

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN
SERIES OF AGRICULTURAL SCIENCES

ISSN 2224-526X

Volume 3, Number 39 (2017), 121 – 125

Z. A. Latypova, Sh. T. Sarbakanova, S. B. Mamanova, K. T. Kasymova, J. N. Keneskhan

LLP "Kazakh scientific research veterinary institute", Almaty, Kazakhstan.
E-mail: zalinal@list.ru, sholpan.sar@mail.ru, sal.71@mail.ru, antimulatka@mail.ru

**RESULTS OF THE SEROLOGICAL, HEMATOLOGICAL,
MOLECULAR-GENETIC RESEARCH ON LEUKOSIS
OF BULLMANUFACTURERS OF «BLACK-PESTROY»
AND «ALATAU» ROCKS**

Abstract. The article presents the data of diagnostic studies (RID, ELISA, PCR and hematological analysis) of bulls-producers of black and motley and Alatau breeds, cultivated in the territory of farms of North Kazakhstan and Almaty region. It is known that leukemia of cattle is found in all regions of Kazakhstan. To date, the main diagnostic methods for the detection of infected and leukemic animals are RID and ELISA, in rare cases, use of hematological analysis. PCR, to determine proviral DNA in the blood of the animal, is not deserved, is used extremely rarely. The data of 25 samples obtained from bulls-producers, proviral DNA of the bovine leukemia virus was detected in 7 RID negative samples and 5 ELISA negative samples from bulls producing black-and-white breeds. Thus, 9 black-and-white breed bulls were infected with the bovine leukemia virus, which indicates a high diagnostic value of PCR, which allows to additionally detect 39.1% of the percentage of infected VLDRS animals.

Key words: leukemia, bulls-producers, black-motley, Alatau breed, RID, ELISA, PCR, hematology.

УДК 619.616-006

З. А. Латыпова, Ш. Т. Сарбаканова, С. Б. Маманова, К. Т. Касымова, Ж. Н. Кенесхан

ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт», Алматы, Казахстан

**РЕЗУЛЬТАТЫ СЕРОЛОГИЧЕСКИХ, ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ,
МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ
БЫКОВ-ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ «ЧЕРНО-ПЕСТРОЙ»
И «АЛАТАУСКОЙ» ПОРОД НА ЛЕЙКОЗ**

Аннотация. Приведены данные диагностических исследований (РИД, ИФА, ПЦР и гематологического анализов) быков-производителей черно-пестрой и алатауской пород, разводимых на территории хозяйств Северо-Казахстанской и Алматинской областей. Известно, что лейкоз крупного рогатого скота встречается во всех областях Казахстана. На сегодняшний день основными диагностическими методами определения инфицированных и больных лейкозом животных является РИД и ИФА, в редких случаях используют гематологический анализ. ПЦР для определения провирусной ДНК в крови животного не заслужено применяется крайне редко. Приведены данные исследованных 25 проб, полученных от быков-производителей: провирусная ДНК вируса лейкоза КРС обнаружена в 7 РИД отрицательных образцах и 5 ИФА отрицательных образцах у быков-производителей черно-пестрой породы. Таким образом, 9 быков-производителей черно-пестрой породы оказались инфицированы вирусом лейкоза КРС, что указывает на высокую диагностическую ценность ПЦР, которая позволяет дополнительно выявлять 39,1% процент инфицированных ВЛКРС животных.

Ключевые слова: лейкоз, быки-производители, черно-пестрая, алатауская порода, РИД, ИФА, ПЦР, гематология.

Введение. Лейкоз крупного рогатого скота считается одним из самых проблематичных заболеваний в вопросах оздоровления и профилактики. Он распространен на всех континентах и во всех странах мира. Широким распространением болезней наносит огромный вред животноводству страны, что связано преждевременной выбраковкой продуктивных коров, снижением продуктивности животных, качества молока, сокращением сроков эксплуатации, а также затратами на проведение противолейкозных мероприятий. Все это ставит под угрозу сохранение племенных стад, ведение селекционно-племенной работы с целью совершенствования продуктивных качеств молочного скота [1-6].

До настоящего времени основным и единственным методом борьбы с лейкозом КРС является выбраковка и изоляция инфицированных животных. Поэтому эффективность проведения противолейкозных мероприятий (быстрое и радикальное устранение источника инфекции) зависит от ранней и достоверной диагностики [7].

В нашей стране, согласно утверждённым методическим указаниям по диагностике лейкоза КРС, диагностические исследования на лейкоз проводят гематологическими, серологическими, молекулярно-генетическими, клиническими и патоморфологическими методами.

По мнению ряда авторов для ускоренного полного оздоровления стад отлейкоза целесообразно совместно с РИД и непрямым ИФА использовать методы, выявляющие непосредственно вирус или провирус у инфицированных животных. Перспективной в этом направлении является полимиразная цепная реакция (ПЦР), позволяющая выявлять провирусную ДНК в крови животного [8-10].

Таким образом, целью данной работы было диагностическое исследование быков-производителей черно-пестрой и алатауской пород на лейкоз, серологическими (РИД, ИФА), гематологическими и молекулярно-генетическими (ПЦР) методами анализа.

Методы исследований. Объектом исследований является кровь от 25 быков-производителей черно-пестрой (23 быка) и алатауской (2 быка) пород.

Для забора проб крови у быков-производителей черно-пестрой и алатауской породы и дальнейших серологических, гематологических, молекулярно-генетических исследований осуществляли выезд в хозяйства Северо-Казахстанской и Алматинской областей. Диагностические исследования быков-производителей на лейкоз проводили методами РИД, ИФА и ПЦР. Также для выявления больных лейкозом животных применяли гематологический анализ. Отбор проб проводили в соответствии с ГОСТ Р 51447-99, ГОСТ 27262-87. В исследованиях применялось сертифицированное и поверенное службой Метрологического контроля оборудование. Для проведения РИД использовались наборы для серологической диагностики лейкоза согласно ТУ10-19-442-87. Для определения вирусносительства применяли ИФА и ПЦР. Проведение ИФА осуществляли с помощью диагностического набора для выявления антител к антигену вируса лейкоза КРС методом непрямого иммуноферментного анализа (ТОО «БИцентр», РК). Наличие провирусной ДНК ВЛКРС выявляли методом классической полимеразной цепной реакции с использованием тест-системы «Лейкоз», произведенной ФБУН ЦНИИЭ, согласно наставлению. Гематологический анализ проводили на автоматическом гематологическом анализаторе MS4-3.

Результаты исследований. Результаты диагностических исследований крови быков –производителей двух пород приведены в таблице.

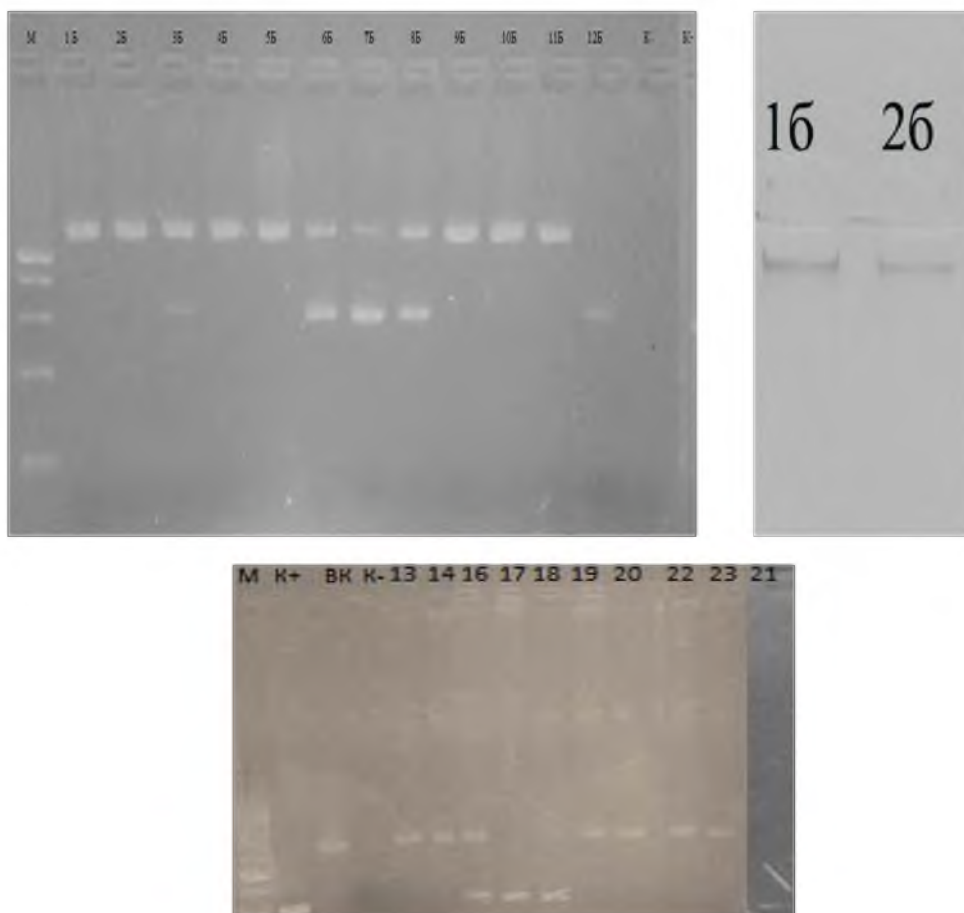
Из приведенных в таблице 1 данных видно, что из 25 быков-производителей черно-пестрой и алатауской пород, исследованных на лейкоз гематологическим, РИД и ИФА методами, выявлен 1 бык с характерными на лейкоз изменениями в крови и 2 сомнительных, сероположительных на лейкоз в РИД 3 головы, что составляет 13,0 % и в ИФА - 5 голов (21,7 %).

С целью определения инфицированных вирусом лейкоза животных проведено диагностическое исследование быков-производителей методом ПЦР на выявление ДНК провируса ВЛКРС. Учет результатов ПЦР – анализа проводили по наличию или отсутствию на электрофореграмме специфической амплифицированной ДНК, результаты исследований приведены на рисунке.

Как видно из рисунка, в анализируемых образцах 3, 6, 7, 8, 12, 15, 16, 17, 18 обнаружена ДНК провируса лейкоза КРС.

Результаты гематологических, серологических исследований
быков производителей черно-пестрой и алатауской пород

№ пробы	Инвентарный номер	Год рожд.	Лейкоциты m/mm^3 WBC	Лимфоциты % LYM	РИД	ИФА
Черно-пестрая порода						
1	KZT183018743	2015	14,98	58,1	-	-
2	KZT157721063	2015	12,79	65,8	-	-
3	KZT183018702	2015	13,46	58,8	-	-
4	KZT157721036	2015	17,27	53,3	-	-
5	KZT157757012	2014	12,37	74,2	-	-
6	KZT157757025	2014	11,35	71,2	-	-
7	KZT157757007	2014	15,15	80,4	+	+
8	KZT157757014	2014	6,38	81,4	-	+
9	KZT157757044	2014	10,24	63,7	-	-
10	KZT157721069	2015	7,30	73,7	-	-
11	KZT157721070	2015	9,72	61,2	-	-
12	KZT157721061	2015	11,25	74,2	-	+
13	KZT 157720904	2015	5,43	82,8	-	-
14	KZT157720598	2014	4,20	87,7	-	-
15	KZT157720775	2015	7,96	89,3	-	-
16	KZT157720624	2014	4,87	87,2	-	-
17	KZT157720783	2015	6,05	71,3	-	-
18	KZT157720945	2015	5,22	93,3	+	+
19	KZT157720690	2014	3,56	92,1	+	+
20	KZT157720636	2014	3,72	84,6	-	-
21	KZT157720933	2015	6,29	94,8	-	-
22	KZT157720968	2015	6,18	90,5	-	-
23	KZT157721009	2015	8,26	84,4	-	-
Алатауская порода						
24	1803	2014	-	-	-	-
25	93	2014	-	-	-	-
Итого			1 - положит.; 1 - сомнительных		3	5



Электрофореграмма продуктов ПЦР-амплификации в агарозном геле

Так, из 25 исследованных проб, полученных от быков производителей черно-пестрой и алатауской пород, провирусная ДНК вируса лейкоза КРС обнаружена дополнительно в 7-ми РИД отрицательных образцах (3, 6, 8, 12, 15, 16, 17) и 5-ти ИФА отрицательных образцах (3, 6, 15, 16, 17) у быков-производителей черно-пестрой породы. Однако 1 проба дала положительный результат в РИД и ИФА, но не была определена методом ПЦР, такие результаты могут быть обусловлены заражением другим серотипом ВЛКРС, в отличие от выявляемого диагностическим набором ПЦР.

Таким образом, из 25 обследованных быков-производителей черно-пестрой и алатауской пород 9 быков черно-пестрой породы, что составляет 39,1% оказались инфицированными ВЛКРС.

Выводы. В результате работы установлено, что проведенные диагностические исследования крупного рогатого скота молочных пород на лейкоз методом РИД, ИФА, ПЦР и гематологического анализа, выявили инфицированных и больных на гематологической стадии животных, носителей провируса ВЛКРС, при этом методом ПЦР выявляются носители вируса лейкоза среди РИД и ИФА отрицательных животных.

Финансирование. Работа выполнена в рамках проекта МОН РК по грантовому финансированию №4644/ГФ4 «Разработка критериев оценки устойчивости к лейкозу животных отечественных типов крупного рогатого скота Казахстана».

REFERENCES

- [1] Simonyan G.(2009) Effective and without a flawed method of combating LRCS [Rosselkhozakademiya]. P. 413-416.
- [2] Gulyukin M.I. and others (2007) Anti-epizootic measures in cattle leukemia in farming and personal subsidiary farms of citizens [Recommendations] -14 С (In Moscow).
- [3] Yakupov T.R., Khazipov N.Z., Kozlov A.S.(2009) Diagnosis of leukemia of cattle by immunoassay analysis of milk. Yakupov et al. [Questions of regulatory legal regulation in veterinary medicine] №4.-With. 99-100.
- [4] Khrantsov V.V. and others (2008) Peculiarities and efficacy of antiepzootic measures in cattle leukemia abroad [Diagnosis, prevention and treatment of animal diseases] -With. 53-56.(In Novosibirsk).

- [5] Mustafayev A.R. Epizootology and measures to combat leukemia of cattle in the Republic of Dagestan. Dis. Can. vet. nauk.-Shchelkovo.-148 p.
- [6] Bakhtakhunov Yu.Kh., Baramova Sh.A., Aitlessova R.B. (2011) Leukemia of cattle and measures to combat it [Vestnik of Agricultural Science of Kazakhstan]. №12. - P. 25-55.
- [7] Kovalyuk N.V., Satsuk V.F., Machulskaya E.V. (2007) Modern methods of diagnosis of leukemia of cattle. Journal [Veterinary Medicine of the Kuban] Number 1 for, <http://www.kubanvet.ru>.
- [8] Kamalov V.B. (2006) Leukemia of cattle in the Republic of Tatarstan and measures to combat it. The dissertation author's abstract on competition of a scientific degree of the candidate of veterinary sciences, P-24 (In Kazan)
- [9] Vorobiev A.L., Serikbaeva D., Antyukhov V.M. [Leukemia cattle: diagnosis and recovery problems] <http://borona.net>.
- [10] Gorkovenko L., Kovalyuk N., Satsuk V. (2006) [The problem of leukemia can be solved more quickly, Livestock of Russia] December, P.39-40.

З. А. Латышова, Ш. Т. Сарбаканова, С. Б. Маманова, К. Т. Касымова, Ж. Н. Кеңесхан

Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институты, Алматы, Қазақстан

**ЛЕЙКОЗГА «АЛАТАУ» ЖӘНЕ «ҚАРА-АЛА» ТҰҚЫМДАРЫНЫҢ
БҰҚАЛАРЫНА ЖҮРГІЗІЛГЕН СЕРОЛОГИЯЛЫҚ, ГЕМАТОЛОГИЯЛЫҚ
ЖӘНЕ МОЛЕКУЛЯРЛЫ –ГЕНЕТИКАЛЫҚ ЗЕРТТЕУЛЕРДІҢ НӘТИЖЕЛЕРІ**

Аннотация. Мақалада Солтүстік-Қазақстан және Алматы облыстарының аумағындағы шаруашылықтарда бұқалардың кара-ала және Алатау тұқымдарының диагностикалық зерттеулері (РИД, ИФА және гематологиялық нәтижелері) көрсетілген. Қазақстанның барлық облыстарында ірі кара малдарының лейкозы кездесетіні белгілі. Бүгінгі таңда жұқтырған және лейкозбен ауырған жануарларды анықтау негізгі диагностикалық әдіс РИД және ИФА болып табылады, сирек жағдайда гематологиялық анализді пайдаланады. ПТР-сін жануар қанындағы провирусты ДНҚ анықтау үшін өте сирек пайдаланады. Мәліметте көрсетілген бұқалардан алынған 25 қан үлгілерінде, ірі кара малында лейкоз вирусының провирус ДНҚ-ның 7 РИД және 5 ИФА кара-ала тұқымды бұқалардың теріс үлгілерінде табылды. Осылайша кара-ала тұқымды бұқалардың тоғыз ірі кара малының лейкоз вирусын жұқтырғаны байқалды, бұл ПТР – нің жоғары диагностикалық құндылығын көрсетеді, қосымша 39,1 % ірі кара малдарының жұқтырғанын анықтауға мүмкіндік берді.

Түйін сөздер: лейкоз, бұқалар, кара-ала, алатау тұқымы, РИД, ИФА, ПЦР, гематология.