настоящий акт в том, что внедрение предложенного Радионовым Р.В. способа профилактики диспепсических состояний телят, полученных от инфицированных лейкозом коров, (патент РФ №2646831) позволило избежать прямого экономического ущерба, причиняемого диспепсией телят, в размере 48 777,88 рублей за 8 календарных месяцев 2018 года.

Ассистент кафедры болезней животных
и ветеринарно-санитарной экспертизы
ФГБОУ ВО Саратовский ГАУ

/Р.В. Радионов/

Ветеринарный врач

/Цибин А.И./

