

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования  
«ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ СЕВЕРНОГО ЗАУРАЛЬЯ»

# ЛЕЙКОЗ

## КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Учебное пособие



МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования  
«Государственный аграрный университет Северного Зауралья»  
Институт биотехнологии и ветеринарной медицины  
Кафедра инфекционных и инвазионных болезней

## **ЛЕЙКОЗ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА**

Учебное пособие

(для студентов специальности 36.05.01 Ветеринария)

Текстовое (символьное) электронное издание

Редакционно-издательский отдел ГАУ Северного Зауралья

Тюмень 2024

© Ю. В. Глазунов, В. Н. Домацкий, А. А. Никонов,  
А. М. Иванюшина, Л. А. Глазунова, Я. А. Кабицкая,  
И. Г. Упорова, А. А. Гальцева, Д. А. Устюгова, 2024  
© ФГБОУ ВО ГАУ Северного Зауралья, 2024

ISBN 978-5-98346-189-5

УДК 636.2:616.4

ББК 48.73

**Рецензенты:**

младший научный сотрудник лаборатории акарологии, ВНИИВЭА – филиал ТюмНЦ СО РАН, кандидат ветеринарных наук А. А. Эргашев; доцент кафедры незаразных болезней сельскохозяйственных животных, Институт биотехнологии и ветеринарной медицины, ФГБОУ ВО ГАУ Северного Зауралья, кандидат ветеринарных наук В. А. Куртеков

**Лейкоз крупного рогатого скота** : учебное пособие / Ю. В. Глазунов, В. Н. Домацкий, А. А. Никонов, А. М. Иванюшина, Л. А. Глазунова, Я. А. Кабицкая, И. Г. Упорова, А. А. Гальцева, Д. А. Устюгова. – Тюмень : ФГБОУ ВО ГАУ Северного Зауралья, 2024. – 120 с. – URL: <https://www.gausz.ru/nauka/setevye-izdaniya/2024/glazunov.pdf>. – Текст : электронный.

Учебное пособие представляет собой фундаментальные данные по лейкозу крупного рогатого скота и результаты экспериментов по изучению возможности трансмиссивной передачи ВЛКРС В пособии описаны методики расчёта интенсивности эпизоотического процесса, сбора, хранения и культивирования слепней и иксодовых клещей, методики пробоподготовки и молекулярно-генетических исследований. Представлена ретроспективная и текущая ситуация эпизоотического процесса по лейкозу в Тюменской области и результаты экспериментов по изучению возможности резервации трансмиссии вируса лейкоза крупного рогатого скота в теле кровососущих членистоногих. Учебное пособие может быть использовано преподавателями и обучающимися при изучении дисциплины «Эпизоотология и инфекционные болезни», «Вирусология» и «Паразитология» для специальности 36.05.01 Ветеринария, всех форм обучения и аспирантами специальностей 1.5.17 Паразитология, 4.2.3 Инфекционные болезни и иммунология животных и 4.2.2 Санитария, гигиена, экология, ветеринарно-санитарная экспертиза и биобезопасность для закрепления аудиторной и организации самостоятельной работы обучающихся.

Учебное пособие рассмотрено, одобрено и рекомендовано к изданию методической комиссией Института биотехнологии и ветеринарной медицины Государственного аграрного университета Северного Зауралья (протокол № 4 от 19 декабря 2024 года).

Текстовое (символьное) электронное издание

© Ю. В. Глазунов, В. Н. Домацкий, А. А. Никонов, А. М. Иванюшина,  
Л. А. Глазунова, Я. А. Кабицкая, И. Г. Упорова, А. А. Гальцева,  
Д. А. Устюгова, 2024

© ФГБОУ ВО ГАУ Северного Зауралья, 2024

## Содержание

Введение	5
1. Общая характеристика лейкоза крупного рогатого скота	7
1.1. Болезнь, возбудитель, его морфологическая характеристика	7
1.2. Патогенез	9
1.3. Симптомы	14
1.4. Иммунология лейкоза	15
1.5. Диагностика	16
1.5.1. Дифференциальный диагноз	17
1.5.2. Клиническая диагностика	17
1.5.3. Патологоанатомические и гистологические методы	17
1.5.4. Иммунофлюоресцентный метод	17
1.5.5. Методы бактериоскопии мазков	18
1.5.6. Цитохимические методы	18
1.5.7. Гематологический метод	18
1.5.8. Серологическая диагностика	19
1.5.9. Полимеразная цепная реакция	19
1.5.10. Современные проблемы диагностики лейкоза крупного рогатого скота	24
1.5.11. Анализ эпизоотического процесса	26
1.6. Пути передачи лейкоза крупного рогатого скота	26
1.6.1. «Горизонтальная» трансмиссия	26
1.6.1.1. Гематогенный путь	26
1.6.1.2. Контактное распространение	27
1.6.1.3 «Вертикальная» трансмиссия	27
1.6.1.4. Паравертикальная передача ВЛКРС	28
1.7. Трансмиссивный путь передачи	29
1.7.1. Общая характеристика слепней как трансмиссивных переносчиков	30
1.7.2. Процесс кровососания	30
1.7.3. Переваривание крови и созревание яиц	31
1.7.4. Экспериментальное заражение насекомых путем кормления на больных животных	32
1.7.5. Характеристика слепней территории Тюменской области	33
1.7.6. Общая характеристика иксодовых клещей как трансмиссивных переносчиков	33
1.7.7. Процесс кровососания и пищеварения у иксодовых клещей	33
1.7.8. Экспериментальное заражение иксодовых клещей	35
Глава II. Методология и методы исследований лейкоза	36
2.1. Материал исследования	37
2.2. Методы исследования	37
2.2.1. Методика изучения эпизоотической ситуации по лейкозу крупного рогатого скота в Тюменской области	37
2.2.2. Методика сбора слепней для проведения опыта	38
2.2.3. Методика подсадки слепней на инфицированных животных	40
2.2.4 Методика взятия крови у слепней для диагностики	40
2.2.4.1 Определение вируса лейкоза в теле слепней	40
2.2.4.2 Диагностика крови зараженных слепней методом ПЦР	41
2.2.2.1. Материалы и оборудование	41
2.2.2.2. Принцип действия наборов реагентов ПЦР-анализа	42
2.2.2.3. Пробоподготовка	42
2.2.2.4. Постановка ПЦР	44

2.2.2.5. Проведение электрофореза	44
2.2.2.6. Обработка результатов анализа	46
2.2.3. Методика определения видов	47
2.2.4. Методы сбора и определения иксодовых клещей	47
2.2.5. Проведение молекулярно-генетических исследований иксодовых клещей	51
2.2.6. Метод статистической обработки данных	55
2.3. Физико-географическая характеристика районов исследования	56
2.3.1. Тюменская область	56
Глава III. Результаты и их обсуждение	60
3.1. Эпизоотическая ситуация по лейкозу крупного рогатого скота в Тюменской области	60
3.2 Анализ эпизоотической ситуации по лейкозу крупного рогатого скота в Тюменской области 2024 году в различных физико-географических подзонах	70
3.3. Распространение лейкоза крупного рогатого скота на предприятиях различных форм собственности в Тюменской области	72
3.4. Анализ возможного пути передачи вируса лейкоза крупного рогатого скота через слепней, встречающихся на территории Тюменского района	77
3.5. Распространение иксодовых клещей среди крупного рогатого скота, инфицированного вирусом лейкоза, в Тюменской области	78
3.6. Подготовка культуры для изучения возможности трансвариальной и трансфазной передачи вируса лейкоза крупного рогатого скота	85
3.7. Изучение возможности резервации вируса лейкоза крупного рогатого скота в имаго <i>D. reticulatus</i>	89
3.8. Изучение возможности трансвариальной передачи вируса лейкоза крупного рогатого скота в имаго <i>D. reticulatus</i>	90
3.9. Изучение возможности трансфазной передачи вируса лейкоза крупного рогатого скота в имаго <i>D. reticulatus</i>	94
ВЫВОДЫ	98
Список литературы:	100

## Введение

Лейкоз - Leucosis – хроническая инфекционная болезнь опухолевой природы. Возбудитель лейкоза крупного рогатого скота (ВЛКРС, BLV) - РНК-содержащий вирус семейства Retroviridae.

Инфекционный лейкоз крупного рогатого скота носит энзоотический характер и зарегистрирован на всех континентах в десятках стран мира. Это, прежде всего, заболевание гемолимфопоэтической системы с опасным разрастанием кроветворных тканей, нарушением процесса созревания клеток и усиленным образованием молодых форм [197-199].

Использование, ввезенных из-за рубежа, животных для повышения продуктивности местных пород скота уже к концу XIX и началу XX столетия привело к широкому распространению лейкоза в странах Западной Европы, как среди импортных, так и местных пород скота вследствие перезаражения последних [46].

Официальная регистрация лейкоза крупного рогатого скота в нашей стране началась в 1965 году. С этого времени идет неуклонный рост числа больных и инфицированных животных, а многочисленные попытки справиться с болезнью в большинстве случаев оказываются безуспешными.

В последние годы положение существенно изменилось [70,78,127,138,146]. Наибольших успехов в изучении вируса лейкоза крупного рогатого скота, расшифровки патогенетических особенностей проявления инфекции и собственно неопластического процесса, разработки методов прижизненной диагностики достигли исследователи США, Бельгии, Германии, Японии. Им принадлежит приоритет в открытии возбудителя, получении антигена вируса и разработке тест-системы РИД и ИФА для диагностики лейкоза крупного рогатого скота [101,102].

Экономический ущерб от лейкоза крупного рогатого скота достигает значительных размеров и складывается из недополучения молока, приплода, ограничений в реализации молока и племенного молодняка, преждевременной выбраковки коров и быков-производителей, утилизации туш, расходов на проведение оздоровительных мероприятий [33,35157]. В связи с тем, что единственным способом борьбы с лейкозом является выбраковка инфицированных и больных животных, то при проведении противолейкозных мероприятий страдает селекционный процесс, что не позволяет развивать в полной мере отечественный генофонд.

В настоящее время в Российской Федерации и за рубежом лейкоз представляет потенциальную опасность для генофонда племенного молочного скота, и, при отсутствии планомерной борьбы с ним, эпизоотической неблагополучие может приобрести глобальные

масштабы [100]. Подсчитано, что среди заразных болезней крупного рогатого скота удельный вес лейкоза занимает более 50% [9]. Тем не менее, несмотря на резкое сокращение поголовья продуктивных животных, заболеваемость крупного рогатого скота лейкозом продолжает прогрессивно нарастать [134, 12].

Контролировать распространение инфекционных болезней возможно только при нейтрализации всех путей их передачи. Ветеринарные правила, направленные на предотвращение распространения и ликвидацию очагов лейкоза крупного рогатого скота от 24.03.2021 года, предусматривают купирование всех известных векторов передачи вируса лейкоза, тем не менее это не сдерживает распространение инфекции. Так, часть предприятий, содержащих животных вирусоносителей и больных лейкозом коров используют комбинированную систему содержания, выпасая инфицированных животных на пастбищах в летний период, где они постоянно подвергаются нападению кровососущих насекомых и клещей.

На большей территории Российской Федерации в теплое время года широко распространены кровососущие насекомые и клещи, недооценивать их роли в участии циркуляции заболеваний инфекционной природы, в том числе лейкоза крупного рогатого скота, нельзя. Необходимо выяснить возможность трансмиссивной передачи и реализовывать профилактические мероприятия с учетом новых данных.

В настоящее время доказаны факты резервации вируса лейкоза кровососущими двукрылыми и клещами после питания на инфицированных и больных животных [36,84,102]. Способность членистоногих длительное время сохранять в своем организме инфекционное начало может являться опасным фактором, способствующим поддержанию неблагополучия территорий по лейкозу крупного рогатого скота.

Больные и инфицированные лейкозом коровы секретируют молоко, которое содержит большое количество свободного триптофана, метаболиты которого обладают канцерогенными свойствами опасными для человека, тоже самое касается и мяса [1,18,114,115,159,166,181,209]. Поэтому существует предположение о связи с увеличением онкологических болезней у человека и употреблением продукции животноводства, полученной от крупного рогатого скота больного или инфицированного вирусом лейкоза крупного рогатого скота [19].

## 1. Общая характеристика лейкоза крупного рогатого скота

В конце прошлого века все лейкозы по морфологии были разделены на 2 группы: острые и хронические.

Группу острых лейкозов объединяет общий признак - субстрат опухоли составляют молодые (бластные) клетки. Исходя из схемы кроветворения, можно говорить о том, что острые лейкозы в основном представлены либо клетками-предшественниками II и III классов, либо клетками IV класса. Название разным формам острого лейкоза дали нормальные предшественники опухолевых клеток: миелобласты, эритробласты, лимфобласты и др. Острый лейкоз из морфологически неидентифицируемых клеток II и III классов получил название не дифференцируемого.

В группу хронических лейкозов входят дифференцирующиеся опухоли системы крови, основной субстрат которых составляют созревающие и зрелые клетки (например, лимфоциты при лимфолейкозе) [30].

По утверждению Ю.П. Смирнова КРС чаще болеет лейкозом в возрасте 4-7 лет [142,145].

### 1.1. Болезнь, возбудитель, его морфологическая характеристика

В 1950 году появилось несколько сообщений об обнаружении вирусоподобных элементов в крови больных лейкозом [120,121], но точная причина возникновения лейкозов была неизвестна. Существующие по этому вопросу взгляды могли быть выделены в виде двух теорий: теория инфекционного происхождения лейкозов и опухолевая теория лейкозов [5]. Первые доказательства этиологической роли вирусов в развитии лейкозов представили Ellermann и Vanu, которые осуществили прививку лейкоза кур бесклеточными фильтрами [155,156].

В 2000 г. Международный комитет по таксономии вирусов (МКТВ) представил современную классификацию и номенклатуру вирусов позвоночных, согласно которой ретровирус лейкоза крупного рогатого скота относится к РНК-содержащим вирусам подсемейства Orthoretrovirinae семейства Retroviridae, к роду *Deltaretrovirus* или онковирусу типа С [17]. Составляющие семейства — онкогенные, или ретровирусы, РНК-геномные, репродуцирующиеся через ДНК-интермедиат с помощью обратной транскрипции, с альтернативным диморфным существованием в виде зрелых вирусных частиц (межклеточная передача инфекции) или провируса (ДНК-копии вирусной РНК) в геномах зараженных гемопоэтических и иных клеток (персистенция, онкогенез, горизонтальная передача инфекции) [103,105].

Ретровирусы таксономически различаются по видам хозяев и строго видоспецифичны (не отмечено никакой эпидемической значимой естественной полипатогенности), что также может



быть обусловлено «сверхспецифичностью» их интимных паразито-хозяйинных взаимоотношений с клетками на самом глубоком, генетическом и биохимическом уровне паразитизма. Вирус ЛКРС — экзогенный ретровирус, опасности для человека и животных других видов не представляет. Обратная стратегия генома вируса ЛКРС и всех ретровирусов как патогенов представляет предел эволюционного совершенства паразитизма с сохранением их биологических видов на уровне только генотипа и полной утратой фенотипических признаков (структура, морфология, размножение). Это объясняет многие особенности патобиоза при лейкозе, прежде всего злокачественное перерождение клетки-хозяина и репродукцию вирусного генома в контексте неограниченной пролиферации трансформированных лимфоцитов, абсолютную иммунную эвазию в отношении тривиальных эффекторов противовирусной защиты, отсутствие как врожденного, так и приобретенного протективного иммунитета, внутриклеточную передачу инфекции по эпизоотической цепи. Вирус ЛКРС сходен с другим дельтаретровирусом — возбудителем Т-клеточного лейкоза человека по всем свойствам с точки зрения геномной организации, вирусологии, патологии, эпидемиологии. Оба вируса вызывают хронические лимфопролиферативные заболевания с поражением В-клеточной (КРС) и Т-клеточной (человек) систем, соответственно. Индуцированные ими инфекции принципиально схожи, с гемоконтактной передачей содержащих провирус лимфоцитов инфицированных животных или человека, чрезвычайно длительным инкубационным периодом, выраженной стадийностью развития, отсутствием хронической вирусемии, персистирующим лимфоцитозом, инфильтрацией лимфоидных органов с развитием клинического лейкоза у 1...5 % инфицированных. В виду такой общности результаты большинства исследований и имеющиеся данные относительно обоих дельтаретровирусов могут быть перекрестно и с большим эффектом экстраполированы в отношении как ЛКРС, так и ТКЛЧ [101,103,176].

Ретровирусы обладают значительной генетической изменчивостью. Вирусная персистенция — один из возможных механизмов формирования новых значимых эпидемических штаммов. Не все штаммы вызывают опухоли, так как вирусный геном включает не только онкогены хозяина, но и гены-супрессоры, препятствующие превращению нормальных клеток в опухолевые [65,138,139].

В.А. Крикун утверждает, что интегрированный в геном В-лимфоцитов ВЛКРС остается недоступным для воздействия специфических антител и персистирует в организме на протяжении всей жизни животного [90].

Внутри вириона находится нуклеопротеид, со спиральным типом симметрии диаметр его 12-17 нм, длина до 1 мкм. Нуклеопротеид окружен белковой мембраной и заключен в капсид, имеющий симметрию икосаэдра. Все эти структуры образуют сердцевину вирионов диаметром 70-80 нм. Сердцевина окружена липопротеидной оболочкой, на которую погружены с наружной стороны гликопротеиды вируса, образующие шипики в форме барабанных палочек диаметром 7 нм или сферических частиц.

Геном онковирусов представляет собой димер двух идентичных одонитчатых РНК, соединенных на 5'-конце водородными связями. Каждая молекула РНК имеет коэффициент седиментации в сахарозе 35S (весь геном 60-70S). В состав вирионов входит низкомолекулярная 4S-РНК, представляющая собой клеточную транспортную РНК. На 5'-конце 35S-РНК находится «шапочка», на 3'-конце — полиаденилатовая последовательность. Геномная РНК имеет позитивную полярность и способна функционировать, как и РНК. Геном содержит 4 гена, расположенных следующим образом: от 5'-конца к 3'-концу gag pol (обратная транскриптаза), env,src-онкоген, т.е. ген, вызывающий злокачественную трансформацию клеток [21,127,147].

Некоторые авторы утверждают, что в структуре ВЛКРС наряду с генами (5') ДКП-gag-pol-env-tat-ДКП (3') существует ген x, расположенный рядом с длинным концевым повтором ДКП (3') и имеющий длинные открытые считывающие структуры. Однако ген x нельзя рассматривать как гомолог вирусного онкогена, поскольку он не имеет клеточного протоонкогена-двойника. Белок x-гена играет ключевую роль в инициации лимфопролиферативного процесса и бласттрансформации лимфоцитов [139].

В.А. Бусол утверждает, что геном ретровирусов может существовать в различных формах: РНК в вирусных частицах; провирусной ДНК в геноме клеток; неинтегрированной ДНК в ядре и цитоплазме; РНК-транскриптов в клетке [23].

Ретровирусы, размножаясь путем почкования поддерживают продуктивную инфекцию, не вызывая гибели клетки-хозяина.

Цикл репродукции ретровирусов состоит из двух четко различающихся фаз. Фаза I состоит в синтезе провируса и в его интеграции с ДНК клетки-хозяина, а фаза II – в экспрессии провирусной ДНК и созревании новых вирионов [24]. По утверждениям некоторых авторов ретровирусы с помощью фермента ревертазы способны синтезировать ДНК-копии в ходе так называемой обратной транскрипции [4;96,97].

## 1.2. Патогенез

Лейкоз КРС - это хроническое заболевание с длительным латентным периодом [15,17].

Патогенетическая мишень вируса ЛКРС — зрелые В-лимфоциты фенотипа CD5+ IgM+ . Эта субпопуляция клеток образуется как одна из ветвей лимфоцитопозеза в направлении «про-В → пре-В → В-лимфоциты», далее делящемся на две ветви В-1 и В-2. В-2-лимфоциты фенотипа CD5- — главная субпопуляция и анатомический субстрат гуморального звена адаптивного приобретенного иммунитета, дифференцирующаяся под действием антигенов и интерлейкинов в плазматические клетки — продуценты антител тривиальных классов IgM, IgG, IgA, IgE с многочисленными подклассами. Особенностью

В-1, или CD5+IgM+В-лимфоцитов, является их меньшая дифференцированность, ранний ответ на антигенные детерминанты линейного типа (через 48 ч после контакта), образование антител ограниченной специфичности, преимущественно ранних (класса IgM), в основном, к Т-независимым наиболее общим полисахаридным антигенам бактерий, неспособность трансформироваться в клетки памяти. В течение жизни пул В-1-лимфоцитов поддерживается за счет активности специализированных клеток-предшественников, не происходящих из костного мозга. Их доля в общей популяции В-клеток составляет около 5%, анатомическая ниша — приборьерные брюшная и плевральная полости [204]. В-1-лимфоциты скорее факторы врожденного (naïve), неспецифического, чем адаптивного, специфического иммунного ответа. Синтезируемые ими антитела не имеют значительного разнообразия переменных участков молекул иммуноглобулинов, ограничены в репертуаре распознаваемых антигенов, активны в отношении компонентов клеточных стенок наиболее распространенных бактерий. Все В-1-лимфоциты представляют общий, не строго специализированный, но определенно ориентированный антибактериальный клон. Переключение классов иммуноглобулинов в В-1-лимфоцитах, за исключением IgM, не «предусмотрено». Преобладающая часть антител в сыворотке крови здорового человека — продукты синтеза В-1-лимфоцитов, относительно полиспецифичные иммуноглобулины антибактериального назначения [204]. Мишеневая роль В-лимфоцитов фенотипа CD5+ IgM+ при ЛКРС заключается в том, что именно они являются единственными мононуклеарными клетками периферической крови, подверженными персистирующему лимфоцитозу. Хотя у инфицированного КРС провирус лейкоза обнаруживался в В-лимфоцитах других фенотипов, а также в Т-лимфоцитах фенотипов CD2+ , CD3+ ,  $\gamma$  /  $\delta$  и даже в хорошо известных функционально Т-хелперах и киллерах (CD4+ и CD8+ ), в моноцитах и гранулоцитах, их провирусная нагрузка в десятки раз ниже и не сопровождалась злокачественной трансформацией [199,200,205]. Принципиально аналогичны мишеневая роль при ТКЛЧ Т-лимфоцитов фенотипа CD4+ (хелперов), обнаружение провируса в клетках периферической крови других типов: CD8+ Т-, В-лимфоцитах, дендритных клетках [185,192]. Перечисленные радикальные особенности В-лимфоцитов фенотипа CD5+ IgM+ — независимость от костномозговых клеток-предшественников, иммунологическая наивность, ограниченные анатомическая локализация и протективное значение могут в определенной мере служить гипотетическим объяснением предпочтительности их использования вирусом ЛКРС в качестве патогенетических мишеней. Физиологическая сущность и роль их в качестве анатомической мишени объясняет также отсутствие при ЛКРС приобретенного вирусного иммунодефицита (типа СПИД'а с поражением CD4+ Т-лимфоцитов-хелперов как

важнейшего звена адаптивного клеточного иммунитета), кроме некоторого снижения резистентности к банальным инфекциям в поздней ГЕМ-позитивной стадии. Механизм, с помощью которого вызывается неконтролируемая вирусиндуцированная не зависящая от интерлейкина-2 пролиферация CD5+ IgM+ В-лимфоцитов, не выяснен. Вирус ЛКРС не имеет известного онкогена и не интегрируется в предпочитаемые участки геномов клеток-хозяев. Полноразмерный провирусный геном сохраняется у каждого животного на протяжении всего течения заболевания. При этом как большие, так и малые делеции провирусных геномов — очень редкие события [176,103].

Стадии инфекционного процесса при ЛКРС, как и других онкологических заболеваниях, характеризуются очень медленным, последовательным многоэтапным развитием с продолжительной инкубацией от нескольких месяцев до многих лет.

*Инкубационный период* заболевания протекает в две фазы, отражающие диморфизм существования ВЛКРС. Первичная острая инфекция аллогенных лимфоцитоминфектов в организме зараженного животного сопровождается репродукцией вируса и его распространением в популяции интактных лимфоцитов последнего. Естественно инфицированные лимфоциты даже в условиях продуктивной инфекции практически не производят полноценных внеклеточных инфекционных частиц вируса ЛКРС. Передачу и распространение инфекции обеспечивают специфический межклеточный контакт, большие поверхностные интерфейсы, называемые вирусными или инфекционными синапсами, инвагинация и слияние клеточных мембран. Прямым свидетельством этого является поляризация цитоскелета инфицированной клетки, концентрация нуклеокапсидных комплексов в местах контактов и их межклеточный переход, установленные на примере вируса ТКЛЧ. Аналогичный механизм использования нормальной физиологии мишеневых клеток стереотипен и для других лимфотропных ретровирусов, в частности, вируса иммунодефицита человека [187,189,206]. Именно этим объясняется отсутствие при лейкозе КРС тривиальной вирусемии и делящихся клеток в крови на протяжении всего хронического течения инфекции, локализация пролиферирующих лейкозных клеток в лимфоузлах и селезенке, где обеспечиваются их тесные межклеточные структурные контакты. Развивающийся в ответ на размножение вируса клеточный иммунитет вновь зараженного организма в течение первых недель прерывает продуктивную инфекцию, осуществляя негативную селекцию лимфоцитов, репродуцирующих вирусные частицы. В данном случае иммунологическому распознаванию и разрушению цитотоксическими Т-лимфоцитами-киллерами подвергаются инфицированные лимфоциты, репродуцирующие вирус ЛКРС и воспроизводящие инфекционный цикл его развития с антигенной модуляцией последних структурными компонентами нового вируса, экспонированными на их клеточной мембране. Суть негативной селекции в том, что при этом остаются интактными трансформированные лимфоциты с прерванным инфекционным циклом на стадии ДНК провируса в клеточной хромосоме, то есть содержащие

провирус, но не воспроизводящие новый вирус и антигенную модуляцию клеточных мембран, делающую их мишенями эффекторов противоклеточного иммунитета. Злокачественно трансформированные клетки, способные начать неограниченную пролиферацию с моно- или олигоклональной экспансией и тем самым пассивной репродукцией инфекта, обеспечивают ему абсолютную иммунную эвазию и объясняют отсутствие протективного иммунитета при ЛКРС. При этом, как показано на модели ТКЛЧ, развивается состояние хронической адьювантной стимуляции лимфоцитарного звена, и активированная таким образом иммунная система организма, казалось бы, предназначенная для защиты от инфекции, в этих условиях парадоксально ускоряет межклеточное распространение вируса и кинетику лимфоцитоза [186].

Инфекция переходит во вторую фазу со становлением персистенции, в течение которой количество лимфоцитов с провирусом достигает 1 % от общего пула циркулирующих В-лимфоцитов крови, то есть более 50 тысяч структурных единиц инфекта в мл, или 1000 в капле крови [108,184]. Тем не менее, в ходе персистентной фазы инкубационного периода развивается гуморальный иммунный ответ на отдельные вирусспецифические антигены — продукты ограниченного и замедленного функционирования вирусного ДНК-интермедиата в составе генома медленно пролиферирующего лимфоцита-хозяина. По этой причине процесс накопления антител достаточно продолжителен: серопозитивность в пределах чувствительности реакции радиальной иммунодиффузии, общепринятой для ее регистрации (стадия РИД-позитивности), возникает через шесть месяцев после заражения и ретроспективно прямо указывает на инфицированность животных.

Выделяют два наиболее важных и функционально маркерных белка вируса ЛКРС — структурные мажорные антигены р24, внутренний, капсидный белок, кодируемый геном gag (gag-белок), и gp51, наружный, оболочечный гликополипептид, кодируемый геном env2. Их экспрессия и, соответственно, образование антител коррелируют с интенсивностью лейкозного процесса. Сильный иммунный ответ и титры антител на капсидный и оболочечный антигены развиваются у лейкоэмичных животных. Слабый ответ, главным образом на р24, характерен для алейкемичного состояния. Поскольку большинство инфицированного, но алейкемичного скота не вырабатывают антитела к оболочечному gp51, представляется, что их отсутствие может быть хорошим маркером состояния «безопасного инфицирования» [190].

*Лейкемичная стадия* (ГЕМ-позитивность) ЛКРС, гематологически регистрируемая с концентрации > 10 тысяч лимфоцитов/мкл крови, развивается только у ~ трети РИД-позитивных. Остальные инфицированные животные (70 % и более) остаются в алейкемическом состоянии в качестве бессимптомных провирусоносителей. Алейкемичные особи могут быть идентифицированы только по наличию провируса с помощью ПЦР и / или антителам к вирусным антигенам. Если содержание лимфоцитов в крови интактного КРС в среднем составляет 5000/мкл, то для достижения стартового уровня ГЕМ-позитивности путем клональной пролиферации онкогенно трансформированных клеток, несущих провирус, это количество должно быть удвоено. Отсюда одной из основных патогенетических характеристик кинетики опухолевого роста при

лимфолейкозах является продолжительность периода воспроизведения, дополнительного удвоенного числа лимфоцитов или время удвоения их количества (ВУКЛ) [195,198].

Развитие клеточного клона при лимфоцитозе определяется имманентными свойствами лимфоцита независимо от этиологии и характеризуется определенной скоростью прироста клеток, которая, как установлено на модели хронического лимфоцитарного лейкоза человека, варьирует от 0,1 до более 1,0% клона в день. На активно прогрессирующий патологический процесс указывает экспоненциальный характер ежедневного прироста пролиферирующих лимфоцитов в этом диапазоне, начиная с 0,35% [195,198].

Скорость прироста лимфоцитов обуславливает ВУКЛ (продолжительность периода воспроизведения их дополнительного удвоенного количества). При скорости 0,1 и 1,0 % результаты представляют «выпадающие» величины и не приемлемы для экстраполяции на ЛКРС. При 0,35%-м приросте для удвоения потребуется около семи лет с экспоненциальными признаками, весьма характерными для лимфоцитоза. Это позволяет определить вариации скорости удвоения количества лимфоцитов в этом диапазоне для инкубационных периодов развития ГЕМ-позитивности при ЛКРС различной продолжительности; например, при наиболее реальной средневзвешенной продолжительности в пять лет скорость прироста будет равна 0,47 %.

Именно такой графический паттерн лимфопрролиферативного процесса обуславливает облигатность неординарного по длительности инкубационного периода и экспоненциальную кинетику последующих стадий ЛКРС. В отличие от транзиторных лейкомоидных реакций при воспалительных процессах, зачастую присутствующих у коров на фоне сопутствующих заболеваний, таких как - маститы, эндометриты, гнойная патология нижних отделов конечностей, лимфоцитоз при ЛКРС имеет персистентный характер.

*Стадия ГЕМ-позитивности* в обычных зоотехнологических условиях отечественного животноводства с относительно непродолжительной продуктивной жизнью молочных коров (в среднем три лактации) не сопровождается какими-либо регистрируемыми клиническими отклонениями. Но медленно прогрессирующий, неуклонный рост количества циркулирующих лимфоцитов со значительным превышением физиологических уровней (в исключительных случаях до многих десятков тысяч клеток в мкл крови) теоретически может приводить у более старых животных к драматическим последствиям, сходным с таковыми при хорошо изученных вирусных иммунодефицитах классического типа — СПИД'е человека и кошек (недостаточная защита от широко распространенных условно-патогенных микроорганизмов и оппортунистических инфекций, прежде всего маститов, факторных респираторных и кишечных болезней, гнойно-воспалительной патологии).

*Опухолевая стадия (конечная, летальная)* с образованием лимфосарком за счет прогрессивного неконтролируемого накопления клона злокачественно перерожденных инфицированных лимфоцитов, увеличением лимфоидных (лимфоузлов, селезенки) и других внутренних органов наступает, как правило, в возрасте не менее восьми лет лишь у 1...5 %, то есть у старых животных [180]. Аналогичная возрастная подверженность онкологической патологии стереотипна и при ТКЛЧ [176,198]. С точки зрения саморегуляции инфекционной паразитарной системы неблагополучные хозяйственные группировки животных популяционно неоднородны по перечисленным трем стадиям течения ЛКРС в зависимости от их возрастного состава, зоотехнологической структуры, числа лактаций. Общеизвестно, что инфицированность КРС в молочном хозяйстве значительно возрастает, начиная с третьей лактации. Принципиальной особенностью эпизоотического процесса и энзоотичности ЛКРС является уже клинический диморфизм — состояние скрытой инфицированности, абсолютное количественное и хронологическое преобладание инкубационного периода течения, по сути криптической формы инфекции на протяжении всей продуктивной жизни и собственно болезнь в патологическом смысле, чрезвычайно редкие, спорадические случаи манифестной формы лимфосаркоматоза, возникающие и реально регистрируемые только у старых животных, за пределами продуктивного возраста.

Данное обстоятельство, то есть отсутствие патологии и прямого ущерба, создавало и создает реальные препятствия в контроле заболевания и эпизоотической обстановки в целом как с точки зрения профессиональной ветеринарии, так и прежде всего зоотехнологического менеджмента («нет болезни — нет проблемы») [103].

### **1.3. Симптомы**

Для ранней стадии всех форм лейкоза диагностическое значение имеют лимфоциты. Изменения в виде лейкоцитозов являются необратимым процессом. Смена же лейкоцитарной картины крови с приближением к нормальной носит временный характер [111].

Четко выявляется недостаточность или потеря способности кроветворных клеток к дифференциации, что приводит к продукции неполноценных клеток крови, обуславливая характерные нарушения в кроветворных органах и крови [24]. По мнению Н.А. Иваненко [35] в периферической крови больных лейкозами выявляются изменения морфологической структуры эритроцитов, что обусловлено деформацией их оболочки. Это, очевидно, связано с нарушением метаболических процессов в эритроцитах.

При лейкозе в кровяное русло может поступать большее или меньшее количество незрелых и патологических форм клеток - пролимфоцитов, лимфобластов, миелоцитов,

промиелоцитов, миелобластов, промоноцитов, гемоцитобластов и ретикулярных клеток, а также клеток с делящимся ядром и другими аномалиями ядра и цитоплазмы [111].

В начальной фазе лейкоза происходит расстройство кровообращения, в патогенезе которого лежат морфофункциональные изменения эндотелия венозных сосудов [68].

По мнению Dausset и Schwarzman (1951) эндокринная система оказывает существенное влияние на возникновение и развитие лейкозов, при этом основную роль играют кортикостероидные гормоны, которые в физиологических условиях поддерживают лимфоидно-миелоидное равновесие. В то же время некоторые исследователи утверждают, что эффективность действия кортикостероидов при лейкозах является косвенным доказательством того, что гормоны участвуют в развитии этих заболеваний [170].

Наиболее часто при лейкозе находят изменения в лимфатических узлах, селезенке, костном мозге, печени, сердце, почках и сычуге. Сердце может быть увеличено в объеме. Со стороны эндокарда и на перикарде встречаются опухоли различной величины и формы. Печень увеличена в объеме, серого или светло-бурого цвета иногда с желтым оттенком. На разрезе печень бывает белого цвета, дряблой консистенции. Почки увеличены, бугристые. Под капсулой четко проступают опухоли разной величины, белого цвета дряблой консистенции. Иногда опухолевые узлы сливаются друг с другом, образуя конгломераты [109].

#### **1.4. Иммунология лейкоза**

По утверждениям ряда авторов лейкозный процесс является продуктом сложного взаимодействия различных патогенетических факторов, среди которых иммунные механизмы играют одну из ведущих ролей [13,14,16,26,59-61,93,153].

Известно несколько типов иммунологического статуса: нормальный, стимулированный, пороговый, стимулированный с дефицитом и супрессивный. Последние четыре типа рассматриваются как возможные эндогенные факторы онкологического риска [37,142,143].

В крови больного злокачественным новообразованием циркулируют опухолевые маркеры, представленные в основном белками в форме антигенов, ферментов, полипептидных гормонов и других соединений. Опухолевые маркеры либо продуцируются и секретируются клетками опухоли, либо высвобождаются в кровь другими клеточными структурами вследствие системного действия опухоли на организм. [140]. В настоящее время идет поиск генетических маркеров устойчивости к лейкозу [85,86].

В иммунологии опухолей есть две тесно связанные между собой проблемы: первая изменяет нормальную жизнь клетки - пролиферацию и дифференцировку, вторая - отношения между лейкемической клеткой и реципиентом, которые могут проявляться как



толерантность или повышенная чувствительность к соответствующим модификационным структурам. Судьба новообразованной лейкозной клетки, обладающей как вирионными, так и лейкозоассоциированными антигенами (ЛАА), в живом организме зависит от состояния иммунного надзора [36,79,86,102,150].

Длительное наблюдение за животными выявило несколько пиков гуморальной цитотоксической активности, направленной на «лейкозные» клетки. Периодам высокой цитотоксической реактивности соответствовало снижение числа клеток, экспрессирующих поверхностные антигены, ассоциированные с лейкозом крупного рогатого скота (ЛАА). Ингибция экспрессии ЛАА коррелировала со снижением содержания лимфоидных клеток в периферической крови [91,92].

Показано, что устойчивость к лейкозу контролируется геном главного комплекса гистосовместимости BoLA-DRB3 [151].

Некоторые авторы утверждают, что основные черты поведения опухолевых и трансформированных клеток определяются изменениями в структуре гликоконъюгатов [91,108,154].

Исследования других авторов показали, что основным нарушением гуморального звена иммунитета является снижение продукции антител в процессе вирусной инфекции. Установлено резкое нарушение соотношения иммуноглобулинов классов М и С [22,75].

Некоторые исследователи описали антитела, реагирующие с антигенами, общими для различных видов лимфатической лейкемии [77]. Эти антитела выявляют антигены, экспрессируемые в большей степени или исключительно на поверхности опухолевых клеток. Т.В. Голосова считает, что при различных формах лейкозов нарушения иммунологических функций неодинаковы [41].

При бактериологическом исследовании из крови здорового и больного хроническим лимфолейкозом крупного рогатого скота часто выделяют микроорганизмы, условно отнесенные к семейству Corynebacteriaceae. Установлено противоопухолевое действие препаратов из этих микроорганизмов. Известно также, что подобные препараты на основе культур коринебактерий имеют выраженный иммуностимулирующий эффект [87].

Наибольшее распространение получил лейкоз среди красной степной, чернопестрой пород крупного рогатого скота, а голштинские помеси (50% и более по кровности) характеризуются более высокой устойчивостью к лейкозу [162,163].

### **1.5. Диагностика**

Для диагностики лейкоза крупного рогатого скота предложено много различных тестов, методических приемов и способов. При этом эффективность их во многом зависит от стадии развития лейкозного процесса [55,62]. Это требует одновременного

использования нескольких методов. Весьма полезными при установлении диагноза могут быть данные эпизоотологического анализа [63].

#### **1.5.1. Дифференциальный диагноз**

Н.Н. Доронин писал, что диагноз на лейкоз устанавливают комплексным методом с учетом эпизоотологических данных, клинических признаков, патологоанатомических изменений и результатов серологических, гематологических и гистологических исследований [66]. При этом для первичного установления диагноза в благополучном хозяйстве гистологическое подтверждение прижизненного диагноза является обязательным. В последующем при проведении оздоровительных мероприятий больными определяют тех животных, у которых одновременно обнаруживают клиникогематологические и серологические изменения, характерные для лейкоза.

Дифференциальная диагностика при лейкозе крупного рогатого скота проводится в основном по результатам гематологических исследований.

#### **1.5.2. Клиническая диагностика**

Клиническая картина лейкоза представляет собой сложный симптомокомплекс, обусловленный морфологическими и функциональными изменениями в органах и тканях кроветворной системы, а также в органах и тканях, в норме не принимающих участия в кроветворении. Ведущее значение в характере проявления клинических признаков лейкоза имеет длительность инкубационного периода, форма лейкоза и скорость течения патологического процесса [66].

#### **1.5.3. Патологоанатомические и гистологические методы**

В основе патологических изменений при лейкозе лежит избыточное разрастание кроветворной ткани, как в органах системы кроветворения, так и за его пределами. Это разрастание носит или очаговый характер или равномерно инфильтрует ткани и органы с увеличением или без увеличения их объема. Характер, степень выраженности и локализация этих изменений зависят от стадии и формы лейкоза и могут варьировать в широких пределах.

Направляемые в лабораторию образцы органов фиксируют в 6% растворе формальдегида. Приготовление гистологических срезов и окраску проводят по общепринятой методике [66].

#### **1.5.4. Иммунофлюоресцентный метод**

Установлено, что в норме и при патологии у человека и животных отмечается первичная флюоресценция клеток крови и костного мозга [106,107]. У крупного рогатого скота, также, как и у человека, в крови обнаруживают флюоресциты, а свечение лейкоцитов весьма слабое. Цитоплазма лейкоцитов крови имеет весьма слабое зеленоватое свечение.

Изучение вторичной люминесценции с использованием флюорохромов при витальном и суправитальном окрашивании клеток крови больных лейкозом может использоваться для изучения качественного состава крови, определения некоторых физических и биохимических свойств лейкоцитов. Эритроциты не обладают флюоресцентными свойствами.

Для обнаружения специфических антигенов в практику широко внедряется метод иммунофлюоресцентной микроскопии. Он основан на маркировании (мечении) антител флюоресцирующими красками. Такие антитела, будучи фиксированными на гомологичном антигене, придают всему образованному комплексу свойство флюоресцировать в ультрафиолетовых лучах.

#### **1.5.5. Методы бактериоскопии мазков**

С целью дополнительного теста диагностики лейкоза у крупного рогатого скота предлагают использовать метод микроскопии пунктатов и отпечатков пораженных органов с целью выявления в клетках микроорганизмов. Однако вряд ли можно использовать этот тест в диагностической практике, так как микроорганизмы можно обнаружить лишь в 53,2% случаев. Неизвестны также природа и этиологическое значение этих микроорганизмов. Некоторые авторы считают, что возможно использование для диагностики лейкоза крупного рогатого скота обнаружения кокковидных бактерий в лимфоцитах. По их данным, бактериальные формы (глободные тельца) обнаруживаются у всех больных коров и у 30% здоровых животных. Количество глободных телец в крови животных варьирует в зависимости от тяжести патологического процесса, встречаясь в большом количестве у клинически больных и меньше - у гематологически больных животных [66].

#### **1.5.6. Цитохимические методы**

Используются для идентификации лейкозных бластных клеток. С этой целью наряду с детальными морфологическими исследованиями используются и цитохимические реакции на липиды, пероксидазу, мукополисахариды, неспецифическую эстеразу, щелочную фосфатазу и др. Исследования дают возможность выяснить, в каких клетках при данной форме лейкоза происходят изменения внутриклеточного метаболизма и их энзимохимической организации. Однако трудно проверить, что эти изменения могут оказаться специфическими для лейкоза [66].

#### **1.5.7. Гематологический метод**

Гематологическое исследование на лейкоз включает в себя главным образом количественный и качественный анализ лейкоцитов. Определение количества гемоглобина,

числа эритроцитов и тромбоцитов, а также других показателей в постановке диагноза на лейкоз имеет второстепенное значение [66,106,130,167].

#### **1.5.8. Серологическая диагностика**

Основной диагностический метод, по результатам которого проводят оздоровительные и профилактические мероприятия в неблагополучных по лейкозу хозяйствах - реакция иммунной диффузии (РИД) в геле агара с использованием гликопротеидного (gp 51) антигена ВЛКРС. Сущность его состоит в обнаружении в сыворотке крови исследуемых животных специфических преципитирующих антител к антигенам ВЛКРС, проявляющихся в крови через 2-8 недель после заражения животных ВЛКРС и сохраняющихся в организме пожизненно [32, 34,77,83].

В настоящее время для выявления сывороточных антител к антигену вируса типа С у КРС в лабораторных условиях применяют три метода: иммунной диффузии в геле агарозы (ИД), непрямой иммунофлуоресценции (ИФ) и реакцию связывания комплемента [97].

#### **1.5.9. Полимеразная цепная реакция**

ПЦР была открыта в 1984 г. К.Б. Маллисом. Метод ПЦР основан на принципе репликационного умножения числа копий небольшого фрагмента ДНК (амплификации). Двухцепочечные молекулы подвергаются расплавлению (тепловой денатурации). Каждая из цепей служит матрицей, из которой с помощью термостабильной Таq-полимеразы в присутствии олигонуклеотидов, комплиментарных к концам данного ДНК-фрагмента (праймеры), при определенном температурном режиме синтезируется комплиментарная последовательность. ДНК вновь подвергается денатурации, и на одноцепочечные молекулы, как присутствовавшие в растворе изначально, так и синтезированные в предыдущем термоцикле, вновь отжигаются праймеры. Полимераза вновь достраивает их, и процесс амплификации повторяется [6,104,123,126,136,137].

Для каждого возбудителя определяют строго специфичный для него фрагмент нуклеиновой кислоты. С помощью ПЦР амплифицируют именно этот участок и идентифицируют его методом электрофореза [45,47].

ПЦР позволяет амплифицировать также молекулы РНК. Такая система называется ОТ-ПЦР. Обратные транскриптазы имеют две основные ферментативные активности: ДНК-полимеразную и РНКазы Н. Последняя направлена на гидролиз комплексов РНК-ДНК и поэтому значительно снижает эффективность синтеза к ДНК *in vitro*. Методами генетической инженерии удалось получить варианты обратной транскриптазы с существенно сниженной активностью РНКазы Н и оптимальной активностью для синтеза к ДНК [171,133].

ПЦР-диагностика лейкоза крупного рогатого скота основывается на амплификации специфических последовательностей нуклеиновых кислот из генома BLV, которые встраиваются в ДНК хозяина во время инфекции [43,44,47,62-64,51-54,132,152]. Авторы Юдин Н.С. и др. (2018) провели работы по детальному молекулярно-генетическому анализу, направленному на изучение генов, связанных с патогенезом лейкоза крупного рогатого скота (КРС), с использованием методов биоинформатики и системной биологии. Главной целью исследования было создание каталога генов КРС и других млекопитающих, участвующих в патогенезе вирусного лейкоза, а также приоритизация этих генов для выявления наиболее значимых кандидатов, связанных с восприимчивостью или устойчивостью к вирусу лейкоза. В процессе работы был собран каталог, включающий 446 генов, отобранных на основе данных из различных открытых источников и научных исследований. Для приоритизации генов использовались семь критериев, включающих ассоциации с лейкозом по данным полногеномных ассоциативных исследований (GWAS), анализ «случай-контроль», эксперименты по нокауту у мышей, наличие белок-белковых взаимодействий с вирусными белками, аннотация с использованием Gene Ontology и участие в биологических путях Юдин Н. С., (2018).

В результате гены ранжировались по значимости на основе суммарного балла, присвоенного каждому из них. По итогам анализа были выделены пять наиболее значимых генов: TNF, LTB, BOLA-DQA1, BOLA-DRB3 и ATF2. Эти гены играют ключевую роль в иммунном ответе, регуляции воспалительных реакций и взаимодействии с вирусными белками. Например, TNF и LTB связаны с продукцией факторов некроза опухолей, регулирующих иммунные и воспалительные процессы, в то время как BOLA-DQA1 и BOLA-DRB3 относятся к генам главного комплекса гистосовместимости и ассоциированы с устойчивостью или восприимчивостью к вирусу лейкоза. Ген ATF2, являясь транскрипционным фактором, способен индуцировать экспрессию вирусного генома, усиливая активность вируса в инфицированных клетках [2,3,6,7,45,90,98,99,141,145].

В исследовании подробно описана методика полимеразной цепной реакции (ПЦР), применённая для генотипирования вируса лейкоза крупного рогатого скота (BLV). Этот метод позволил авторам амплифицировать и проанализировать определённые фрагменты генов gag и env, которые играют ключевую роль в структуре и функциях вируса [104]. ПЦР проводилась с использованием праймеров, направленных на высококонсервативные участки генома вируса, что обеспечивало точное определение генетических вариаций. В результате амплификации получали фрагменты ДНК, которые затем подвергались дальнейшему анализу с применением рестрикционных ферментов для оценки полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ). Генотипирование по гену gag

проводили модифицированным методом ПЦР-ПДРФ с использованием рестриктаз HaeIII, Nla III, Tsp 5091. Поиск консервативных последовательностей фланкирующих генов осуществляли путем сравнительного анализа 6 вариантов последовательности гена, представленных в GenBank. Структуру праймеров оптимизировали с использованием программы «Printer3 Output» 5'tgaccсаасаатсagctcag и 5'gtcgggaagggtgtcagcta. Процесс ПЦР включал в себя несколько этапов: денатурацию ДНК при высоких температурах, отжиг праймеров при оптимальных условиях и синтез комплементарной цепи ДНК с помощью термостабильной ДНК-полимеразы. Полученные продукты амплификации анализировались с помощью электрофореза в агарозном геле, что позволяло визуализировать и сопоставлять паттерны фрагментов ДНК, определяя различия в генотипах вируса. Точность и воспроизводимость метода обеспечивались строгим контролем условий реакции, включая концентрацию реагентов, температуру отжига и количество циклов амплификации.

Авторы провели исследование, направленное на изучение генетического разнообразия вируса лейкоза крупного рогатого скота (BLV) с акцентом на анализ гена gag. Главной задачей было выявление генетических различий и распределения генотипов BLV среди животных различных пород в хозяйствах Краснодарского края [13,15,149,161]. Исследование проводилось с использованием метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) и рестрикционного анализа (ПЦР-ПДРФ) с применением ферментов HaeIII, NlaIII и Tsp509I. Амплифицированные фрагменты гена gag подвергались электрофорезу, что позволило визуализировать генетические паттерны и определить принадлежность образцов к различным генотипам вируса. Результаты исследования продемонстрировали неоднородное распределение генотипов BLV среди пород скота и региональных групп. Было выявлено не менее трёх генотипов вируса, которые могут циркулировать одновременно в одной популяции. Ген gag, кодирующий белки сердцевины вируса, такие как p24, продемонстрировал высокую консервативность, что обеспечивает его надёжное использование для ранней диагностики и генотипирования BLV. Авторы подчеркнули, что некоторые генотипы вируса обладают разной степенью иммуногенности, что влияет на клинические проявления инфекции и её распространение в стадах.

Исследование было направлено на анализ генетического статуса провирусов лейкоза крупного рогатого скота (ВЛКРС) у перинатально инфицированных животных, чтобы выявить частоту заражения, уровень провирусной нагрузки и их генетическую принадлежность. Основные выводы исследования заключаются в следующем. За 2013–2022 годы частота выявления ДНК ВЛКРС среди исследуемого молодняка значительно снизилась с 14,5% до 0,4%, а в 2022 году случаи инфицирования не выявлялись

[98,106,107]. Применение метода ПЦР в реальном времени оказалось более чувствительным по сравнению с радиальной иммунодиффузией, что позволило повысить точность диагностики. Провирусы, выделенные из образцов крови, были отнесены к двум генотипам (GIV и GVII) и кладе 1. Уровень провирусной нагрузки оказался в три раза выше у молодых животных до двух лет по сравнению с месячными телятами, а у особи с генотипом GIV он был в девять раз выше, чем у GVII. Эти данные указывают на необходимость совершенствования диагностических алгоритмов для раннего выявления инфекции и предотвращения её распространения.

В проведённом исследовании Yu C et al. (2019) изучалась эпидемиология и генотипирование вируса лейкоза крупного рогатого скота (BLV) среди молочных коров в шести регионах провинции Хэйлунцзян на северо-востоке Китая. Авторы собрали 730 образцов крови с девяти ферм и применили методику nested PCR для выявления BLV и проведения филогенетического анализа. Основная цель заключалась в оценке уровня инфицированности, идентификации циркулирующих генотипов и изучении их молекулярных характеристик. Результаты показали, что инфекция была обнаружена в четырёх из шести исследованных регионов [50,73,114-145,165,]. Самый высокий уровень заражения составил 31% в районе Цзиси, тогда как в некоторых других районах он варьировался от 5% до 10%. В двух регионах, Цицихаре и Муданьцзяне, BLV обнаружено не было, что, вероятно, связано с более строгим управлением скотоводством. Филогенетический анализ показал, что в регионе циркулируют три генотипа вируса: G1, G6 и новый ранее не описанный генотип G11. Генотип G11 был выявлен в районе Харбина, и его уникальная аминокислотная последовательность в области gp51 позволила выделить его как отдельный генотип. Кроме того, была идентифицирована новая субформа G6E в районе Дачина. Анализ эпитопов показал, что вирус подвергается сильному иммунному давлению, что способствует его изменчивости, особенно в областях, связанных с нейтрализующими антителами. В некоторых случаях в пределах одной фермы были обнаружены различные генотипы, что указывает на возможность рекомбинации вирусов. Несмотря на это, новые комбинированные генотипы пока не были обнаружены.

В исследованиях Генджиевой О.Б. (2012) изучалось генетическое разнообразие вируса лейкоза крупного рогатого скота (BLV) у животных Республики Калмыкия. Основной целью работы было выявление генотипов BLV и проведение их сравнительного филогенетического анализа [95,110,129]. Для этого использовались образцы провирусной ДНК, выделенной из крови коров калмыцкой породы, которым было более пяти лет. Исследование проводилось методом полимеразной цепной реакции (ПЦР), а также последующим секвенированием и филогенетическим анализом гена *pol*. Результаты

показали, что антитела к BLV выявлялись у 77% животных серологическим методом РИД, в то время как 23% остались серонегативными. При ПЦР был обнаружен провирусный геном у 70% животных, однако наблюдались случаи несоответствия между результатами серологических и молекулярно-биологических методов. Ген *pol* BLV был амплифицирован и секвенирован, что позволило выявить изоляты вируса, имеющие высокую степень сходства с международными штаммами из таких стран, как Аргентина, Япония, Австралия и США. Например, изолят из Калмыкии показал 100%-ное генетическое соответствие с американским штаммом M16017 и 99%-ное сходство с аргентинским AF257515. Филогенетический анализ выявил, что BLV в Калмыкии принадлежит к группе изолятов, отличающихся от некоторых штаммов из США и Европы. Данные указывают на географическую неоднородность генотипов вируса. Выявленные генетические вариации предполагают возможность адаптации вируса, что выражается в снижении иммуногенности и способности избегать иммунного надзора организма-хозяина. Это создаёт риск увеличения распространения инфекции среди животных, особенно если не предпринимать своевременных мер по изоляции инфицированных особей.

В проведенных исследованиях учеными Петропавловского М.В. и др. (2018) изучалось генетическое разнообразие вируса лейкоза крупного рогатого скота (ВЛ КРС) на территории Российской Федерации и за её пределами. Целью их работы явилось выявление эпизоотологической ситуации, филогеографического распространения возбудителя, а также анализ генотипов вируса с использованием современных молекулярно-генетических методов [33,160]. Исследование включало изучение проб крови от крупного рогатого скота разного происхождения, использование серологических (РИД, ИФА) и молекулярных (ПЦР, nested-ПЦР, RFLP) методов, а также проведение секвенирования и филогенетического анализа. Вирус лейкоза крупного рогатого скота был охарактеризован как широко распространенный патоген, вызывающий злокачественные лимфопролиферативные заболевания и приводящий к значительным экономическим потерям из-за снижения продуктивности, выбраковки животных и затрат на утилизацию инфицированных туш. В мире инфекция особенно широко представлена в Северной и Южной Америке, Азии и странах Ближнего Востока. В Российской Федерации серологический скрининг ежегодно охватывает миллионы голов крупного рогатого скота, подтверждая практически повсеместное распространение вируса, особенно в таких регионах, как Челябинская и Курганская области [131]. Однако в Свердловской области благодаря длительным противолейкозным программам удалось практически полностью оздоровить стада. Исследования показали, что геном ВЛКРС содержит структурные и регуляторные гены (*gag*, *pol*, *env*), кодирующие ключевые белки вируса, такие как



трансмембранные гликопротеины gp51 и gp30, которые важны как для инфекционности вируса, так и для серологической диагностики. В результате проведенного секвенирования гена env были выделены до 10 генетических групп вируса, и изоляты из Российской Федерации классифицированы в 4, 7 и 8 генетические группы. При анализе образцов из различных регионов страны установлено доминирование бельгийского генотипа (94%) над австралийским (4%) и смешанным генотипом (2%). Проведение nested-ПЦР позволило амплифицировать участок гена env (444 bp – gp51 область), а метод RFLP с использованием рестриктаз выявил локальную генетическую вариабельность вируса. Несмотря на высокую эффективность методов, в 6% случаев были получены ложноотрицательные результаты при стандартной ПЦР, что связывалось с вариабельностью участка гена или низкой концентрацией вируса в лимфоцитах. Однако серологический скрининг (РИД, ИФА) показал полное совпадение результатов с nested-ПЦР. Основные изменения в геноме вируса были локализованы в эпитопах CD4+ и CD8+, цинк-связывающих областях и линейных эпитопах E. Эти мутации свидетельствуют о приспособительной эволюции вируса, направленной на уклонение от иммунного ответа хозяина. Полученные данные позволяют не только обновить сведения о генетических группах вируса на территории России, но и служат основой для дальнейших исследований, направленных на улучшение диагностики, контроля и профилактики лейкоза крупного рогатого скота.

В Тюменской области продолжается активная работа по внедрению эффективных протоколов ПЦР-тестирования для выявления вирусоносителей. В исследованиях Ю.В. Глазунова отмечается, что из всех проб крови, исследованных от серопозитивных животных, методы ПЦР подтвердили носительство вируса только в 73,96 % случаев. Повышенная чувствительность ПЦР-тестов способствует наиболее точному выявлению инфицированного поголовья. Такая точность позволяет разрабатывать более целенаправленные и экономически выгодные стратегии оздоровления, что в итоге приводит к снижению уровня заболеваемости и общему ослаблению эпизоотического климата [24,29,72]. Тюменская область характеризуется значительным видовым разнообразием кровососущих членистоногих. Многие виды насекомых комплекса «гнус» и иксодовых клещей имеют важное значение в патологии человека и сельскохозяйственных животных, так как участвуют в циркуляции возбудителей природно-очаговых болезней.

#### **1.5.10. Современные проблемы диагностики лейкоза крупного рогатого скота**

До недавнего времени диагностические исследования на лейкоз проводили серологическими (РИД, ИФА), молекулярно-биологическим (ПЦР), гематологическим, клиническим, патоморфологическим методами, а также биологической пробой. Основу

диагностики лейкоза крупного рогатого скота составляет РИД [77], так как инфицированность животного еще не означает развитие заболевания, для этого необходимо определенное состояние иммунной системы организма [78]. Более чувствительным является метод ИФА, который в нашей стране как массовый метод исследования не применяется в силу разных причин [44,48,49,122,159].

Для выявления больных лейкозом необходимо обязательное гематологическое исследование инфицированных ВЛКРС животных [31,32]. Причем прижизненный диагноз на лейкоз, поставленный только на основании гематологических данных, необходимо помимо тщательного клинического обследования уточнять цитологическим исследованием пунктатов косного мозга, а также результатами секционного и гистологического исследований. Причем гистологические исследования должны быть обязательными не только при установлении одного случая заболевания в хозяйстве, но и при проведении в нем оздоровительных мероприятий [8].

При этом в хозяйствах различных форм собственности допускаются гематологические исследования животных без учета результатов серологического, что влечет за собой необоснованные затраты, связанные с фиксацией животных, взятием крови, транспортными расходами, оплатой диагностических исследований и т.д. [152,148].

В соответствии с Ветеринарными правилами осуществления профилактических, диагностических, ограничительных и иных мероприятий, установления и отмены карантина и иных ограничений, направленных на предотвращение распространения и ликвидацию очагов лейкоза крупного рогатого скота, утвержденными приказом Министерства сельского хозяйства №156 от 24.09.2021 года введен молекулярно-генетический метод исследования для животных в возрасте от 15 календарных дней до 6 месяцев включительно, что позволяет проводить более эффективную диагностику лейкоза, что особенно актуально на последних этапах оздоровления ферм, так как позволит обнаруживать животных, у которых в виду иммунологической недостаточности отсутствуют антитела к ВЛКРС [60].

Система РИД+ПЦР перспективна при лейкозе КРС, так как обладает рядом преимуществ перед РИД и позволяет с высокой достоверностью одновременно выявлять максимальное количество инфицированных животных на самых ранних стадиях заболевания (до РИД-позитивности). Это существенно сокращает сроки оздоровительных противолейкозных мероприятий. Фактическое несоответствие результатов тестирования в РИД и ПЦР вполне объяснимо целевыми возможностями, технической сущностью этих методов и подтверждается результатами других исследований.

### **1.5.11. Анализ эпизоотического процесса**

Общий алгоритм эпизоотологического анализа проводится следующим образом:

1. Слежение за эпизоотической ситуацией конкретной инфекционной болезни в динамике на определенной территории с использованием характеризующих ее прямым или косвенным образом дифференциально-диагностических и прогностических критериев [56,57];
2. Обработка и анализ полученных данных [51-54,62,132];
3. Прогностические выводы: время риска, территория риска, группы риска (по возрасту, принадлежности, резистентности и т.д.), характер заболевания (этиологическая роль биоваров возбудителя, предполагающие характер течения и формы проявления);
4. Предполагаемая оптимальная схема профилактических противоэпизоотических мероприятий, позволяющая получить максимальный эффект при ее реализации в полном объеме [131,158,160, 169].

Закономерно, что наиболее точные сведения можно получить при 100%-ном исследовании скота в отдельных неблагополучных пунктах. Однако, при анализе обстановки на значительной территории такой способ получения данных о заболеваемости животных невозможен и необходимо использовать сведения, содержащиеся в документах ветеринарной отчетности. При этом зачастую отмечают неполноценность первичного учета данных официальной статистикой, что, в свою очередь, может привести к необоснованным выводам и предложениям, реализация которых может повлечь серьезные и не всегда оправданные последствия [64].

## **1.6. Пути передачи лейкоза крупного рогатого скота**

### **1.6.1. «Горизонтальная» трансмиссия**

#### **1.6.1.1. Гематогенный путь**

В 1935 году Dobberstein и Piening опубликовали результаты экспериментов. Для заражения была употреблена кровь от спонтанно заболевших животных. Положительный результат определялся получением температурной реакции перед анемией или одновременно с наступлением ее и снижения числа лейкоцитов.

Авторы пришли к следующим выводам:

1. Активность зависит от количества введенной сыворотки. При больших количествах (150-200 мл) получают лучшие результаты;
2. Прогревание сыворотки до 60° даже в течение получаса непостоянно ослабевает или уничтожает действующее начало;
3. Трехдневное воздействие добавленного 30% раствора глицерина незначительно ослабляет действие сыворотки;

4. Раствор карболовой кислоты (0,5%) при трехдневном воздействии не уничтожает активный фактор;

5. Высушенная в течение четырех недель сыворотка теряет свою активность;

6. Внутривенное или интралимфонодулярное введение сыворотки обуславливает те же результаты, что и внутривенное, но реакция несколько замедляется;

7. Сыворотка от искусственно зараженных животных оказывается менее действенной, чем полученная от спонтанно заболевших;

8. При повторных в течение пяти месяцев инокуляциях больших количеств сыворотки, реакция с каждой инокуляцией ослабевает и, наконец, совершенно исчезает. В случае же последующего введения сыворотки от нового животного реакция возобновляется и проявляется с прежней интенсивностью [15].

В настоящее же время некоторые авторы [62] указывают, что инфицирующая доза крови больного лейкозом крупного рогатого скота крайне мала (менее 0,01 мкл).

#### **1.6.1.2. Контактное распространение**

По утверждению ряда авторов контактное распространение имеет наибольшее практическое значение, поскольку лейкоз переносится в здоровые стада при вводе животных из зараженных стад [13,15,80]. При этом ВЛКРС передается ятрогенно, при нарушении правил асептики и антисептики [128].

Поскольку люди находятся в близком контакте с домашним скотом, ученые решили выяснить, не заражаются ли вирусом люди [48]. Исследовали сотни сывороток крови опухолевых больных и людей, имевших контакт с коровами, но антител и антигенов к вирусу лейкоза крупного рогатого скота обнаружено не было [31,121,159].

#### **1.6.1.3. «Вертикальная» трансмиссия**

В настоящее время у телят, полученных от больных лейкозом коров-матерей, чаще всего регистрируют заболевания инфекционного и неинфекционного характера [149]. Потомство гематологически больных и подозреваемых в заболевании лейкозом коров характеризуется признаками пониженной жизнеспособности, и относится к группе риска [161].

У коров, инфицированных ВЛКРС, в тканях плацентарного барьера обнаружены специфические изменения. В процесс вовлекаются эпителиоциты материнской и детской плацент. Изменения в них начинаются с разрушения митохондрий, исчезает двуконтурность мембран, кристы укорачиваются или полностью утрачиваются. В микроциркуляторном русле отмечено утолщение и гомогенизация стенки капилляров. В зоне контакта детской и материнской плацент обнаружались скопления лимфоцитов с гипертрофированной цитоплазмой, разрушенными митохондриями, фестончатыми

контурами и крупными ядрами. Контуры таких лимфоцитов чаще всего нечетко были очерчены. В одних случаях скопления таких лимфоцитов обнаруживались в основном в материнской части плаценты, в других в детской плаценте.

При детальном изучении котиледонарных и мекотиледонарных участков плаценты была выявлена прямая зависимость между локализацией в зоне контакта лимфоцитов-киллеров и незрелых лимфоцитов в детской части плаценты. В этом случае Т-лимфоциты-киллеры производили действие сенсibilизированных лимфоцитов, повреждающих контакт детской и материнской плацент на микроуровне, по-видимому, открывая путь для недифференцированных онкогенных лимфоцитов [66].

Также считается, что сперма инфицированных ВЛКРС быков-производителей является опасной для распространения вируса лейкоза, если в ней присутствует примеси крови [141].

#### **1.6.1.4. Паравертикальная передача ВЛКРС**

Горизонтальная передача через контакты с биологическими жидкостями инфицированных животных — основное направление распространения ЛКРС, а скот с высокой ПВН считается главным источником инфекции в стаде. Учитывая размерную «пропускную» способность плацентарного барьера и фактическое отсутствие в материнской крови внеклеточного инфекционного вируса ЛКРС независимо от уровня ПВН, реальность заражения плода во время пребывания в утробе матери минимальна и вообще сомнительна в контексте эпизоотического процесса. Тем не менее, хотя лейкоз не специфичен для неонатального периода, телята подвергаются высокому риску заражения, особенно на молочных фермах, где они принимают молозиво и/или сырое молоко естественным или искусственным путем. По данным специальных исследований, не менее 10 % телят, рожденных инфицированными коровами, заражены при рождении, в большинстве случаев через вскармливание [184,203].

Еще активнее (до 30 % и более) материнская передача ТКЛЧ [187,191].

Фактические доказательства передачи инфекции в самом раннем возрасте на достоверном статистическом материале получены путем прямого выявления вируса ЛКРС с помощью ПЦР в рамках тестирования 15-дневных телочек в ходе широкомасштабных противолейкозных мероприятий. Эффективность передачи инфекции от коров потомству, выраженная как популяционный КВП отношением превалентности инфекции (РИД-позитивности) среди взрослого скота к ПЦР-позитивности телочек, оказалась различной в разных стадах и варьировалась в пределах целого порядка — от 0,07 до 0,72. Вариабельность КВП как эпизоотологический признак оказалась весьма существенной. Высокий КВП в отдельных стадах указывал на сомнительность вывода о колостральной защите потомства при ЛКРС, в частности, в устойчивости молодняка до 5...6-месячного возраста, что а priori вряд ли возможно для клеточно-ассоциированного вируса с интегративным типом вызываемой им инфекции [185,193,194]. У телят, рожденных от коров с высокими уровнями ПВН и титров антител в крови, инфицированными мононуклеарными клетками

с провирусом в молозиве, ПВН от низкой до высокой составляла более 1 % мононуклеарных клеток их периферической крови, возрастала в течение первых 12 месяцев и сохранялась на высоком уровне в течение многих лет. Достаточно высокие исходные титры молозивных антител в сыворотке телят от 5 до 8 log<sub>2</sub> (разведения 1:32...1:256) снижались в течение 3...6 месяцев и затем снова возрастали, что является прямым свидетельством приобретения инфекции не внутриутробно, а путем контакта во время родов или через потребление инфицированного молозива/ молока (паравертикально). ПВН матерей достоверно коррелировала с частотой перинатальной передачи инфекции, достигающей, в прямой зависимости от этого, 40 % и более новорожденных телят [177,178,184,196,201,209,207].

Телята, являясь главным объектом перемещения скота, будучи инфицированными в течение первой недели жизни могут играть активную роль в раннем распространении ЛКРС. Своевременная их идентификация и элиминация может предотвратить дальнейшую передачу инфекции молодым животным и их собственному потомству.

### **1.7. Трансмиссивный путь передачи**

Кровососущие насекомые и клещи являются переносчиками многих известных заболеваний, относящихся к вирусной, бактериальной и паразитарной этиологии. Выявляя все новые носительства у кровососов необходимо учитывать практически повсеместное неблагополучие по лейкозу крупного рогатого скота и изучать возможные пути трансмиссии вируса с использованием в качестве вектора кровососущих насекомых и клещей [174,175].

Рядом автором предполагается, что в качестве факторов передачи вируса лейкоза крупного рогатого скота могут выступать кровососущие насекомые и клещи, что важно учитывать при разработке программ оздоровительных мероприятий [43,73].

До настоящего времени механизмы передачи возбудителя этого заболевания не полностью изучены учёными, возможно в трансмиссии вируса могут участвовать иксодовые клещи, насекомые комплекса «гнуc», обитающие в экосистеме.

Выдвинуто предположение, что иксодовые клещи рода *Hyalomma* способны участвовать в трансмиссивной передаче вируса лейкоза крупного рогатого скота и поэтому необходимо уделять больше внимания защите животных от кровососущих паразитов как в помещениях, так и на пастбищах [82].

Сложная ситуация по лейкозу крупного рогатого скота и отсутствие полных знаний о механизмах передачи возбудителя требует незамедлительных действий от ветеринарных специалистов по раскрытию возможных вариантов трансмиссии вируса лейкоза, особенно это касается кровососущих насекомых и клещей, которые широко распространены на территории России и представляют потенциальную угрозу для животных.

### **1.7.1. Общая характеристика слепней как трансмиссивных переносчиков**

По мнению ряда авторов [1,28,88,94,116,117,118,119] слепни являются активными переносчиками болезней среди домашних животных и отчасти человека (сибирская язва, туляремия, инфекционная анемия лошадей и др.).

В настоящее время рядом исследователей [25,179,181] продолжаются опыты по изучению возможной передачи вируса лейкоза через слепней.

Некоторые авторы [56,82,164] называют следующие факторы, определяющие специфичность взаимоотношений переносчиков и возбудителей болезней:

1. Питание и размножение возбудителей болезней позвоночных в переносчиках. [202]
2. Прохождение части жизненного цикла возбудителя в членистоногом - специфическом переносчике.
3. Относительная безвредность возбудителей для переносчиков.
4. Наличие у переносчика высокоэффективного механизма передачи возбудителя.
5. Наличие оптимальных заражающих доз для пар возбудитель - переносчик, симбиотические отношения которых носят характер выраженного, но, как правило, умеренного паразитизма.

### **1.7.2. Процесс кровососания**

У слепней обнаружено особое явление, получившее название гонотрофического цикла, сущность которого состоит в том, что переваривание принятой при питании крови и всасывание продуктов пищеварения идет параллельно с развитием яиц в яичниках; без питания яйца не развиваются. У самок слепней число периодов кладки равно числу кровососаний [175].

Самка слепня способна за одно кровососание принять до 200 мг крови [69]. Известно, что некоторые самки не сосут кровь позвоночных животных. К таким самкам относятся *T. plebejus*, *Chrysops rufipes*, *Nanorhynchus crassinervis* [112;175].

Посредством верхней губы, верхних и нижних челюстей и подглоточника насекомое делает прорез, затем разжижает кровь слюной, которую выпускает в ранку через канал, находящийся в поглоточнике и открывающийся на его конце; всасывание происходит по верхнему каналу [19]. По мнению Н.Г. Олсуфьева, при сосании самкой *Tabanus* крови участвуют все ротовые части, кроме нижней губы, при лизании сладких свободных жидкостей - только нижняя губа [112].

В слюне слепней имеется антикоагулирующее вещество, препятствующее свертыванию крови, что позволяет ей оставаться жидкой во время питания насекомого [168].

По особенностям поиска добычи слепней можно разделить на 2 группы: подстерегающих добычу и ведущих активный поисковый полет. Подстерегают добычу, сидя на растительности, главным образом мелкие слепни - златоглазки, дождевки и небольших размеров представители других родов. *Tabanus* и *Hybomitra* ведут активный поисковый лет, разлетаясь от мест выплода в поисках добычи на 5-6 км, а иногда и значительно дальше [124]. Наибольшую активность слепни проявляют с 11 до 15 ч.

Средняя продолжительность кровососания составляет 1,5-3,8 минут, а полного насыщения 2,2-6 минут [84].

### **1.7.3. Переваривание крови и созревание яиц**

У представителей семейства *Tabanidae* имеется двулопастной пищевой резервуар, стенки которого способны к сильному растяжению и сжатию [2]. Многие исследователи, изучая пищеварительную систему различных групп двукрылых, не наблюдали заполнения резервуара пищевыми массами, хотя констатировали различные степени его растяжения. Возможно, это связано с тем, что для кровососущих насекомых доказана определенная дифференциация в размещении потребляемых жидкостей. У слепней в пищевой резервуар поступает вода, растительные соки и т.д., а кровь поступает непосредственно в среднюю кишку [89].

Поглощенная кровь поступает и хранится в желудке, который при этом сильно растягивается. Часть крови сразу в момент кровососания иногда проходит через кишечник и выделяется небольшой каплей из анального отверстия самки. По замечанию Р.П. Павловой (1965) в отдельных случаях выделение крови из прямой кишки происходило до конца акта кровососания, в результате чего значительное количество ее оставалось на волосяном покрове животного. Изменения в объеме желудка согласуются с соответствующими изменениями в кишечнике и могут быть выражены в 7 стадиях по Селла [135].

В начале переваривания крови слюнные железы имеют спавшие стенки, их эпителиальные клетки с ровной или выступающей апикальной частью. С течением времени секрета в слюнных железах становится, больше после 24 часов с момента кровососания он заполняет весь просвет желез [3].

Продолжительность переваривания крови в желудке зависит от температуры среды и в благоприятных условиях проходит в 4-6 дней.



По Н.Г. Олсуфьеву у слепней до кровососания яичники малы, затем через 24 часа после кровососания кровь находится в кишечнике, яичники к этому времени становятся несколько увеличены. Через 48 часов после кровососания кровь переваривается, яичники сильно увеличены. Через 72 часа после кровососания в кишечнике нет крови, и яичники становятся зрелыми [141]. Заключительной фазой гонотрофического цикла является откладка яиц [71,73].

Tabanidae являются повторнокладущими. Г.Я. Бей-Биенко находила среди диких самок различных видов слепней особей, проделавших по одной и две кладки [50]. По данным Р.П. Павловой [114] некоторые виды слепней рода *Hybomitra* (главным образом, слепень полуденный) имеют одногодичный цикл развития, в то время как другие виды этого же рода имеют двухгодичную или более продолжительную генерацию.

#### **1.7.4. Экспериментальное заражение насекомых путем кормления на больных животных**

Для постановки такого опыта в первую очередь необходимо провести отлов насекомых. Это можно сделать с помощью энтомологического сачка или ловушки [20,113,135].

По мнению П.А. Петрищевой [125] после выдерживания насекомых в голодном состоянии им предлагают добычу в виде экспериментального животного, в крови которого циркулирует вирус. Для этой цели используют больных животных с естественным течением инфекции, для которой известны сроки наибольшей концентрации вируса в периферической крови.

Насекомых, пивших кровь, необходимо с первого дня поить слабым сахарным сиропом. Тампон должен быть всегда свежим. Допустимо лишь не более суток оставить на садке один и тот же тампон, смачивая его сиропом.

Первое контрольное исследование насекомых на содержание в них вируса делают на следующий день или вскоре после их кормления на зараженном материале, чтобы убедиться в том, что взятые для дальнейшего исследования насекомые действительно содержат в себе возбудителя. Последние исследования назначаются на 5, 10, 15, 20 25, 30 день после заражения.

Яйцекладки каждого дня или каждой пятидневки размещают по отдельным аквариумам. Каждую серию отродившихся личинок доводят до окрыления и исследуют отдельно.

Проверку на возбудителя проводят на протяжении всего метаморфоза: разные фазы развития и разные возрасты исследуют отдельно. Известно, что некоторые возбудители

активно размножаются в молодых растущих тканях. Поэтому уже в зараженных самках исходного материала можно исследовать развившиеся яичники. Также проверяют отложенные яйца, личинки разных возрастов и куколки.

Весьма важно изучить влияние питания кровью различных животных на сохранение вирулентности штаммов.

#### **1.7.5. Характеристика слепней территории Тюменской области**

К настоящему времени в Тюменской области насчитывается 60 видов слепней [149], относящиеся к родам *Hybomitra* End., *Tabanus*, *Chrysops* Mu., *Haematopota* Mg., *Atylotus* O.S. и *Neptatoma* Mg.

Самки слепней в лесной зоне Тюменской области в течение одного сезона продельывают не более 2 гонотрофических циклов. Количество 1-2 раза клавших самок достигает максимума к концу массового лета каждого вида, однако процент клавших самок среди большинства видов слепней остается достаточно высоким в течение всего сезона [115].

#### **1.7.6. Общая характеристика иксодовых клещей как трансмиссивных переносчиков**

О роли иксодовых клещей как переносчиков и резервентов возбудителей болезней известно с X-XI века. Доказана участие иксодид в распространении клещевого вирусного энцефалита (КВЭ), иксодового клещевого боррелиоза, крымской геморрагической лихорадки, лихорадки Ку, пароксизмального риккетсиоза, Крымской-Конго геморрагической лихорадки (ККГЛ), омской геморрагической лихорадки, клещевого сыпного тифа, туляремии, возбудителей гемоспориозов (бабезиоза, эрлихиоза, анаплазмоза и др.).

В литературе имеется информация о возможности сохранения до 21 дня и передаче вируса бешенства иксодовыми клещами [11].

Из приведённых литературных источников видно, что иксодовые клещи являются переносчиками многих известных заболеваний, относящихся к вирусной, бактериальной и паразитарной этиологии. Механизмы передачи вируса лейкоза не полностью изучены, возможно в передаче этой болезни могут участвовать и иксодовые клещи, обитающие в экосистеме.

#### **1.7.7. Процесс кровососания и пищеварения у иксодовых клещей**

Питание иксодовых клещей, обитающих на территории России происходит по треххозяйному типу, то есть паразит на каждой стадии развития (личинка, нимфа и имаго) питается на новом хозяине – прокормителе.

У большинства видов иксодид (все виды родов *Ixodes*, *Haemaphysalis*, *Amblyomma*, *Aponomma*, *Anomalohimalaya*, большая часть видов *Dermacentor* и многие виды *Rhipicephalus* и *Hyalomma*) за 3-6-дневным питанием личинок и нимф или 5-12-дневным питанием самок следуют отпадение напитавшейся особи и продолжение линьки или яйцекладки во внешней среде. При этом продолжительность непаразитических стадий жизненного цикла значительно дольше, чем паразитических. При треххозяинном цикле голодные личинки, нимфы и имаго должны найти своих прокормителей, которые принадлежат к разным или реже к одному виду прокормителей [10].

У части видов родов *Hyalomma*, *Rhipicephalus* и *Dermacentor* напитавшиеся личинки остаются на теле хозяина, линяют на нем в нимфальную фазу, которая вскоре приступает к питанию на той же особи прокормителя. По окончании питания напитавшаяся нимфа отпадает с хозяина и линяет в имаго во внешней среде. Подобный цикл развития называют двуххозяинным, и он связан со сменой двух особей прокормителей, принадлежащих к одному или разным видам. Соответственно встреча с хозяином обеспечивается голодными личинками и имаго. При однохозяинном цикле, характерном для всех видов родов *Boophilus*, *Margaropus*, *Anocentor* и немногих представителей родов *Hyalomma* и *Dermacentor*, личинка, нимфа и имаго питаются на одной и той же особи хозяина, и линька также происходит на его теле. В этом случае встреча с прокормителем осуществляется голодной личинкой, а во внешнюю среду отпадают напитавшиеся самки [10].

Успешное питание клеща возможно, если он сможет прорезать наружный роговой слой кожи, достаточно прочно и на длительный срок закрепиться в месте прикрепления и беспрепятственно иметь возможность отсасывать из толщи кожи хозяина кровь, воспалительный инфильтрат и продукты лизиса клеток ткани. Прорезание кожи хозяина и последующее удержание на много дней в образовавшейся в месте прикрепления ранке обеспечивается как высокоспециализированным ротовым аппаратом, так и уникальным приклеиванием клеща к коже секретом слюнных желез. Ротовой аппарат клещей относится к режуще-сосущему типу. На поверхности кожи вокруг основания хоботка застывшая слюна образует цементный футляр и хоботок оказывается, как бы замоноличенным внутри него, образуя с ним единую структуру [10].

Для иксодид принято выделять три стадии, или фазы питания на основании увеличения показателей массы тела клеща [10]. Первая - подготовительная - занимает 24-36 ч после прикрепления клеща и характеризуется низкой активностью протеолитических ферментов [177]. Вторая - стадия роста - наиболее продолжительная фаза занимает период со 2-х по 7-е суток питания, за это время происходят значительные увеличения размеров покровов, кишечника, слюнных желез, половой и выделительной системы питающегося

клеща. Последняя стадия характеризуется быстрым питанием, в результате которого клещ достигает окончательной массы за 12-24 ч до отпадения [10].

Для иксододидных клещей характерно сочетание трех форм пищеварения: внекишечного, полостного и внутриклеточного. Внекишечная фаза пищеварения, особенно развитая у иксодид, осуществляется за счет протеолитических ферментов слюны, в результате чего в кишечник всасывается гемолизированная кровь и продукты лизиса тканей хозяина. Полостное пищеварение ограничивается лишь первыми этапами физико-химического изменения крови, включающего удаление избыточной воды и солей, лизис форменных элементов крови. Основная роль в усвоении пищи, как и у других паукообразных, принадлежит внутриклеточному пищеварению, и все процессы пищеварения (за исключением внекишечного) происходят исключительно в среднем отделе кишечника [10].

### 1.7.8. Экспериментальное заражение иксодовых клещей

Для питания на больных лейкозом и инфицированных животных иксодовых клещей можно использовать как лабораторную культуру, так и особей, собранных с животных и/или с растительности [38-40].

Подсадку клещей проводить лучше в теплое время года во избежание наступления диапаузы в результате которой эксперимент затягивается или срывается (в случае гибели клещей). Для выкармливания клещей, больным или инфицированным животным подвязывали мешочки из плотной ткани или мельничного газа на ушную раковину, с помещенными в них клещами в количестве 20 особей (10 самок и 10 самцов) на одно животное (рисунок 1-4).

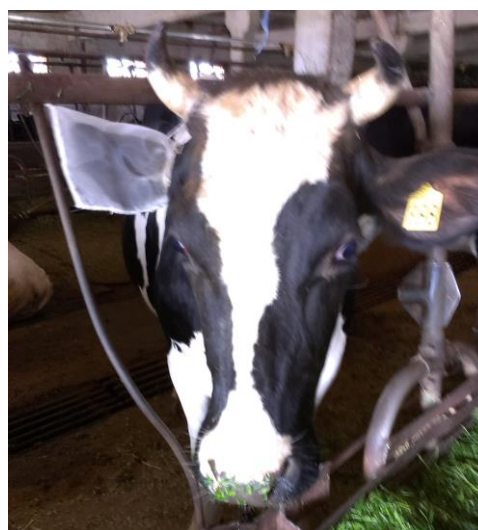
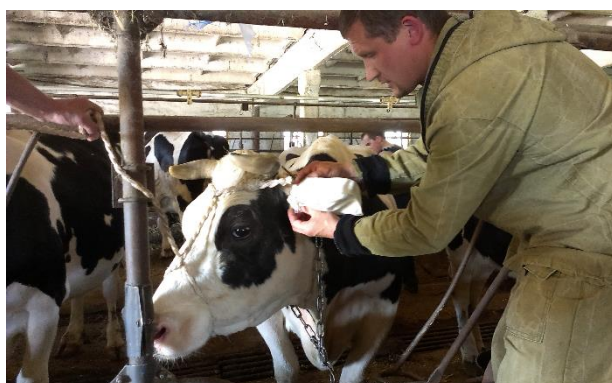


Рисунок 1 – Закрепление матерчатого мешочка на ухе больного лейкозом животного



Рисунок 2 - Фиксация мешочка из мельничного газа на ухе у больного лейкозом животного



Рисунок 3 – Содержание животных в период эксперимента

Рисунок 4 – Напитавшие самки

Сытых особей, выкормленных на серопозитивных, гематологически больных и на здоровых животных делят на шесть групп, каждая сытая самка хранится в индивидуальном садке:

1-ая, особи, выкормленные на серопозитивных животных, предназначенные для последующего метаморфоза;

2-ая – особи, выкормленные на серопозитивных животных, подвергнутые лабораторным исследованиям для детекции ДНК вируса лейкоза крупного рогатого скота;

3-я – особи, выкормленные на гематологически больных животных, предназначенные для последующего метаморфоза;

4-ая – особи, выкормленные на гематологически больных животных, подвергнутые лабораторным исследованиям для детекции ДНК вируса лейкоза крупного рогатого скота;

5-ая – особи, выкормленные на здоровых животных, предназначенные для последующего метаморфоза;

6-ая – особи, выкормленные на здоровых животных, подвергнутые лабораторным исследованиям для детекции ДНК вируса лейкоза крупного рогатого скота.

## **Глава II. Методология и методы исследований лейкоза**

Исследования проведены в ФГБОУ ВО ГАУ Северного Зауралья и на базе Всероссийского научно-исследовательского института ветеринарной энтомологии и арахнологии в период с 2009 по 2024 гг.

## 2.1. Материал исследования

Материалом для работы послужили годовые отчеты ветеринарных районных станций Тюменской области и собственные энтомологические сборы слепней.

Объектом исследования послужил крупный рогатый скот, слепни вида *Tabanus bovinus*, *Tabanus bromius* и иксодовые клещи *Dermacentor reticulatus*. Данные виды в настоящий момент занимают следующее систематическое положение:

Слепни	Иксодовые клещи
Надраздел: Eumetazoa	Надраздел: Eumetazoa
Раздел: Radiata	Раздел: Bilateria (Двусторонне-симметричные, билатеральные)
Тип: Arthropoda	Тип/Отдел: Arthropoda (Членистоногие)
Подтип: Tracheata	Подтип/Подотдел: Chelicerata
Класс: Insecta	(Хелицеровые)
Подкласс: Ectognatha	Класс: Arachnida (Паукообразные)
Отряд: Diptera	Отряд/Порядок: Ixodida (Иксодовые клещи)
Семейство: Tabanidae	Надсемейство: Ixodoidea
Подсемейство: Chrysopsinae	Семейство: Ixodidae (Иксодовые клещи)
Род: <i>Tabanus</i> L.	Род: <i>Dermacentor</i>
Вид: <i>Tabanus bovinus</i> L.	Вид: <i>Dermacentor reticulatus</i>
Вид: <i>Tabanus bromius</i> L.	

Эти виды были собраны в течение периода исследований в скотоводческих предприятиях, неблагополучных по лейкозу крупного рогатого скота, где используется комбинированная система содержания.

## 2.2. Методы исследования

### 2.2.1. Методика изучения эпизоотической ситуации по лейкозу крупного рогатого скота в Тюменской области

Анализ эпизоотической ситуации по лейкозу крупного рогатого скота проведен на основании официальных данных Управления ветеринарии Тюменской области. Обработку цифровых данных проводили по стандартным методикам.

Исследовались отчеты о распространении заболевания в Тюменской области за 20-летний период (2003-2023 гг.) Для анализа использовали методы, применяемые при лейкозе крупного рогатого скота (расчет относительных показателей заболеваемости,

инфицирования, смертности, летальности, очаговости, охвата гематологическими и серологическими исследованиями) [47].

$$\text{Заболееваемость} = \frac{\text{число выявленного гематологически больного КРС}}{\text{общее поголовье КРС}}, \%$$

$$\text{Инфицирование} = \frac{\text{число выявленного серологически инфицированного КРС}}{\text{общее поголовье КРС}}, \%$$

$$\text{Летальность} = \frac{\text{число павшего КРС}}{\text{число выявленного гематологически больного КРС}}, \%$$

$$\text{Смертность} = \frac{\text{число павшего КРС}}{\text{общее поголовье КРС}}, \%$$

$$\text{Очаговость} = \frac{\text{число выявленного гематологически КРС}}{\text{число неблагополучных пунктов}}, \text{ коров/неблагополучных пунктов}$$

$$\text{Охват гематологическими исследованиями} = \frac{\text{общее количество исследованного КРС}}{\text{общее поголовье КРС}}, \%$$

$$\text{Охват серологическими исследованиями} = \frac{\text{общее количество исследованного КРС}}{\text{общее поголовье КРС}}, \%$$

Средне относительные показатели по районам и динамике лейкозного процесса рассчитывали за двадцатилетний период наблюдений (2003-2023 гг.) .

### 2.2.2. Методика сбора слепней для проведения опыта

Для сбора насекомых использовались методы отлова насекомых с помощью энтомологического сачка и при помощи юловидной ловушки (рисунок 5).

Сбор слепней для опытов производился недалеко от места, где должен был проходить опыт по подсаживанию насекомых на больную лейкозом корову.



Рисунок 5 – Отлов слепней при помощи энтомологического сачка

Сбор слепней для производи на пастбище, где выпасался инфицированный вирусом лейкоза скот. После отлова слепней снимали наконечник с сачка (матерчатый мешочек), размещали в специальном боксе и таким образом транспортировали до лаборатории (рисунок 6 и 7).



Рисунок 6 – Съемный наконечник энтомологического сачка со слепнями внутри



Рисунок 7 – Устройство для транспортировки собранных слепней



Насекомых, пивших кровь, с первого дня поили слабым сахарным сиропом. Для его приготовления брали один кусочек сахара, растворенный в стакане воды, что соответствует примерно 5% разведению.

### **2.2.3. Методика подсадки слепней на инфицированных животных**

Перед началом опыта корову, на которую должны были подсаживать слепней для кровососания, фиксировали в поле днем приблизительно около 13.00, т.к. именно в эти часы у слепней наблюдается наибольший пик суточной активности. У животного сбрасывали волосы на той части тела, на которую должны были подсаживать слепней (темные участки тела, кроме спины).

Перед опытом насекомых содержали в специальном садке. Затем осторожно вытаскивали их оттуда и подсаживали на корову, предварительно на 2/3 обрезав у них крылья. Это делается для того, чтобы слепни при поиске места укола не смогли улететь. Если насекомые не присасывались, то смачивали кожу животного водой.

Как правило, слепни перемещаются с места первичной посадки на место укола. При укусе коровы насекомым этого слепня нужно фиксировать с помощью цилиндра. Цилиндр - трубка 12,5 см высотой и 5 см диаметром, с одного конца которой наматывается марля. Другим концом оно ставится во время укола на место, где находится слепень, так чтобы он вошел в нее. Марля нужна для проникновения воздуха.

После кровососания под цилиндр кладем картонку, и в таком виде переносим насекомого в персональный садок. На садок надеваем этикетку с номером слепня, где отмечается какое было кровососание (полное или неполное) и его продолжительность.

### **2.2.4 Методика взятия крови у слепней для диагностики**

#### **2.2.4.1 Определение вируса лейкоза в теле слепней**

Изучение крови на наличие вируса лейкоза производили через 6 часов, сутки, 2, 3, 4 и 5 дня после кровососания (в соответствии с 7 стадиями по Селла (Павлова, 1965, Паенко, 1968)).

Для взятия крови на анализ, слепней достают из садка, обмакивают в спирте, кладут на препарвальное стекло, добавив несколько капель 0,7% NaCl, и вытаскивают с заднего конца тела слепня его кишечник и желудок. Затем эти внутренние органы диагностировали методом ПЦР, а по телу слепня определяли его вид.

Головку слепня на наличие вируса исследовали отдельно методом ПЦР через 12 и 24 часа после кровососания.

## 2.2.4.2 Диагностика крови зараженных слепней методом ПЦР

### 2.2.2.1. Материалы и оборудование

1. Программированный термостат (амплификатор);
2. Термостат для микропробирок, поддерживающий температуру от комнатной до  $100\pm 2^\circ\text{C}$ ;
3. Микроцентрифуга, развивающая ускорение до 10000 об/мин;
4. Вортекс;
5. Электрофоретическая камера;
6. Источник постоянного тока;
7. УФ-транслюминатор;
8. Холодильник бытовой;
9. Дозаторы автоматические одноканальные с переменным объемом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости 10, 20, 100, 200 и 1000мкл, аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов лимитирования (ошибка не более  $\pm 3\%$ );
10. Плитка электрическая или СВЧ-печь;
11. Водоструйный или аналогичный насос;
12. Микропробирки (1,5мл);
13. Наконечники для пипеток от 10 до 1000мкл;
14. Колба коническая (500мл);
15. Цилиндр мерный (1000мл);
16. Перчатки резиновые медицинские;
17. Спирт этиловый 96%;
18. Вода дистиллированная;
19. Комплект реактивов для пробоподготовки Универсальной, включающей:
  - *Lysis reagent* (Лизирующий реагент), готов к применению - 1 флакон, 30мл;
  - *Saline buffer* (Солевой буфер), десятикратный буфер - 1 флакон, 10мл;
  - *ExtraGene<sup>TM</sup>* (ЭкстраГен<sup>TM</sup>, суспензия смеси гранул ионообменников), готов к применению - 1 флакон, 10 мл;
  - *NucleoS<sup>TM</sup>* (Нуклеос<sup>TM</sup>, суспензия сорбента), готов к применению - 2 пробирки по 1,0мл;
20. Комплект реактивов для постановки PCR, включающий:
  - (+) control (положительный контрольный образец), готов к применению - красные пробирки с лиофилизированным сухим содержимым синего цвета, 10 штук;
  - (-) control (отрицательный контрольный образец), готов к применению — синие

пробирки с лиофилизированным сухим содержимым синего цвета, 10 штук;  
- *MasterMix* (МастерМикс), готов к применению - бесцветные пробирки с лиофилизированным сухим содержимым синего цвета для анализа клинических проб, 80 штук;

- *PCR Diluent* (растворитель ПЦР) - 1 пробирка на 1,0 мл;

- *PCR Oil* (масло для ПЦР) - 1 пробирка на 2,0мл;

21. Комплект реактивов для детекции ДНК, включающий:

- TBE буфер для электрофореза - 1 пакет 17,23г;

- Агароза, готова к применению - 2 пакета по 2,25г;

- Этидиум бромид, готов к применению - 1 пробирка на 30мкл;

- Краска-лидер, готовая к применению - 1 пробирка на 300мкл

### **2.2.2.2. Принцип действия наборов реагентов ПЦР-анализа**

Наборы реагентов GenePak™ DNA PCR test представляют собой сухие реакционные смеси, готовые для амплификации выделенной ДНК и рассчитанные на проведение 100 реакций, из них 10 положительных и 10 отрицательных контрольных образцов.

Время проводимого анализа составляет не более 4 часов.

Детекцию PCR продукта проводят методом электрофореза в агарозном геле с бромистым этидием под УФ светом с длиной волны 260-310 нм. По наличию специфического фрагмента амплификации определенного размера судят о присутствии ДНК возбудителя в анализируемом материале.

При использовании в качестве исходного материала нативной ДНК возбудителя (положительный контрольный образец) на агарозном геле после проведения электрофореза продуктов амплификации под УФ-светом должна появиться полоса желтого цвета, соответствующая определенному размеру (для Bovine leukemia virus (gag) размер PCR продукта равен 347нм при температуре отжига  $58\pm 2^{\circ}\text{C}$ ; для Bovine leukemia virus (pol) размер PCR продукта равен 599 нм при той же температуре отжига).

При использовании в качестве исходного материала отрицательного контрольного образца после проведения электрофореза на агарозном геле полоса желтого цвета должна отсутствовать.

### **2.2.2.3. Пробоподготовка**

1. Содержимое флакона с *Солевым буфером* (10мл) внести в мерный цилиндр довести дистиллированной водой до метки 100мл, затем 96% этанолом до метки 300мл и

перемешать. Полученный раствор следует хранить в герметично закрытой посуде при температуре 2-8°C в течение одного года.

2. В пробирку объемом 1,5мл внести 100мкл анализируемой пробы, добавить 300мкл *Лизирующего реагента* и перемешать, переворачивая пробирку.

3. Термостатировать пробирку при 65°C в течение 5-40 минут. При наличии несолублизованного осадка в пробирке центрифугировать 5-10 секунд при 5000 об/минуту, супернатант перенести в чистую пробирку, а осадок отбросить.

4. Добавить в пробирку 20мкл суспензии сорбента NucleoS™ (перед его использованием следует интенсивно встряхнуть на вортексе до гомогенного состояния).

5. Оставить пробирку с пробой в штативе на 7-10 минут для связывания ДНК с сорбентом, периодически переворачивая плотно закрытую пробирку.

6. Центрифугировать пробирку 10 секунд при 10000 об/мин и удалить супернатант с помощью водоструйного или аналогичного насоса.

7. Добавить в пробирку 800 мкл *Солевого буфера* и интенсивно перемешать на вортексе.

9. Центрифугировать 20 секунд при 2000 об/мин.

10. К осадку добавить 1 мл *Солевого буфера*, тщательно перемешать на вортексе 5-10 секунд до гомогенного состояния. Если суспендирование затруднено из-за сильного слипания сорбента, то его необходимо вначале механически разбить наконечником пипетки, а затем интенсивно перемешать на вортексе.

11. Центрифугировать пробирку 20 секунд при 2000 об/мин.

12. Удалить супернатант, не задевая осадок, с помощью насоса.

13. Повторить положение 10.

14. Центрифугировать пробирку 20 секунд при 2000 об/мин и полностью удалить супернатант.

15. Поместить пробирки с открытыми крышками в термостат для высушивания осадка при 65°C в течение 3-5 минут.

16. Добавить в пробирку 50-100мкл исходного *ЭкстраГена™* (его следует отбирать от общего объема после интенсивного перемешивания).

17. Суспендировать содержимое пробирки на вортексе 5-10 секунд до гомогенного состояния, после чего термостатировать 5-7 минут при 65°C. Еще раз суспендировать содержимое пробирки на вортексе.

18. Центрифугировать пробирку 1 минуту при максимальных оборотах (10000 об/мин).

19. Перенести чистый супернатант (без гранул *ЭкстраГена*<sup>TM</sup> и *NucleoS*<sup>TM</sup>), содержащий ДНК, в чистую пробирку для хранения или сразу использовать для постановки PCR.

При попадании гранул *ЭкстраГена*<sup>TM</sup> в реакционную пробирку происходит полное ингибирование реакции, что приводит к появлению ложноотрицательных результатов. Хранить при температуре -20°C, а при частом использовании при +4°C.

#### 2.2.2.4. Постановка ПЦР

1. Вынуть из холодильника нужное количество бесцветных пробирок МастерМикса для анализа проб, одну пробирку синего цвета (-) контроля для амплификации отрицательного контроля и пробирку красного цвета (+) контроля для амплификации положительного контроля. Промаркировать соответствующим образом отобранные пробирки.

2. Добавить во все пробирки, в том числе (+) и (-) контроли, по 10 мкл ПЦР Растворителя. Сменить наконечник с пипетки.

3. Добавить в бесцветные пробирки МастерМикса по 10мкл готовой для анализа ДНК проб, меняя наконечники при переходе от пробы к пробе.

4. Добавить в синюю пробирку (-) контроля и красную пробирку (+) контроля по 10мкл исходного супернатанта *ЭкстраГена*<sup>TM</sup>, свободного от гранул ионообменников. Рекомендуется центрифугирование *ЭкстраГена*<sup>TM</sup> перед отбором супернатанта для (-) и (+) контролей.

5. Растворить содержимое пробирок путем перемешивания на вортексе.

6. По окончании перемешивания сбросить капли со стенок пробирок путем центрифугирования на вортексе 1 -2 секунды.

7. Добавить во все пробирки по капле Минерального масла (по 20мкл). Для предотвращения контаминации следует строго соблюдать последовательность внесения образцов: сначала (-) контроль, затем анализируемы пробы и в конце (+) контроль.

Обязательно менять наконечники при переходе от пробы к пробе. При работе с анализируемыми пробами рекомендуется использовать специальные наконечники с антиаэрозольными фильтрами.

8. Провести амплификацию в режиме последовательно связанных программ (таблица 1).

Таблица 1 – Режимы амплификации

№№ программ	Контроль температуры по термоблоку (матрица)	Активное регулирование температуры	
		Внутри пробирки (точный)	Рассчитанное по алгоритму (быстрый)

	Время, с	Температура, градусов	Время, сек	Температура, °С	Время, сек	Температура, градусов
1	120	95	60	95	60	95
	60	62	40	62	40	62
	120	74	90	74	90	74
	1 цикл		1 цикл		1 цикл	
2	60	95	30	95	30	95
	50	60	30	60	10	60
	60	74	60	74	60	74
	1 цикл		1 цикл		1 цикл	
3	60	95	20	95	20	95
	40	58	20	58	5	58
	60	74	40	74	40	74
	43 цикла		43 цикла		43 цикла	
4	120	74	60	74	60	74
	1 цикл		1 цикл		1 цикл	

9. После окончания амплификации все пробирки перенести в комнату для проведения детекции ДПК.

#### 2.2.2.5. Проведение электрофореза

1. Приготовление рабочего раствора буфера для электрофореза. Содержимое пакета с надписью «Буфер для электрофореза» полностью перенести в мерную колбу, растворить в 600-800 мл дистиллированной воды (при необходимости подогреть) и довести объем полученного раствора до 1л дистиллированной водой.

2. Подготовка прибора для горизонтального электрофореза к работе осуществляется в соответствии с прилагаемым к нему техническим описанием.

а) Разместить прибор на столе, с помощью регулируемых по высоте ножек и ориентируясь по уровням, установить прибор в фиксированное, строго горизонтальное положение;

б) Собрать столик для заливки геля. Установить 1-2-3 гребенки в зависимости от количества анализируемых проб так, чтобы расстояние между зубцами соседних гребенок и одной из стенок кюветы составляло не меньше 3 см;

3. Приготовление агарозного геля.

а) Содержимое одного из пакетов с надписью «Агароза» полностью перенести в коническую стеклянную колбу, прибавить 150 мл готового раствора «Буфера для электрофореза»;

б) Суспензию агарозы в колбе довести до кипения в микроволновой печи или на электроплитке, периодически помешивая, и продолжать нагревать до совершенно прозрачного состояния (обычно еще 1 минуту);

в) Расплав охладить до 55-60°C, а затем прибавить 10мкл раствора Бромистого этидия и перемешать. Налить расплав на столик для заливки геля прибора для

электрофореза, не допуская образования воздушных пузырьков так, чтобы толщина слоя расплава была не менее 5мм, а зубцы гребенок были погружены в него не менее чем на 4мм. Дать гелю полностью застыть (обычно для этого требуется 15-20 минут);

г) Столик с готовым агарозным гелем и гребенками перенести в электрофорезную камеру прибора. Залить в электрофорезную камеру готовый раствор Буфера для электрофореза так, чтобы жидкость покрывала гелевую пластину слоем 2-3 мм. Извлечь гребенки из агарозного геля (осторожно, легким и плавным движением вверх, стараясь не повредить образовавшиеся карманы).

4. Из-под слоя минерального масла отобрать 10мкл продуктов ПЦР и осторожно перенести в карман гелевой пластины. Порядок внесения анализируемых образцов в карманы гелевой пластины рекомендуется следующий; сначала наносят содержимое пробирки с отрицательным контролем, затем исследуемые пробы в строго фиксированной последовательности (порядок нанесения должен быть отражен в журнале), и в последнюю очередь, содержимое пробирки с положительным контролем.

5. Закрыть крышку прибора для электрофореза и подключить его к источнику постоянного напряжения, строго соблюдая полярность электродов, и учитывая, что при электрофорезе движение фрагментов ДНК происходит в направлении от катода к аноду.

6. Установить напряжение 100-150В. В таком режиме электрофорез будет продолжаться около 30 минут, при этом красящий компонент ПЦР смеси голубого цвета должен продвинуться в геле не более чем на 1 см от старта.

7. По окончании электрофореза отключить источник напряжения, снять крышку с прибора для электрофореза. Агарозный гель осторожно перенести со столика для заливки в «кабинет» видеосистемы на фильтр трансиллюминатора.

#### **2.2.2.6. Обработка результатов анализа**

1. Продукт амплификации положительного (+) контроля должен выглядеть на электрофореграмме как одна яркая и четкая полоса.

2. В пробе с отрицательным (-) контролем может присутствовать только одна слабо окрашенная нечеткая полоса, расположенная дальше всех от старта электрофореза. Размер фрагмента, формирующего эту полосу на электрофореграмме, составляет менее 50 п.н. и образуют его неиспользованные в ходе ПЦР праймеры. Если в отрицательном контроле присутствуют другие, большие по размеру фрагменты, результаты проведенного ПЦР анализа следует считать недостоверными.

3. Если на электрофореграмме ПЦР-продукты анализируемых образцов по подвижности (по размеру) соответствует ПЦР фрагменту положительного контроля, то

такие образцы следует считать «положительными», т.е. содержащими ДНК возбудителя. В противном случае, образцы следует считать «отрицательными», т.е. не содержащими ДНК возбудителя.

4. В случаях, когда в ходе анализа ДНК из какого-либо образца получен неоднозначный результат (слабая окраска, диффузное размывание полос и прочие), для уточнения результатов анализа необходимо повторное проведение ПЦР с этой пробой ДНК.

### **2.2.3. Методика определения видов**

Определение видовой принадлежности и подтверждением Р.П. Павловой слепней производили по определителю Олсуфьева Н.Г. (1977) и Виоловича Н.А. (1968).

### **2.2.4. Методы сбора и определения иксодовых клещей**

Полевые исследования по изучению видового состава иксодовых клещей проводили в скотоводческих предприятиях, расположенных на юге Тюменской области. Имаго иксодид собирали в пастбищный период во время вечернего доения только с крупного рогатого скота, инфицированного вирусом лейкозом, с диагнозом подтвержденным серологическими исследованиями в ГАУ ТО «Тюменская областная ветеринарная лаборатория». С растительности иксодовых клещей собирали при помощи волокуши или флага на территориях, где выпасался крупный рогатый скот из неблагополучного хозяйства. Идентификацию иксодид до вида проводили в условиях лаборатории паразитологии кафедры инфекционных и инвазионных болезней ФГБОУ ВО ГАУ Северного Зауралья.

Для получения полного представления о местах обитания клещей обследовали местность на их наличие. При сборе паразитов в биотопах, подсчитывали их количество на одном приспособлении для сбора, например, волокушу, флаг, пропашник или наблюдателя.

На степных участках клещей собирали на «волокушу», на луговых участках с высокой травой, в лесу клещей собирали на флаг из вафельной ткани размером 60x100 см. При низкой численности клещей использовали метод сбора клещей с наблюдателя. Для этой цели в различных местах обследуемого участка останавливались на 10-15 минут. В это время клещи устремлялись к наблюдателю, нападая на ноги.

Клещей учитывали с ранней весны и на различных маршрутах, то есть с момента их выхода из подстилки после зимовки и до окончания активности.

Сборы голодных имаго клещей проводились на маршрутах, закладываемых в различных биотопах, разных по рельефу и растительному покрову (рисунок 8-10).





Рисунок 8 – Сбор имаго иксодовых клещей в природном биотопе



Рисунок 9 – Иксодовый клещ, собранный на волокушу



Рисунок 10 – Иксодовый клещ в позе нападения на растении

Учитывали клещей на протяжении всего светового дня, в период наибольшей активности клещей, что позволяло определить их видовой состав и распределение в зоне обследования.

Собранные в неблагополучных предприятиях иксодид разделили на две части. Одна для молекулярно-генетических исследований, направленных на выделение провируса лейкоза в теле членистоногих, вторая для дальнейшего культивирования и изучения вероятности трансмиссии вируса в личинках.

Обработку цифровых данных полученных при сборе иксодовых клещей проводили согласно методике В.Н. Беклемишева (1961). За основные критерии учета численности иксодид использовали индекс обилия (ИО), индекс доминирования (ИД) а за вспомогательный – индекс встречаемости (ИВ). Основной единицей учета численности являлась особь хозяина или площадь (1 га природного биотопа).

Для определения вида имаго клещей пользовались бинокулярной лупой и микроскопом МБС-1 (рисунок 11).



Рисунок 11 – Определение вида и степени насыщения самок иксодовых клещей

Видовую принадлежность устанавливали с использованием определителей Померанцева Б.И., Сердюковой Г.В., Филипповой Н.А.

Для сбора и содержания иксодид использовали стеклянные пробирки типа П1 цилиндрические с развернутым краем (диаметр 30 мм, длина 25 мм) (ГОСТ 25336-82 «Посуда и оборудование лабораторные»), наполненные опилом (рисунок 12) [14,27]. Внутри помещали этикетку с указанием на ней пункта, даты сбора, вида животного, типа участка. В лабораторных условиях клещей сортировали по видам, степени насыщения, подсчитывали и помещали в специальные пробирки не более 50 взрослых голодных клещей в одной пробирке. Садки с клещами хранили в холодильнике при  $T+4^{\circ}\text{C}$ , а также при комнатной температуре ( $18-20^{\circ}\text{C}$ ).



Рисунок 12 – Пробирки, используемые для сбора и хранения иксодовых клещей

Для изучения механизмов трансвариальной передачи вируса лейкоза крупного рогатого скота был отобран биологический материал (иксодовые клещи) на скотоводческих предприятиях Тюменской области, неблагополучных по лейкозу.

#### **2.2.5. Проведение молекулярно-генетических исследований иксодовых клещей**

Материалом для ДНК-анализа послужили:

- голодные имаго *D. reticulatus*, собранные с территории, где выпасался крупный рогатый скот, инфицированный вирусом лейкоза (рисунок 13);
- сытые имаго, собранные с инфицированных (серопозитивных) вирусом лейкоза животных;
- сытые имаго, собранные с больных (гематологически) лейкозом животных;
- сытые имаго, выкормленные на здоровых животных;
- личинки, после метаморфоза из яиц, отложенных самками *D. reticulatus* после питания на инфицированных вирусом лейкоза животных (рисунок 14);

- личинки, после метаморфоза из яиц, отложенных самками *D. reticulatus* после питания на здоровых животных (рисунок 15);

- нимфы, после метаморфоза из личинок, отложенных самками *D. reticulatus* после питания на инфицированных вирусом лейкоза крупного рогатого скота животных.

- нимфы, после метаморфоза из личинок, отложенных самками *D. reticulatus* после питания на здоровых животных.

Выделение ядерной ДНК проводили общепринятыми методами (фенольный, сорбентный и солевой) с лизированием протеиназой К (10 нг/мкл). Для ПЦР-анализа использовали тест-системы «D-Tissues-5» (ООО «Биолабмикс», г. Новосибирск), «ДНК-Экстран-2 (ООО «Синтол», Москва), «COrDIS SPRINT» (ООО «Гордис», г. Москва).

Аmplификацию проводили с использованием тест-системы «Лейкоз» для выделения вируса лейкоза крупного рогатого скота (КРС) методом полимеразной цепной реакции (AmpliSens, ФБУН ЦНИИ Роспотребнадзора, г. Москва), с помощью оборудования QuantStudio 3.0 Real-Time (Thermo Fisher, США) - использованием 96-луночного блока, с учетом калибровки, необходимой для соблюдения максимальной оптической и термической точности в получении результатов исследования (рисунок 16).



Рисунок 13 - Голодные имаго *D.*



Рисунок 14 - Личинки, после

*reticulatus*, собранные с территории, где метаморфоза из яиц, отложенных самками

выпасался крупный рогатый скот, *D. reticulatus* после питания на инфицированный вирусом лейкоза инфицированных вирусом лейкоза животных



Рисунок 15 - Личинки, после метаморфоза из яиц, отложенных самками *D. reticulatus* после питания на здоровых животных (контроль)



Рисунок 16 - Амплификатор QuantStudio 3.0 Real-Time, используемый для детекции вируса лейкоза крупного рогатого скота

На рисунке 17 представлен интерфейс амплификатора QuantStudio 3.0 Real-Time на этапе подготовки прибора к проведению этапа ПЦР анализа.

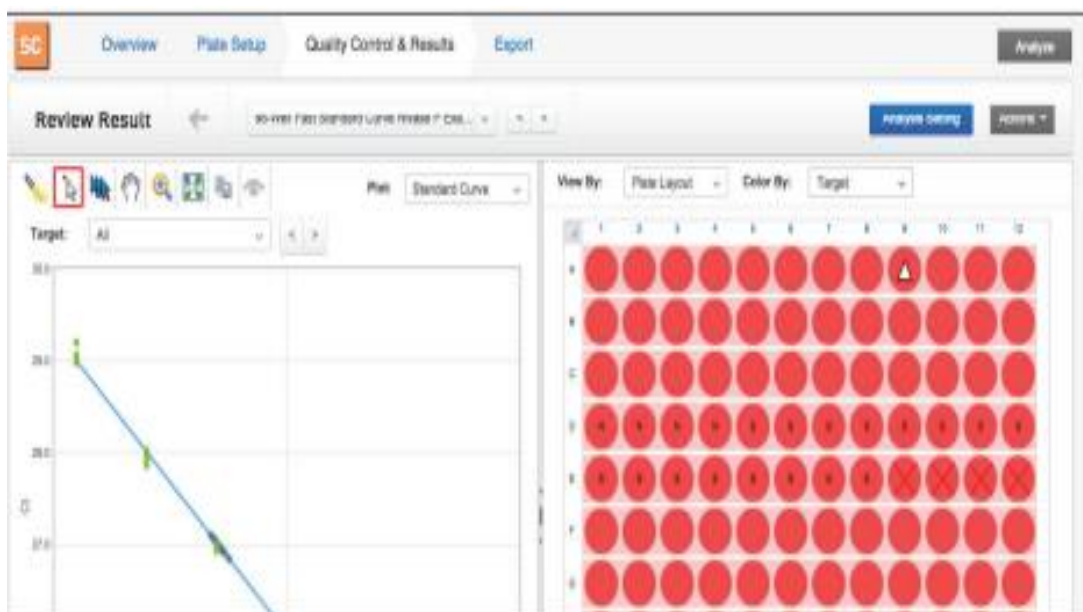


Рисунок 17 - Интерфейс амплификатора QuantStudio 3.0 Real-Time

Этапы проведения ПЦР анализа приведены в таблице 2.

Таблица 2 – Схема проведения амплификации

Этап	Условия амплификации		
	Температура, °C	Время, минуты	Количество циклов
Предварительная денатурация	95	5	1
Синтез продуктов амплификации:			39
плавление	95	0,5	
отжиг праймеров	60	0,5	
синтез ДНК	72	1	

Окончательная достройка	72	5	1
-------------------------	----	---	---

Для мониторинга возможной контаминации на стадии выделения ДНК использовали отрицательный контроль (к-). Постановка амплификации позволила убедиться в достоверности проведения ПЦР, согласно протоколу производителя тест-системы (рисунок 18).

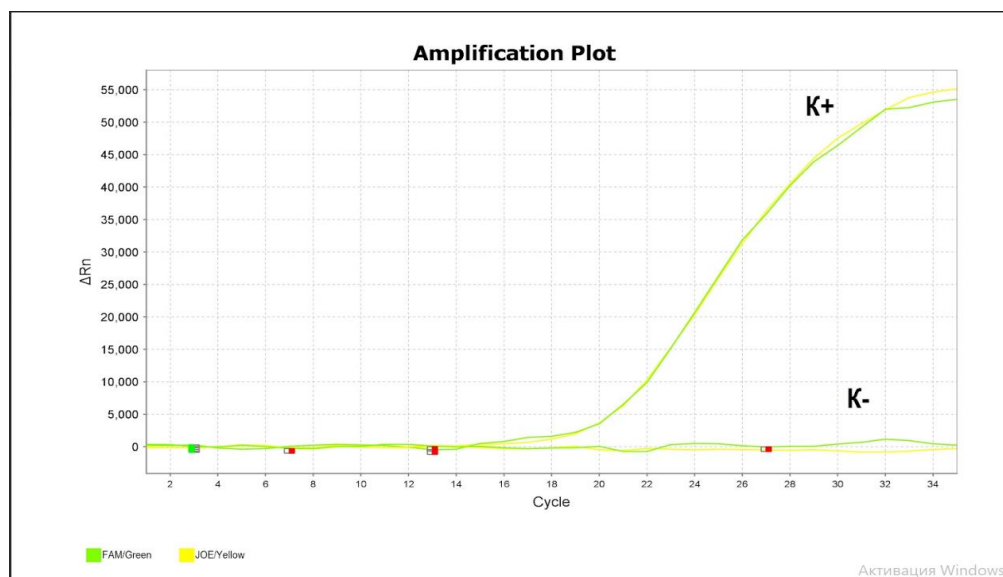


Рисунок 18 - Профиль продукта ПЦР амплификации кривой положительного и отрицательного контролей

Статистический анализ полученных результатов проводили по методике Стьюдента с применением пакета программного обеспечения Microsoft Office Excel 2007, программы «Биостат».

### 2.2.6. Метод статистической обработки данных

Статистическую обработку данных проводили по стандартным методикам (Лакин, 1990) и с помощью компьютерной программы STAT и BIOSTAT.

В ходе нашего исследования определяли следующие параметры: а) среднюю арифметическую -  $\bar{X}$ ; б) ошибку средней арифметической -  $S_x$ ; в) дисперсию -  $D^2$ ; г) сигму -  $D$ ; д) коэффициент вариации -  $C_v$ ; е) ошибку коэффициента вариации -  $S_{cv}$ ; ж) коэффициент точности -  $C_s$ .

О достоверности различий судили по t-критерию Стьюдента с определением уровня значимости  $P$ .

О силе связи между относительными эпизоотическими показателями судили по коэффициенту корреляции ( $r$ ).



## **2.3. Физико-географическая характеристика районов исследования**

### **2.3.1. Тюменская область**

Территория Тюменской области составляет 1435, 2 тыс. км<sup>2</sup> или 8,4% площади страны. Протяженность с севера на юг - 2100 км, с запада на восток - 1400 км. Омывается водами Карского моря. Граничит с Казахстаном, Республикой Коми, Красноярским краем, Свердловской, Курганской, Омской, Томской, Архангельской областями. Плотность населения - 2,3 мил. на 1 км<sup>2</sup>.

Тюменская область расположена в пределах гигантской Евразийской литосферной плиты. Как Уральская, так и Западно-Сибирская части области входят в состав протяженного Урало-Монгольского складчатого пояса.

Еще совсем недавно считалось, что Западно-Сибирская равнина представляет собой идеальную низменность, наклонную к северу. В действительности же оказалось, что здесь есть ряд самостоятельных низменностей (Ханты-Мансийская, Вахская, Надымская, Пуровская, Тазовская и др.) и возвышенностей (Северо-Сосьвинская, Люлинвор, Верхнее и Средне-Тазовская, Правобережная, Иртышская и др.) достигающих местами высоты 250-300 метров над уровнем моря.

В широтном направлении от верховьев Тоболо-Сосьвинского водораздела к северному продолжению Енисейского кряжа простираются так называемые Сибирские увалы, которые делят равнину на две неравные котловины - Нижне-Обскую и СреднеОбскую. Это гигантские чаши с приподнятыми краями. Котловины соединены между собой широким понижением, по которому протекает Обь.

Большое пространство занимает Тоболо-Ишимское поднятие. Это слабо расчлененная речной сетью плоская равнина с абсолютными высотами 100-150 метров.

Наличие вечной мерзлоты - характерная черта природы Тюменской области.

В крайних южных районах Тюменской области - Казанском, Бердюжском и в особенности Армизонском - развились иные - озерно-котловинные формы рельефа. Котловины древних и современных озер резко контрастируют с плоскими равнинами.

Сотни миллионов лет эволюции земной коры, смена различных режимов развития привели к формированию на территории Тюменской области богатейших полезных ископаемых широкого спектра. К топливным ресурсам Тюменской области относятся нефть, газ, газовый конденсат, бурый уголь, торф. К рудным полезным ископаемым: железные и марганцевые руды. К горнохимическому сырью: фосфориты, горнотехническое сырье, каолиновые глины, бентониты, кварцевые пески, опаловое сырье, диатомиты, опоки,

сапропели. К строительным материалам: кирпичные и керамзитовые глины, песчано-гравийные смеси, известняки, строительный камень.

Климат континентальный. Черты резкой континентальности особенно ярко выражены в центральной и южной частях территории. Зима суровая, холодная, продолжительная. Лето короткое, теплое, часто даже жаркое. Короткие переходные сезоны осень и особенно весна. Большая часть осадков выпадает в теплый период года. Распределение их по территории неравномерно. Южные лесостепные и степные районы относятся к районам недостаточного увлажнения, а северные лесные и тундровые районы избыточно увлажнены.

В целом для Тюменской области характерен циклонально-антициклональный тип циркуляции атмосферы с господством западного переноса воздушных масс. Континентальность климата увеличивается с севера на юг: активно воздействуют Азиатский антициклон зимой и субтропические антициклоны летом.

Распределение ветра по территории в течение года складывается в зависимости от этих основных циркулирующих факторов.

Почвенный покров Тюменской области имеет две особенности - зональность почв на дренированных водоразделах и широкую изменчивость в пределах одной и той же зоны в связи с рельефом, пестротой почвообразующих пород, условиями увлажнения и засоления грунтов.

В целом Тюменская область характеризуется частой сменой разнотипных почв на ограниченном пространстве. Наиболее сильно это выражено в лесостепной зоне. Зональные черноземные почвы включают в себя солонцы луговые и дерновые, солончаки луговые, лугово-болотные и другие. Доля этих почв в комплексах может достигать 30- 50%. Значительной комплексностью отличаются и почвы пойм речных долин. Широко распространены пойменные почвы - луговые, лугово-слоистые и луговые намывные. По всей территории Тюменской области располагаются болотные почвы.

Тюменская область обладает весьма значительными водными ресурсами. Их формируют реки, озера, болота, искусственные водоемы и подземные воды.

Для рек Западной Сибири, в том числе самых крупных, таких как Обь, характерны незначительные уклоны, малая скорость течения, весеннее половодье и продолжительная летне-осенняя и зимняя межень (наиболее низкий уровень).

Болота, покрывающие здесь полностью все междуречные пространства и поверхности речных террас, представлены выпуклыми олиготрофными грядово-мочажинными торфяниками. Для болотных массивов характерна выпуклость центральной части, несколько возвышающейся над периферией. Встречаются болота 3 типов: низинные,

переходные, верховые. Преобладает последний тип, первые 2 занимают небольшие участки.

Установлено, что типичные обитатели Тюменской области - лоси, олени, медведи, мелкие зверьки (зайцы, белки, бурундуки, мышевидные грызуны), а также птицы (рябчики, тетерева и другие).

Из растительности в Тюменской области преобладающими являются хвойные леса, среди которых встречаются береза, тополь, ива, липа, осина. Вся растительность в Тюменской области располагается зонально при продвижении с севера на юг.

В силу суровых природно-климатических условий, 90% территории области отнесено к районам Крайнего Севера или приравнено к ним. Лишь 3% территории занимают сельскохозяйственные угодия. Здесь производится около 82% сельскохозяйственной продукции области. Наличие почв с высоким потенциалом плодородия и достаточно умеренные климатические условия позволяют выращивать зерно, картофель, овощи, грубые и сочные корма. Здесь разводят крупный рогатый скот, свиней, коз, лошадей, птицу.

Сельскохозяйственные организации автономных округов специализируются на производстве молока, яиц, овощей защищенного грунта. Развиты традиционные для коренных народов севера промыслы - оленеводство и рыболовство.

По классификации Григора Г.Г. и Земцова А.А. Тюменская область располагается в пяти широтных физико-географических зонах: тундры, лесотундры, тайги, лиственных лесов и лесостепи [42]. Муниципальные районы Тюменской области располагаются в лесостепной (подзоне северной и южной лесостепи) и таежно-лесной зоне (подзона подтайги) [81].

Подзона **подтайги** занимает территорию полосой в 60-80 км вдоль южной границы подзоны южной тайги и по природным условиям, как и почвенному покрову, является переходной зоной к лесостепи. Граничит с запада со Свердловской областью, которая является крупным промышленным центром, а с востока с Омской областью. Площадь подзоны сравнительно небольшая – 2,4 млн. га, или 14,6 % территории юга Тюменской области.

Климат подзоны умеренно тёплый хорошо увлажнённый. В подзоне подтайги выпадает сравнительно немного осадков 400-450 мм в год, из них около 350 мм в тёплый период. Несмотря на небольшое количество осадков почвы в этой подзоне переувлажнены в летний период, это связано как с низкой водопроницаемостью материнских пород, так и с глубоким промерзанием почв. Климат в подзоне, как и на всей территории области континентальный. Средние температуры: января – 19°C, и июля от ±17 до 19°C. Осадков

200–600 мм в год. На севере широко распространены многолетнемёрзлые породы. Вегетационный период 50-162 дня.

Подзона **северной лесостепи** по площади занимает второе место после южной тайги (21% территории юга области). В нее входит большая группа районов, находящихся вдоль Транссибирской магистрали и южнее её.

Климат в подзоне сравнительно теплый, умеренно увлажнённый, возможны периодические засухи, иногда интенсивные. Безморозный период, как правило, длится 105-120 на востоке лесостепей и 165 дней на западе. Абсолютный максимум в лесостепи зависит от широты и обычно составляет около 40°С в тени.

Подзона **южной лесостепи** расположена на самом юге сельскохозяйственной области на границе с Курганской областью и Казахстаном. Подзона небольшая, ее площадь 1,3 млн. га, или 8,2% от всей территории региона. Климат в подзоне теплый, увлажнение недостаточное, подзона подвержена атмосферным засухам.

## Глава III. Результаты и их обсуждение

### 3.1. Эпизоотическая ситуация по лейкозу крупного рогатого скота в Тюменской области

Первые упоминания о лейкозе крупного рогатого скота зарегистрированы в 1876 году в Восточной Пруссии. В нашей стране эта проблема стала актуальна после того как в первой половине прошлого столетия, когда из Германии в Западную Сибирь, а также Центральную часть страны был ввезен племенной скот. Сегодня это заболевание фиксируется практически во всех регионах России.

Лейкоз крупного рогатого скота был установлен в Тюменской области в 1968 году. Прорыв в изучении этиологии и патогенеза лейкоза способствовал созданию и внедрению в практику серологического метода диагностики, который стал использоваться в Тюменском регионе с 1989 года, что позволило наладить управление этой инфекцией. В настоящее время диагностика лейкоза в регионе осуществляется выявлением инфицированных вирусом лейкоза крупного рогатого скота реакцией иммунной диффузии (РИД) и больных лейкозией – гематологическим методом [65]. Сравнительно недавно в области стали применять молекулярно-генетические методы детекции вирусоносителей в стаде. Преимуществами ПЦР-анализа является ранняя диагностика (с 10-дневного возраста), по результатам которой проводится изоляция и методичная выбраковка больных животных с формированием свободного от вируса лейкоза стада. Также преимуществом этого метода диагностики является отсутствие зависимости времени исследования от физиологического состояния животного (включая промежуток до и после отела). Материалом для исследования может быть любая биологическая субстанция, такие как кровь, ушные выщипы и пр.

Нами проанализирована эпизоотическая ситуация по лейкозу крупного рогатого скота в Тюменской области с 1983 по 2023 гг. (таблица 3).

Гематологические исследования по выявлению больных лейкозом животных начали проводить с 1983 года, и вплоть до 1989 года доля больных животных составляла 0,3-0,4% от всего обследованного поголовья. С 1990 года данный стал увеличиваться, и на максимальном уровне зарегистрирован в 1995 году - 3,5% от обследованных животных. Такие высокие значения больных лейкозом животных (выше трех процентов) фиксировали вплоть до 1997. Затем, появилась тенденция к снижению уровня больных животных, и в 2002 году этот показатель составил уже 2,0%. В настоящее время в регионе продолжают гематологические исследования, но с каждым годом доля больных лейкозом коров снижается и в настоящее время составляет 0,4%.

Серологическими исследованиями установлено, что максимум инфицированных животных в регионе регистрировали с 1989 по 1997 гг. В этот период значения инфицированности стада фиксировали на уровне 24,0-37,5%. Затем, на протяжении двух лет, отмечали незначительный спад (17,9-18,9%), после чего в течение 2000-2002 годов показатели инфицированности снова повысились и составили 32,62 до 33,06%.

Начиная с 2003 года, когда уровень инфицированных животных составил 24,89%, значение этого показателя постепенно снижалось, достигнув минимума к 2022 году – 2,45%, то есть на 93,47% (от значения 1989 года).

Наглядно картина по динамике показателей инфицированных и гематологически больных животных за период с 1983 по 2023 гг. в Тюменской области представлена на (рисунке 19).

Для целенаправленной работы по профилактике и ликвидации лейкоза крупного рогатого скота, учитывающей природно-климатические и социально-экономические особенности Тюменской области была создана и реализована региональная научно-техническая программа «Неотложные меры профилактики и борьбы с лейкозом крупного рогатого скота в племенных хозяйствах, сельхозпредприятиях Тюменской области на 2002–2010 гг.». После её завершения был разработан «Комплексный план по профилактике и ликвидации лейкоза крупного рогатого скота в Тюменской области до 2019 года. Промежуточные результаты выполнения программы и комплексного плана представлены в таблице 4.

Как видно из таблицы 3, в регионе ведется постоянная работа по борьбе с лейкозом крупного рогатого скота. Ежегодно оздоравливается от 4 до 138 неблагополучных пунктов. Уменьшается число животных, с патологоанатомической картиной лейкоза, что свидетельствует о своевременном купировании инфекционного процесса в животноводческих предприятиях [58].

В результате проведения мероприятий, направленных на оздоровление Тюменской области от лейкоза крупного рогатого скота производится систематическое выявление носителей вируса лейкоза и больных животных на всех сельскохозяйственных предприятиях, а также в личных подсобных хозяйствах Тюменской области.

Таблица 3 - Результаты диагностических обследований на лейкоз крупного рогатого скота за 1983-2023 гг. в Тюменской области

Год исследования	Обследовано всего методом РИД, голов	Из них положительно		Обследовано гематологическим методом, голов	Из них положительно		Заболело, голов	Убито, голов	Пало, голов	Количество неблагополучных пунктов
		голов	%		голов	%				
1983	-	-	-	133382	362	0,3	403	319	36	83
1984	-	-	-	136000	411	0,3	482	472	65	83
1985	-	-	-	139579	406	0,3	453	406	51	84
1986	-	-	-	149803	609	0,4	664	592	55	87
1987	-	-	-	151939	519	0,3	549	475	51	93
1988	-	-	-	163717	469	0,3	571	492	102	92
1989	35135	13182	37,52	163569	684	0,4	748	695	64	105
1990	149683	51911	34,68	145347	1636	1,1	1641	1050	-	111
1991	184209	55389	30,07	141308	1636	1,1	1665	1316	29	123
1992	111688	31822	28,49	144591	905	0,6	942	1723	37	123
1993	86319	21852	25,32	126499	1196	0,9	1227	1049	31	141
1994	75893	21633	28,50	139926	3503	2,5	3539	2524	43	132
1995	75605	19952	26,39	143139	5057	3,5	5100	5223	48	135
1996	96325	28514	29,60	129466	4033	3,1	4060	4686	13	127
1997	70002	16804	24,00	113757	3614	3,2	3626	3628	28	108
1998	48981	8782	17,93	94365	2330	2,4	2338	2639	10	105
1999	65911	12451	18,89	96060	2631	2,7	2642	2625	11	105
2000	152898	49876	32,62	156194	3451	2,2	3462	3438	11	102
2001	167738	55215	32,92	290816	4197	1,4	4264	4372	39	307
2002	183311	60602	33,06	271241	5434	2,0	5469	5063	35	288
2003	215237	53566	24,89	244099	4448	1,8	4456	4985	8	272
2004	190100	33615	17,68	223378	3287	1,5	3298	3494	11	251
2005	222426	32249	14,50	204289	2754	1,3	2760	2746	6	233
2006	248550	24177	9,73	193396	2374	1,2	2379	2364	5	212
2007	305752	31874	10,42	159090	2145	1,3	2160	2130	15	182

Продолжение таблицы 1

Год исследования	Обследовано всего методом РИД, голов	Из них положительно		Обследовано гематологическим методом, голов	Из них положительно		Заболело, голов	Убито, голов	Пало, голов	Количество неблагоприятных пунктов
		голов	%		голов	%				
2008	316997	14977	4,72	138144	1946	1,4	1952	2084	6	152
2009	297761	25925	8,71	142984	1839	1,3	1841	1795	2	134
2010	243917	12645	5,18	133642	1467	1,1	1472	1453	4	118
2011	239446	11107	4,64	127143	1293	1,0	1293	1306	-	114
2012	223875	9932	4,44	120441	1339	1,1	1339	1270	-	108
2013	242619	10597	4,37	106652	1607	1,5	1607	1555	-	98
2014	242531	9113	3,76	97004	1560	1,6	1560	1713	1	78
2015	236566	8509	3,60	86278	1371	1,6	1371	1358	1	70
2016	257775	8448	3,28	80142	1413	1,7	1413	1300	0	63
2017	260865	16833	6,45	64541	1031	1,6	1031	1129	0	53
2018	271260	18001	6,64	51191	827	1,6	827	819	0	48
2019	287363	18034	6,28	47135	620	1,3	620	668	2	161
2020	304059	19596	6,44	42114	374	0,9	374	368	0	163
2021	271537	10387	3,85	42698	226	0,5	226	212	0	178
2022	255102	6260	2,45	32298	152	0,4	152	164	0	282
2023	260936	4404	1,68	26481	112	0,4	115	115	0	245



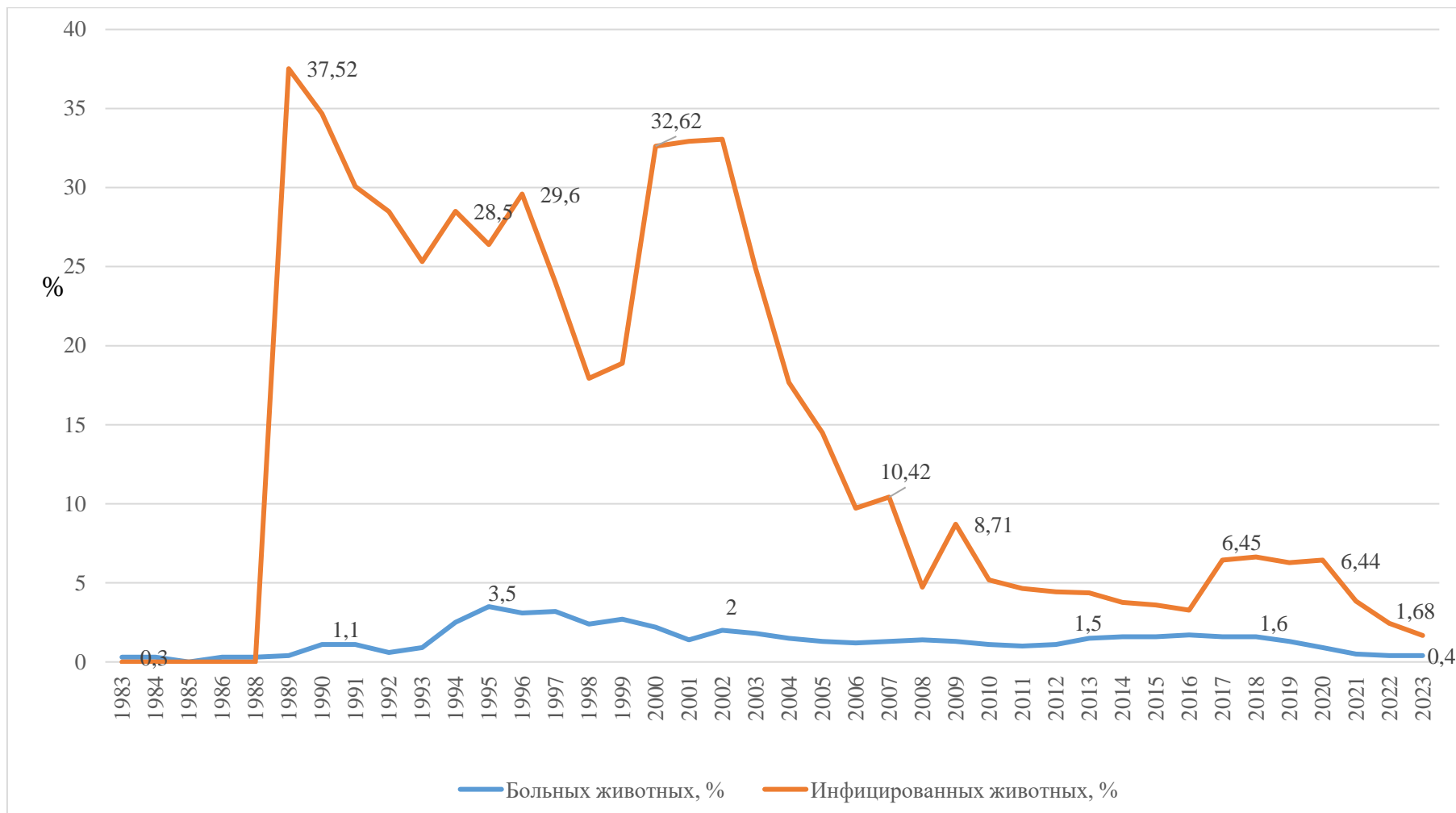


Рисунок 19 – Уровень инфицированных и больных лейкозом животных (КРС) в Тюменской области в период с 1983 по 2023 гг.

Таблица 4 - Динамика эпизоотического процесса по лейкозу крупного рогатого скота в Тюменской области в период с 2003 по 2023 гг.

Год	Выявлено неблагополучных пунктов	Оздоровлено неблагополучных пунктов	Данные мясокомбината		Осталось на конец года неблагополучных пунктов
			Установлен лейкоз	Из них утилизировано	
2003	-	16	92	61	272
2004	-	21	43	23	251
2005	-	18	23	16	233
2006	-	21	18	12	212
2007	-	30	20	11	182
2008	-	30	5	3	152
2009	-	18	7	6	134
2010	-	16	5	4	118
2011	-	4	5	5	114
2012	-	6	6	6	108
2013	-	10	3	3	98
2014	-	20	6	6	78
2015	-	8	4	4	70
2016	-	7	0	0	63
2017	-	10	0	0	53
2018	1	6	0	0	48
2019	127	14	0	0	161
2020	32	30	0	0	163
2021	46	31	0	0	178
2022	0	138	34	0	282
2023	40	77	0	0	245

Для дальнейшего анализа эпизоотической ситуации использовали методы, применяемые при лейкозе крупного рогатого скота (расчет относительных показателей заболеваемости, инфицирования, смертности, летальности, очаговости и напряженности эпизоотического процесса).

Изучение особенностей проявления эпизоотического процесса лейкоза крупного рогатого скота в хозяйствах Тюменской области в динамике 2003-2023 годов по показателям

инфицированности, заболеваемости и очаговости выявило следующие закономерности (таблица 5 и рисунок 20).

При расчете показателя заболеваемости за двадцать изучаемых лет установлено, что все числовые показатели и их расчёт указывают на снижение напряженности эпизоотического процесса.

В результате корреляционного анализа была выявлена положительная корреляция между показателем заболеваемости крупного рогатого скота и очаговостью ( $r=0,93$ ;  $P<0,001$ ). Достоверной связи между показателями инфицирования и заболеваемости, а также инфицирования и очаговости выявлено не было. Не обнаружено зависимости между перечисленными показателями и летальностью.

Показатели интенсивности эпизоотического процесса при лейкозе крупного рогатого скота на территории Тюменской области во временной динамике представлены в таблице 6.

Мониторинг эффективности противоэпизоотических мероприятий и ретроспективный анализ результатов лабораторных исследований показал, что на территории Тюменской области в период с 1989 (с момента введения серологической диагностики лейкоза) по 2023 гг. произошло существенное снижение уровня инфицированности вирусом лейкоза крупного рогатого скота среди восприимчивого поголовья. Тенденцию к снижению имел также показатель заболеваемости, который в 2003 году исследования составил 0,0206%, а в 2022 году 0,0007%. Показатель превалентности, который также позволяет оценить эпизоотический процесс, в течение периода наблюдения, также имел стабильную тенденцию к снижению. В период с 2003 по 2023 гг. он снизился более чем в 18 раз.

Таблица 5 - Эпизоотическая обстановка по лейкозу в Тюменской области по показателям заболеваемости, очаговости и летальности в динамике 2003-2023 гг.

Годы	Заболеваемость, %	Очаговость, коров/неблагополучных пунктов	Летальность, %
2003	0,0206	16,38	0,0018
2004	0,0173	13,14	0,0033
2005	0,0123	11,85	0,0022
2006	0,0095	11,22	0,0021
2007	0,0070	11,87	0,0070
2008	0,0061	12,84	0,0031
2009	0,0062	13,72	0,0011
2010	0,0060	12,43	0,0027
2011	0,0054	11,34	0
2012	0,0060	12,40	0
2013	0,0066	16,40	0
2014	0,0064	20,00	0,0006
2015	0,0058	19,59	0,0007
2016	0,0055	22,43	0
2017	0,0040	19,45	0
2018	0,0034	17,23	0
2019	0,0026	3,85	0,0032
2020	0,0016	2,29	0
2021	0,0008	1,27	0
2022	0,0007	0,54	0
2023	0,0011	0,47	0

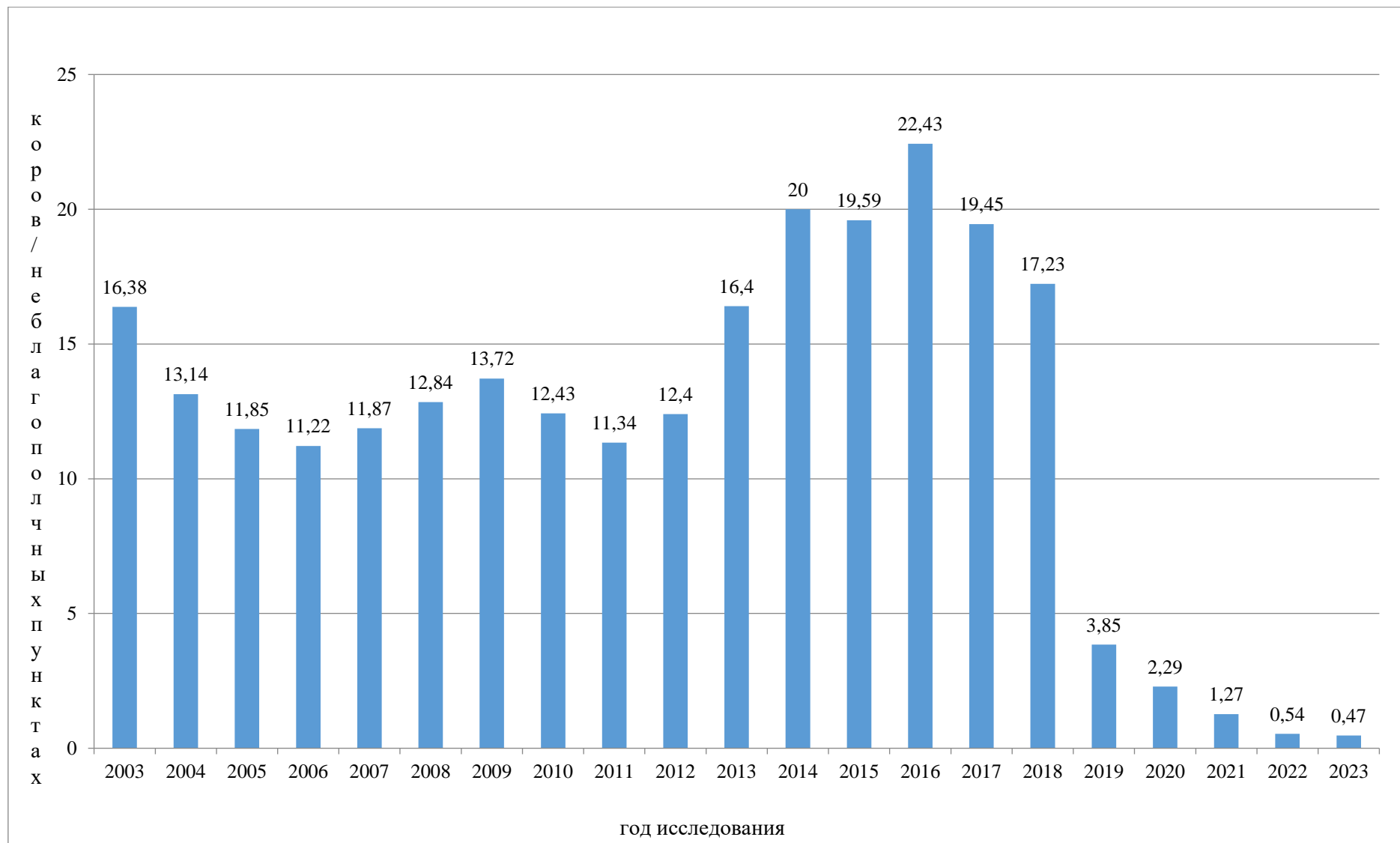


Рисунок 20 - Эпизоотическая ситуация по лейкозу КРС в Тюменской области по показателю очаговости в динамике 2003 по 2023 гг.

Таблица 6 - Показатели интенсивности эпизоотического процесса при лейкозе крупного рогатого скота на территории Тюменской области

Год исследования	Превалентность, %	Заболеваемость, %	Очаговость, гол.	Коэффициент нэп*
2003	23,76	0,0206	16,38	0,043
2004	16,52	0,0173	13,14	0,020
2005	12,98	0,0123	11,85	0,015
2006	9,48	0,0095	11,22	0,009
2007	12,04	0,0070	11,87	0,006
2008	6,17	0,0061	12,84	0,006
2009	10,12	0,0062	13,72	0,006
2010	5,22	0,0060	12,43	0,004
2011	4,60	0,0054	11,34	0,003
2012	4,20	0,0060	12,40	0,004
2013	4,68	0,0066	16,40	0,007
2014	4,18	0,0064	20,00	0,008
2015	3,82	0,0058	19,59	0,006
2016	3,84	0,0055	22,43	0,007
2017	7,53	0,0040	19,45	0,003
2018	7,84	0,0034	17,23	0,002
2019	7,88	0,0026	3,85	0,0002
2020	8,63	0,0016	2,29	0,0001
2021	4,79	0,0008	1,27	0,00001
2022	2,86	0,0007	0,54	0,00001
2023	2,01	0,0005	0,47	0,000005

Примечание: \* нэп - напряженность эпизоотического процесса

Коэффициент напряженности эпизоотического процесса (НЭП), напрямую зависящий от предыдущих показателей, четко отражает эффективность предпринятых ветеринарными службами мер. Особое значение по влиянию на напряженность эпизоотического процесса в Тюменской области принадлежит показателю заболеваемости, который снизился за двадцать лет почти в тридцать раз.

Представленные показатели позволяют сделать вывод, что меры по оздоровлению Тюменской области обладают высокой эффективностью в отношении лейкоза крупного рогатого скота, тем не менее, все предпринятые усилия не позволили освободить регион от этого заболевания.

### **3.2 Анализ эпизоотической ситуации по лейкозу крупного рогатого скота в Тюменской области 2024 году в различных физико-географических подзонах**

Установлено, что наиболее напряженная ситуация по лейкозу крупного рогатого скота зафиксирована в лесостепной зоне, подзоне северной лесостепи, где сохраняется высокая интенсивность эпизоотического процесса (таблица 7). Необходимо учитывать, что именно в этой подзоне скотоводство имеет наибольшую распространенность. При этом заметно, что проводимые противолейкозные мероприятия имеют эффективность. Так в муниципальных районах Тюменской области, расположенных в подзоне северной лесостепи, число неблагополучных пунктов снизилось на 19,4%, а число неблагополучных очагов на 25,3%.

Несмотря на то, что подзона подтайги и южной лесостепи характеризуются менее интенсивным эпизоотическим процессом по лейкозу крупного рогатого скота, эффективность оздоровительных мероприятий имеет высокую эффективность. Так, в подзоне подтайги, где расположены самые северные муниципалитеты, в которых содержится меньшее по численности, по сравнению с южными районами, поголовье крупного рогатого скота и есть абсолютно здоровые по лейкозу популяции – в Вагайском и Уватском районах. Кроме того, к концу года оздоровлен скот Тобольского района. Эффективность оздоровительных мероприятий в подзоне подтайги имеет наивысшие показатели, которые выражаются в уменьшении числа неблагополучных пунктов на 34%, и неблагополучных очагов на 40,3%.

Таблица 7 - Эпизоотическая ситуация по лейкозу крупного рогатого скота в муниципальных районах Тюменской области в 2024 году

Физико-географическая зона	Подзона	Районы	Неблагополучных пунктов на начало года	Оздоровлено пунктов	Установлено новых пунктов	Неблагополучных пунктов на конец года	Неблагополучных очагов на начало года	Оздоровлено очагов	Установлено новых очагов	Неблагополучных очагов на конец года
Тажно-лесная	Подтайги	Вагайский, Викуловский, Нижнетавдинский, Сорокинский, Тобольский, Уватский, Юргинский, Ярковский	50	23	6	33	144	83	25	86
		Абатский, Аромашевский, Гольшмановский, Заводоуковский, Исетский, Ишимский, Омутинский, Тюменский, Упоровский, Ялуторовский	165	52	20	133	395	154	42	295
Лесостепная	Южная лесостепь	Армизонский, Бердюжский, Казанский, Сладковский	29	7	1	23	121	57	12	76



В подзоне южной лесостепи также отмечена положительная тенденция к интенсивности эпизоотического процесса по лейкозу крупного рогатого скота. Так, в муниципальных районах подзоны южной лесостепи на 20,7% сократилось число неблагополучных пунктов по лейкозу, и на 37,2% уменьшилось число неблагополучных очагов за 2024 год.

Проводимые противолейкозные мероприятия обладают значительной эффективностью, но при этом не позволили до настоящего времени полностью оздоровить предприятия от лейкоза. Учитывая, то, что основная часть крупных животноводческих предприятий использует безвыгульную систему содержания, существует предположение, что в этом случае вероятность трансмиссивного распространения вируса лейкоза среди скота минимальна. В связи с этим перед нами была поставлена задача проанализировать формы собственности и системы содержания крупного рогатого скота в муниципальных районах Тюменской области на предприятиях и в частных хозяйствах, где зарегистрирован лейкоз крупного рогатого скота.

### **3.3. Распространение лейкоза крупного рогатого скота на предприятиях различных форм собственности в Тюменской области**

Основная часть животноводческой продукции в Тюменской области производится на индустриальных комплексах, где в большинстве случаев рационально организовано производство, осуществляется жесткий контроль и минимизированы риски возникновения заразных болезней. Для установления влияния антропогенных факторов на возникновение на предприятиях лейкоза крупного рогатого скота мы проанализировали неблагополучные по лейкозу предприятия и частные хозяйства во всех муниципальных районах. При анализе мы разделили все неблагополучные пункты на предприятия, личные подсобные хозяйства, крестьянско-фермерские хозяйства. Результаты инфицированности скота с распределением по физико-географическим подзонам в муниципальных районах Тюменской области за 2024 года с учетом формы собственности хозяйств представлены в таблице 8, 9 и 10.

Установлено, что в крупных сельскохозяйственных предприятиях инфицированность вирусом лейкоза имеет минимальные показатели. При этом самый высокий уровень инфицированности зарегистрирован в подзоне подтайги в Сорокинском и Викуловском районах, где инфицировано 309 голов крупного рогатого скота, что составляет 6,99% скота на неблагополучных предприятиях. Проанализировав результаты

серологических исследований, отмечено, что наивысший уровень инфицированности в Сорокинском районе в ООО «Петровка», где из 375 голов серопозитивны 199 (53,01%).

Таблица 8 – Инфицированность вирусом лейкоза крупного рогатого скота, содержащегося в сельскохозяйственных предприятиях в Тюменской области

Подзона	Район	Сельскохозяйственные предприятия		
		Всего голов в неблагополучных хозяйствах	Из них инфицировано инфицированных, голов	Инфицированность, %
Подтайги	Викуловский	1406	67	4,8
	Сорокинский	3022	242	9,4
<b>ИТОГО по подзоне</b>		<b>4428</b>	<b>309</b>	<b>6,99</b>
Северной лесостепи и	Абатский	1477	264	17,87
	Аромашевский	1290	222	17,21
	Гольшмановский	15160	145	1,0
	Исетский	11871	35	0,3
	Ишимский	2997	549	18,3
	Омутинский	6220	53	0,9
<b>ИТОГО по подзоне</b>		<b>39015</b>	<b>1268</b>	<b>3,25</b>
<b>ИТОГО по сельхозпредприятиям</b>		<b>43443</b>	<b>1577</b>	<b>3,63</b>

Крупный рогатый скот, содержащийся в сельскохозяйственных предприятиях, расположенных в подзоне северной лесостепи, оказался в наименьшей степени инфицирован вирусом лейкоза – 3,25%. Самый высокий уровень инфицированности отмечен в Абатском, Аромашевском и Ишимском районе. В Абатском районе инфицированные животные сконцентрированы в двух предприятиях – СХК «Болдыревский» и СХК «Луч», где уровень инфицированности достигал 24,4%. В Аромашевском районе три сельхозпредприятия содержат инфицированный скот – СПК «Слободчиковский», ООО «Русаковское» и ООО «Сорочинское». Уровень инфицированности в этих предприятиях достигал 38,1%. В Ишимском районе наивысший

уровень инфицированности зарегистрирован на одной из ферм ООО АК «Авангард», где весь крупный рогатый скот оказался инфицирован вирусом лейкоза.

Сельскохозяйственные предприятия подзоны южной лесостепи оказались благополучными по лейкозу крупного рогатого скота. Ни в одном из предприятий Армизонского, Бердюжского Казанского и Сладковского районов серопозитивных и больных лейкозом животных в 2024 году выявлено не было.

Крупный рогатый скот, содержащийся в личных подсобных хозяйствах оказался инфицирован во всех физико-географических подзонах, средний уровень инфицированности по всем подзонам составил 5,54% (таблица 9). Так, в подзоне подтайги наименьший уровень инфицированности зарегистрирован среди частного скота в Нижнетавдинском районе – 3,76%. В Сорокинском, Юргинском и Ярковском районах уровень инфицированности находился в пределах 7,77-8,73%.

В подзоне северной лесостепи во всех муниципальных районах среди частного скота диагностирован лейкоз и выявлено наибольшее количество инфицированных животных – 2027 голов, что составило 6,87% от всего, содержащегося в личных подсобных хозяйствах крупного рогатого скота. Самый высокий уровень инфицированности зарегистрирован в Абатском, Заводоуковском и Упоровском районах, где доля инфицированных животных варьировала от 11,02 до 17,87%.

Таблица 9 – Инфицированность вирусом лейкоза крупного рогатого скота, содержащегося в личных подсобных хозяйствах в Тюменской области

Подзона	Район	Личные подсобные хозяйства		
		Всего голов в неблагополучных хозяйствах	Из них инфицировано инфицированных, голов	Инфицированность, %
Подтайги	Нижнетавдинский	1250	47	3,76
	Сорокинский	436	37	8,49
	Юргинский	355	31	8,73
	Ярковский	1956	152	7,77
<b>ИТОГО по подзоне</b>		<b>3997</b>	<b>267</b>	<b>6,68</b>
Северной лесостепи	Абатский	1477	264	17,87
	Аромашевский	1078	88	8,16
	Гольшмановский	2613	259	9,91

	Заводоуковский	1040	173	16,64
	Исетский	7019	159	2,27
	Ишимский	5684	513	9,03
	Омутинский	1675	11	0,66
	Тюменский	1277	42	3,29
	Упоровский	4610	508	11,02
	Ялуторовский	3033	10	0,33
<b>ИТОГО по подзоне</b>		<b>29506</b>	<b>2027</b>	<b>6,87</b>
Южной лесостепи	Армизонский	3504	141	4,02
	Бердюжский	1268	7	0,55
	Казанский	5938	77	1,30
	Сладковский	1882	36	1,91
<b>ИТОГО по подзоне</b>		<b>12592</b>	<b>261</b>	<b>2,07</b>
<b>ИТОГО по личным подсобным хозяйствам</b>		<b>46095</b>	<b>2555</b>	<b>5,54</b>

В подзоне южной лесостепи определен наименьший уровень инфицированности среди частного скота – 2,07%. Серопозитивных животных выявляли во всех муниципальных районах подзоны. Наивысший уровень инфицированности зарегистрирован в Армизонском районе – 4,02%, наименьший в Бердюжском – 0,55%

Крупный рогатый скот, содержащийся в крестьянско-фермерских хозяйствах имел наивысший уровень инфицированности – 15,46% (таблица 10). Животные в подзоне подтайги и северной лесостепи были инфицированы практически на одном уровне 15,14 и 16,64% соответственно.

В подзоне подтайги наивысший уровень инфицированности в Юргинском и Ярковском районах, где скот инфицирован лейкозом в 21,7 и 23,3% соответственно. Отмечено, что некоторые индивидуальные предприниматели имели стада, состоящие только из инфицированного скота.

Таблица 10 – Инфицированность вирусом лейкоза крупного рогатого скота, содержащегося в крестьянско-фермерских хозяйствах Тюменской области

Подзона	Район	Крестьянско-фермерские хозяйства		
		Всего голов в неблагополучных хозяйствах	Из них инфицировано инфицированных, голов	Инфицированность, %
Подтайги	Нижнетавдинский	1673	234	14,0
	Юргинский	60	13	21,7
	Ярковский	189	44	23,3
<b>ИТОГО по подзоне</b>		<b>1922</b>	<b>291</b>	<b>15,14</b>
Северной лесостепи	Аромашевский	562	145	25,8
	Гольшмановский	256	163	63,7
	Исетский	481	150	31,2
	Ишимский	1311	575	43,6
<b>ИТОГО по подзоне</b>		<b>6210</b>	<b>1033</b>	<b>16,64</b>
Южной лесостепи	Сладковский	958	81	8,46
<b>ИТОГО по подзоне</b>		<b>958</b>	<b>81</b>	<b>8,46</b>
<b>ИТОГО по крестьянско-фермерским хозяйствам</b>		<b>9090</b>	<b>1405</b>	<b>15,46</b>

В подзоне северной лесостепи показатели инфицированности скота в крестьянско-фермерских хозяйствах имел более высокие показатели, которые варьировали от 25,8% в Аромашевском районе и до 63,7% в Гольшмановском районе. Также отмечено, что в ряде районов – Абатском, Заводоуковском, Омутинском, Тюменском, Упоровском и Ялуторовском районах скот, содержащийся в крестьянско-фермерских хозяйствах был свободен от вируса лейкоза.

В подзоне южной лесостепи лейкоз среди крупного рогатого скота выявлен лишь в одном крестьянско-фермерском хозяйстве Сладковского района. Уровень инфицированности составил 8,46%.

### 3.4. Анализ возможного пути передачи вируса лейкоза крупного рогатого скота через слепней, встречающихся на территории Тюменского района

*Tabanus bovinus L.* - европейский лесной и лесостепной вид, более обычный в придолинных лесах, по берегам водоемов и на опушках. Достаточно хорошо распространен на территории Тюменского района. Самки способны к дальним перелетам, добычу разыскивают более активно, разлетаясь от мест выплода на расстояние до 4-5 км и более. Самки начинают повторный поиск крови почти сразу же после окончания яйцекладки и, таким образом, активно нападают на добычу в течение всего периода жизни. Активно нападают на коров, предпочитая верхнюю часть тела. Экспериментально доказанный переносчик сибирской язвы.

*Tabanus bromius L.* - наиболее обычен и многочислен в степной зоне Западной Сибири. Лет в июне-августе. Кровосос. Нападает в течение всего дня, особенно в солнечные безветренные дни. Самки очень досаждают коровам, прокусывая у них преимущественно грудь, ноги, живот и пахотную область. Доказанный переносчик возбудителей сибирской язвы, туляремии и трипанозомоза верблюдов и лошадей.

Контрольные исследования слепней данных видов после их кровососания крови инфицированной вирусом лейкоза коровы приведены в таблице 11.

Таблица 11 - Контрольные исследования слепней видов *Tabanus bovinus L.* И *Tabanus bromius L.* после их кровососания крови инфицированной вирусом лейкоза коровы

Время диагностики крови слепней методом ПЦР после кровососания	% слепней, в крови которых был обнаружен ВЛКРС	
	<i>Tabanus bovinus L.</i> n=30	<i>Tabanus bromius L.</i> n=30
Через 12 часов	-	-
Через 24 часа	-	-
Через 2 дня	-	-
Через 3 дня	-	-
Через 4 дня	-	-
Через 5 дней	-	-

### 3.5. Распространение иксодовых клещей среди крупного рогатого скота, инфицированного вирусом лейкоза, в Тюменской области

Установив распространение лейкоза среди крупного рогатого скота в разрезе муниципальных районов Тюменской области мы отобрали предприятия, которых на протяжении нескольких лет зарегистрирован лейкоз и провели в них акарологические исследования. Критерием отбора неблагополучных предприятий и фермерских хозяйств являлось наличие выпаса у животных в летний период (таблица 12).

В местах выпаса крупного рогатого скота, инфицированного вирусом лейкоза, производили сбор иксодовых клещей с растительности (рисунок 21 и 22). Также собирали напитавшихся иксодид с животных (рисунок 23 и 24).



Рисунок 21 и 22 – Сбор иксодовых клещей на волокушу (оригинал)

Данные о видовом составе иксодид на обследуемых территориях представлены в таблице 13.



Рисунок 23 и 24 – Сбор иксодовых клещей с животных (оригинал)

Всего обследовано 7703 головы крупного рогатого скота в хозяйствах, расположенных в трех физико-географических природных подзоны. В подзоне подтайги животных обследовали 1034 головы в Сорокинском, Юргинском и Ярковском районе. Установлено, что инфицированность скота в этой подзоне в хозяйствах с различной формой собственности (за исключением частного скота) составила 28,92%. Амплитуда инфицирования составила от 7,62 (в ООО «Пинигинское») до 100% (в ИП К(Ф)Х Шульц А.А.).

В подзоне северной лесостепи обследование неблагополучных предприятий произвели в шести из 10 районах. Всего в этой подзоне обследовано 6540 голов крупного рогатого скота, из которых инфицировано вирусом лейкоза 2283 или 34,91%. Наибольшие показатели инфицированности зарегистрированы в Голышмановском районе в ООО «Грачи» и КФХ «Исмаков» 52,08 и 62,20% соответственно, а также в Ишимском районе в КФХ «Трейзе В.Ф» - 73,54% и в Омутинском районе в ООО «Яблочный» - 61,63%.



Таблица 12 – Распространение лейкоза крупного рогатого скота в скотоводческих предприятиях и крестьянско-фермерских хозяйствах

Тюменской области

Физико-географическая подзона	Район исследования	Наименование предприятия, К(Ф)Х	Количество животных, голов	Из них вирусоносителей,	
				животных	%
Подтаёжная	Сорокинский	ООО «Петровка»	375	199	53,07
		ООО «Пинигинское»	564	43	7,62
	Юргинский	ИП К(Ф)Х Шульц А.А.	13	13	100
	Ярковский	КФХ Воронкова Н.Л.	82	44	53,66
Северная лесостепь	Абатский	ПСХК «Болдыревский»	952	231	24,27
		СХК «Луч»	135	33	24,44
	Аромашевский	СПК «Слободчиковский»	205	67	32,68
		ООО «Русаковское»	346	115	33,24
		ООО «Сорочинское»	105	40	38,10
		ИП «Свистунов»	312	128	41,03
		ИП глава КФХ Горбунов	102	17	16,67
	Гольшмановский	ООО «Грачи»	265	138	52,08
		КФХ «Исмаков»	246	153	62,20
	Исетский	ООО «Кукушкинское»	830	35	4,22
		КФХ Эскиев	220	56	25,46
		КФХ Жамбурин	261	94	36,02
	Ишимский	ООО «Авангард»	780	316	40,51
		ЗАО «Песьяновское»	583	233	39,97
		КФХ «Трейзе В.Ф.»	446	328	73,54
		ИП «Марьев Г.Н.»	666	246	39,94
	Омутинский	ООО «Яблочный»	86	53	61,63
Южная лесостепь	Сладковский	К/Х «Роса	129	81	62,79
<b>ИТОГО:</b>			7703	2663	34,57

В подзоне южной лесостепи выявлено лишь одно неблагополучное предприятие – крестьянское хозяйство «Роса» в котором уровень инфицированности крупного рогатого скота вирусом лейкоза составил 62,79%.

Для отбора биологического материала и проведения молекулярно-генетических исследований мы собирали иксодовых клещей в местах выпаса животных и непосредственно с животных неблагополучных по лейкозу хозяйств.

Иксодовых клещей в природе отлавливали при помощи флага или волокуши. Для транспортировки иксодовых клещей хранили в специально подготовленных для этого стеклянных пробирках (рисунок 25, 26).



Рисунок 25 – Хранение иксодовых клещей, собранных с территорий, где выпасаются инфицированные вирусом лейкоза животные



Рисунок 26 – Хранение напитавшихся имаго иксодовых клещей, собранных с крупного рогатого скота, инфицированного вирусом лейкоза.

В Тюменской области фауна иксодовых клещей представлена шестью видами - это *Ixodes persulcatus* Schulze, 1930, *Dermacentor reticulatus* Fabricius 1794 (*D. pictus*, Hermann, 1804), *D. marginatus* Sulz, 1776, *I. apronophorus* P. Sch., 1924, *I. (Exopalpigier) trianguliceps* Bir., 1895 и *I. (Ceratiixodes) plumbeus*, Kirsch., 1936 [10,116,173,182,183].

При сборе иксодовых клещей в неблагополучных по лейкозу крупного рогатого скота хозяйствах были определены три вида – *I. persulcatus*, *D. reticulatus* и *D. marginatus*.

Результаты сбора иксодовых клещей и их видовое распределение представлено в таблице 9.

Всего за сезон 2024 года в неблагополучных по лейкозу хозяйствах собрано 1496 имаго иксодовых клещей, из них с животных снято 690 особей или 46,12% от общего количества, а на пастбищах за 36 флаго-часов отловлено 806 иксодовых клещей (53,88%).

При обследовании животных обнаружено паразитирование трёх видов иксодовых клещей, распространенных в биотопах. При идентификации вида иксодид в общих сборах установлено, что доминирующими видами являлись *Ixodes persulcatus* ИД – 36,23% и *Dermacentor reticulatus* ИД – 54,14%, в незначительных количествах встречался *D. marginatus* ИД – 9,63%.

Соотношение видов иксодовых клещей варьировало в зависимости от ландшафтной зоны исследования. Так, в подзоне подтайги доминировал *I. persulcatus* ИД – 54,32%, а в подзоне северной лесостепи *D. reticulatus* ИД – 52,73%. В подзоне южной лесостепи преобладали особи *D. reticulatus* индекс доминирования которых составил 73,81%. Доля *D. marginatus* в каждой обследованной подзоне варьировала, но в наибольшем количестве клещей этого вида собрали в подзоне южной лесостепи - 15,31% от общих сборов в этой подзоне.

Таблица 13 – Видовой состав иксодовых клещей, собранных в скотоводческих предприятиях Тюменской области, неблагополучных по лейкозу крупного рогатого скота

Собрано клещей, особей	в том числе													
	на пастбище							с животных						
	<i>D. reticulatus</i>		<i>D. marginatus</i>		<i>I. persulcatus</i>		всего	<i>D. reticulatus</i>		<i>D. marginatus</i>		<i>I. persulcatus</i>		всего
	особей	%	особей	%	особей	%	особей	особей	%	особей	%	особей	%	особей
Подзона подтайги														
442	84	42,42	12	6,06	102	51,52	198	90	36,88	17	6,97	137	56,15	244
Подзона северной лесостепи														
734	230	57,21	33	8,21	139	34,58	402	157	47,29	33	9,94	142	42,77	332
Подзона южной лесостепи														
320	159	77,18	28	13,60	19	9,22	206	90	78,95	21	18,42	3	2,63	114

Амплитуда колебания численность иксодовых клещей на теле крупного рогатого скота составила от 0 до 19 особей. Индекс встречаемости иксодид составил 87,20%, при индексе обилия 2,64 особи.

Основными местами питания иксодовых клещей у крупного рогатого скота являются шея, подгрудок и голова, именно в этих локациях обнаруживали основную часть имаго иксодид (рисунок 27-30).



Рисунок 27-30 – Локализация иксодид у крупного рогатого скота

Паразитирование иксодовых клещей на крупном рогатом скоте наблюдали с момента выгона на пастбище (конец апреля – начало мая) и до конца октября. Осенний сезон 2024

года оказался сухим, теплым с продолжительным периодом положительных температур, что способствовало паразитированию иксодид.

### **3.6. Подготовка культуры для изучения возможности трансвариальной и трансфазной передачи вируса лейкоза крупного рогатого скота**

Для воспроизведения биологического цикла иксодовых клещей в лабораторных условиях использовали сытых самок различной степени насыщения, снятых с инфицированных вирусом лейкоза животных [74,182,183].

Живая масса имаго *D. reticulatus* собранных с крупного рогатого скота имела колебания живой массы от 2,7 до 6,8 мг. Мы разделили собранных иксодид на три группы: низкая - до 3 мг, средняя - от 3 до 5 мг и высокая - свыше 5 мг и наблюдали за их жизнеспособностью и выживаемостью (таблица 14).

Жизнеспособность собранных особей определяли по видимым признакам жизни: свободные движения, вынужденные движения, реакция на углекислый газ и отсутствие видимых признаков жизни (рисунок 31).



Рисунок 31 – Самки иксодовых клещей различной степени насыщения

Для определения возможности трансвариальной передачи, сытым самкам создавали благоприятные условия для получения яйцекладки.

Всего для эксперимента задействовали 14 сытых самок (рисунок 32), которые были размещены в термостате и дали яйцекладку в течение 4-5 дней после снятия с животных (рисунок 33, 34).

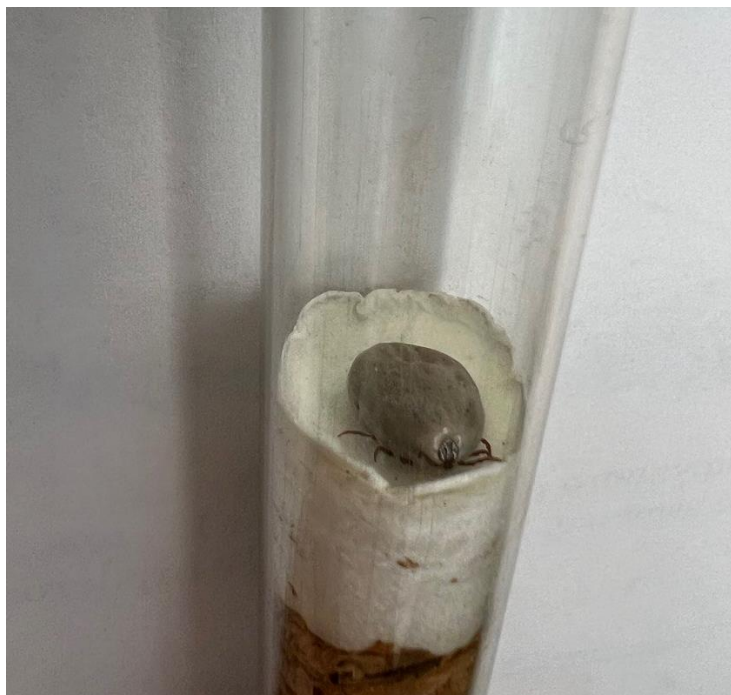


Рисунок 32 – Самка, подготовленная к культивированию



Рисунок 33, 34 – Яйцекладка сытых самок, питавшихся на инфицированных вирусом лейкоза животных

В качестве контроля использовали иксодовых клещей, напитавшихся на здоровых животных.

Полученную кладку яиц размещали в термостате при температуре 27°C и влажности воздуха 55-60% (рисунок 35).

Через 7-8 суток после откладки яиц из них начали появляться личинки (рисунок 36).



Рисунок 35 – Культивирование иксодовых клещей в лабораторных условиях



Рисунок 36 – Выход личинок клеща *D. reticulatus*



После полного выхода личинок размещали на лабораторном животном (кролике), на котором они питались в течение 2-3 суток. Метаморфоз нимф продолжался в течение 5-8 суток, после чего все нимфы выходили в течение 2-3 суток.

Полученные нимфы (рисунок 37, 38) были переданы для молекулярно-генетических исследований.



Рисунок 37 – Выход личинок *D. reticulatus*



Рисунок 38 – Нимфы *D. reticulatus*, переданные для молекулярно-генетических исследований

### 3.7. Изучение возможности резервации вируса лейкоза крупного рогатого скота в имаго *D. reticulatus*

Для реализации этой задачи лабораторную культуру *Dermacentor reticulatus* выкармливали на больных лейкозом, инфицированных (РИД+) и здоровых животных.

После насыщения (в течение 9-12 суток) сытые самки каждой группы были использованы в двух назначениях: одно – для дальнейшего метаморфоза; второе – для лабораторного исследования на обнаружении в них провируса лейкоза.

Взрослые клещи, также направлялись для лабораторных испытаний.

Все фазы развития клещей в лаборатории, до начала исследований, находились при температуре минус 18°C.

Результаты молекулярно-генетических исследований имаго клещей приведены в таблице 14.

Таблица 14 - Результаты молекулярно-генетических исследований имаго клещей, выкармливаемых на здоровых, инфицированных и больных лейкозом животных

Группа	Выкармлено самок иксодид всего, особей	Передано для лабораторной диагностики, особей	Наличие провируса лейкоза в теле иксодового клеща у...	
			Особей	%
1 – ая, опытная, имаго, выкармливаемые на серопозитивных животных	11	5	5	100
2-ая, опытная, имаго, выкармливаемые гематологически больных животных	22	14	13	92,9±1,9
3-я, контрольная, имаго выкармливаемые на здоровых животных	9	5	0	0

В результате лабораторных испытаний установлено, что в теле имаго клещей, выкармливаемых на серопозитивных животных (n-5) обнаружена молекула ДНК провируса лейкоза крупного рогатого скота. Исследования методом полимеразной цепной реакции иксодид, снятых с гематологически больных животных (n-13) в 92,9±1,9% случаев удалось подтвердить наличие ДНК провируса лейкоза крупного рогатого скота. Исследование

иксодид, напитавшихся на здоровых животных (n-13), подтвердило отсутствие в теле у клещей возбудителя лейкоза крупного рогатого скота на протяжении всего опыта.

Учитывая то, что лабораторные испытания проводились на протяжении календарного года, то есть с момента предоставления биоматериала в лабораторию, где клещи подвергались хранению при низких температурах, тем не менее, даже спустя длительный период после их питания, в теле иксодид обнаруживали возбудителя лейкоза, что свидетельствует о его высокой устойчивости при нахождении в биологическом объекте.

Проведенные исследования дают основание утверждать, что вирус лейкоза крупного рогатого скота способен сохраняться в теле иксодовых клещей на протяжении одного года.

### **3.8. Изучение возможности трансвариальной передачи вируса лейкоза крупного рогатого скота в имаго *D. reticulatus***

Учет результатов проводили по наличию специфического фрагмента провирусной ДНК лейкоза крупного рогатого скота в соответствии с контролями. Визуализацию ПЦР-продукта осуществляли методом визуального контроля кривой на дисплее амплификатора. Детекцию результатов проводили системой гель-документирования (BertholdTechnologies, Германия). Для сравнения эффективности диагностических приемов при лейкозе крупного рогатого скота нами были применены молекулярно-генетические методы исследования проб крови серопозитивных животных.

Материалом для ДНК-анализа послужили пробы, промаркированные следующим образом:

1 - личинки, после метаморфоза из яиц, отложенных самками *D. reticulatus* после питания на здоровых животных (контроль).

1.1 - личинки, после метаморфоза из яиц, отложенных самками *D. reticulatus* после питания на инфицированных вирусом лейкоза животных;

2 - голодные имаго *D. reticulatus*, собранные с территории, где выпасался крупный рогатый скот, инфицированный вирусом лейкоза (рисунок 39).

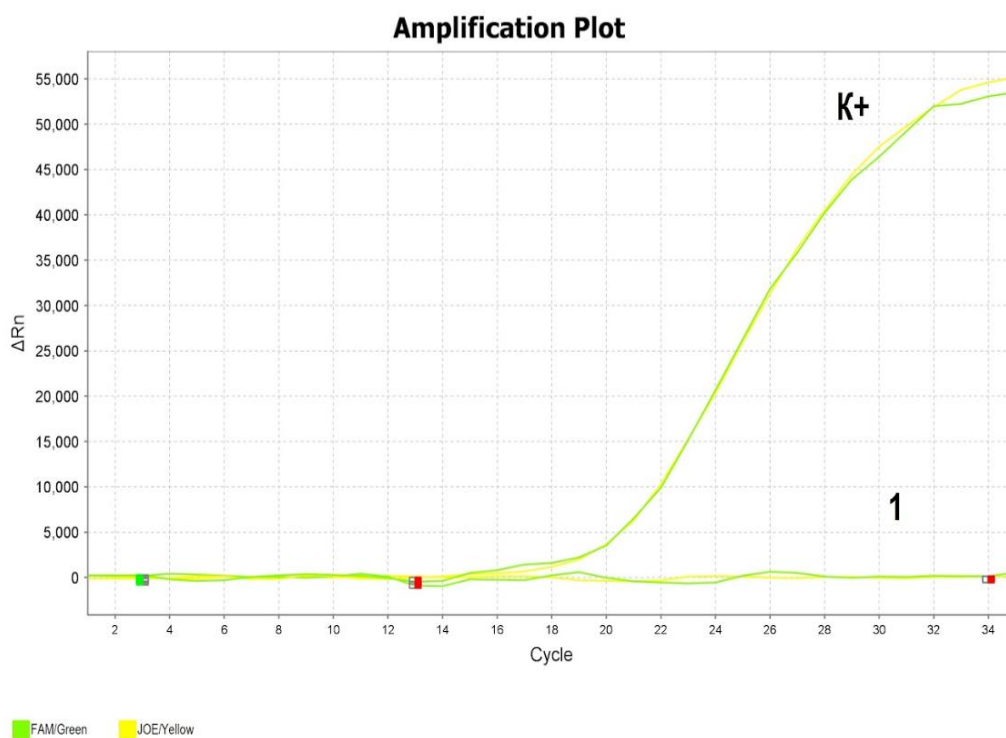
Результаты исследований представлены в таблице 15, профили продуктов ПЦР амплификации проб представлены на рисунках 40-42.



Рисунок 39 – Пробы, переданные для ДНК-анализа

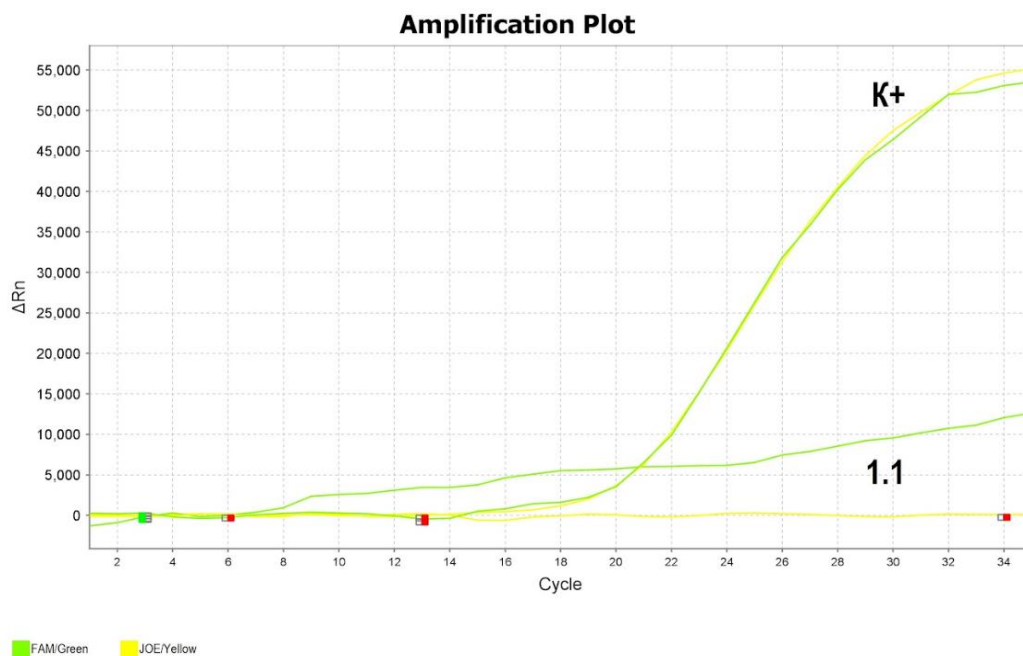
Таблица 15 – Результаты исследований иксодовых клещей в различных стадиях метаморфоза на наличие провируса лейкоза крупного рогатого скота Тюменской области в 2023 году

Наименование пробы	Результат исследования по выявлению провируса лейкоза крупного рогатого скота		
	Рисунок	Результат	Наличие
1	рисунок 28	отрицательный	отсутствие
1.1.	рисунок 29	положительный	наличие
2	рисунок 30	отрицательный	отсутствие



Активация Windows

Рисунок 40 - Профиль продукта ПЦР амплификации кривой пробы 1 (личинки, после метаморфоза из яиц, отложенных самками *D. reticulatus* после питания на здоровых животных (контроль)).



Активация Windows

Рисунок 41 - Профиль продукта ПЦР амплификации кривой пробы 1.1 (личинки, после метаморфоза из яиц, отложенных самками *D. reticulatus* после питания на инфицированных вирусом лейкоза животных)

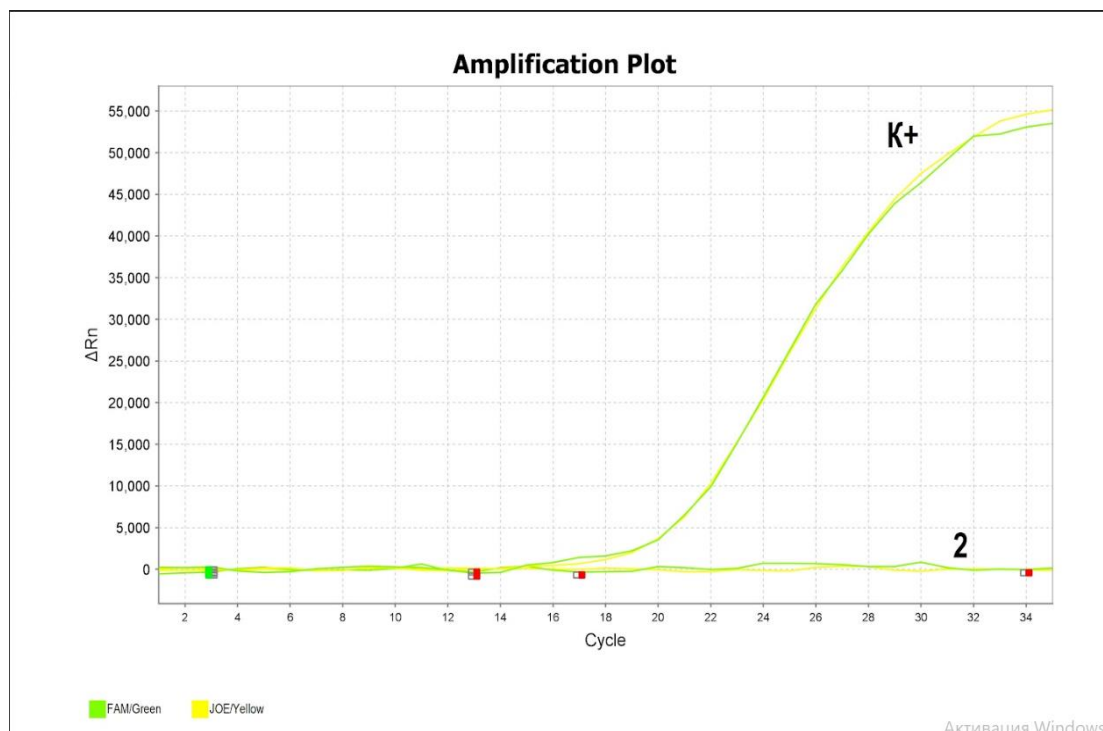


Рисунок 42 - Профиль продукта ПЦР амплификации кривой пробы 2 (голодные имаго *D. reticulatus*, собранные с территории, где выпасался крупный рогатый скот, инфицированный вирусом лейкоза)

При ПЦР анализе проб установлено, что провирус лейкоза отсутствовал в пробах с контрольными личинками, а также его не обнаружили при исследовании голодных имаго иксодовых клещей, собранных с территории, где выпасается инфицированный крупный рогатый скот.

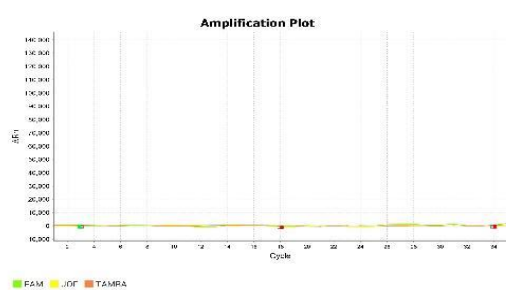
Подтверждено наличие провируса лейкоза в личинках, полученных от самок, питавшихся на инфицированных животных.

Настоящие исследования подтвердили способность вируса лейкоза проникать трансвариально и был обнаружен в личинках иксодовых клещей после метаморфоза из яиц, отложенных самками *D. reticulatus* после питания на инфицированных вирусом лейкоза животных. По рисунку 29 видно, что уровень обнаруженного вируса невысокий, этот факт можно объяснить генетической вариабельностью вируса, а также низким уровнем вирусной нагрузки в исследуемых пробах. Кроме того, также можно предположить о снижении чувствительности реагентки, использованной в проведении исследования на этапах пробоподготовки (фенольным, "COrDIS SPRINT") либо погрешности в протоколе амплификации (большое/малое количество циклов на этапе синтеза получения ампликонов).

### 3.9. Изучение возможности трансфазной передачи вируса лейкоза крупного рогатого скота в имаго *D. reticulatus*

Учет результатов проводили по наличию специфического фрагмента провирусной ДНК лейкоза крупного рогатого скота в соответствии с контролями. Визуализация ПЦР-продукта осуществлялась методом визуального контроля кривой на дисплее амплификатора QuantStudio 5.0 Real-Time. Детекция результатов проводилась системой гель-документирования (Berthold Technologies, Германия). Для сравнения эффективности диагностических приемов при лейкозе крупного рогатого скота нами были применены молекулярно-генетические методы исследования проб крови серопозитивных животных.

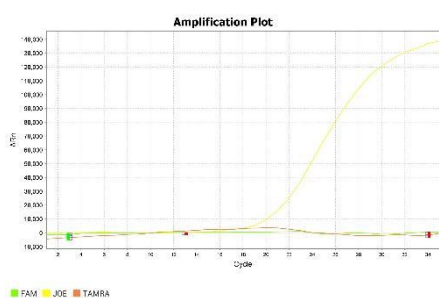
Отрицательный контроль представлен на рисунке 43, который показал отсутствие контаминации в проведении амплификации – значения порогового цикла (Ct) по каждому из каналов.



Well	Sample Name	Target Name	Dyes	Ct	Amp Status
A1	K-	FAM	FAM-NFQ-...	Undeter...	No Amp
A1	K-	JOE	VIC-NFQ-M...	Undeter...	No Amp

Рисунок 43 - Профиль продукта ПЦР амплификации кривой отрицательного контроля пробы ДНК BLV

Положительный контроль представлен на рисунке 35, который показал S-образный график по каналу JOE, а также значение Ct равное 20, что попадает под необходимые параметры и говорит о том, что оба контроля прошли успешно и результаты достоверны.



Well	Sample Name	Target Name	Dyes	Ct	Amp Status
B1	K+	FAM	FAM-NFQ-...	Undeter...	No Amp
B1	K+	JOE	VIC-NFQ-M...	20.970	Amp

Рисунок 44 - Профиль продукта ПЦР амплификации кривой положительного контроля пробы ДНК BLV

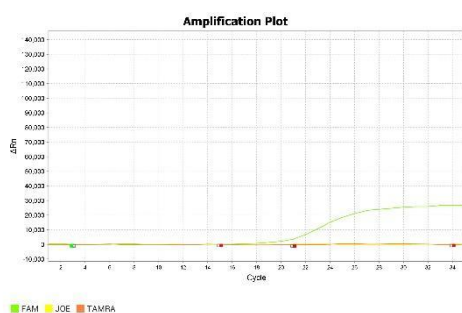
Материалом для ДНК-анализа послужили пробы, промаркированные следующим образом:

1 - нимфы, после метаморфоза из личинок, отложенных самками *D. reticulatus* после питания на инфицированных вирусом лейкоза крупного рогатого скота животных.

2 - нимфы, после метаморфоза из личинок, отложенных самками *D. reticulatus* после питания на инфицированных вирусом лейкоза крупного рогатого скота животных.

3 - нимфы, после метаморфоза из личинок, отложенных самками *D. reticulatus* после питания на здоровых животных.

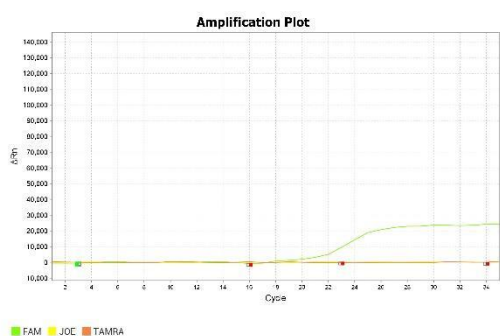
Результаты проведенного анализа для пробы № 1 в соответствии с интерпретацией результатов ПЦР ДНК BLV позволили отметить, что ДНК BLV обнаружена в незначительном количестве и согласно критериев, представленных в таблице 2 и 3 являются отрицательными (рисунок 45).



Well	Sample Name	Target Name	Dyes	Ct	Amp Status
C1	1	FAM	FAM-NFQ-...	20.576	Amp
C1	1	JOE	VIC-NFQ-M...	Undeter...	No Amp

Рисунок 45 - Профиль продукта ПЦР амплификации кривой пробы 1

Результаты проведенного анализа для пробы № 2 в соответствии с интерпретацией результатов ПЦР ДНК BLV позволили отметить, что ДНК BLV обнаружена в незначительном количестве и согласно критериев, представленных в таблице 2 и 3 являются отрицательными (рисунок 46).

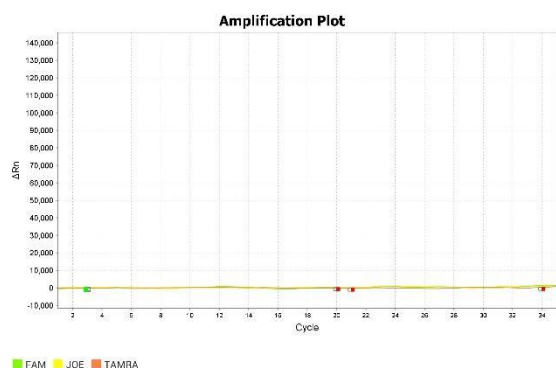


Well	Sample Name	Target Name	Dyes	Ct	Amp Status
D1	2	FAM	FAM-NFQ-...	20.981	Amp
D1	2	JOE	VIC-NFQ-M...	Undeter...	No Amp

Рисунок 46 - Профиль продукта ПЦР амплификации кривой пробы 2



Результаты проведенного анализа отрицательного контроля экстракции в соответствии с интерпретацией результатов ПЦР ДНК BLV позволили отметить, что ДНК BLV не была обнаружена (рисунок 47), что говорит об отсутствии контаминации проб на стадии выделения.



Well	Sample Name	Target Name	Dyes	Ct	Amp Status
E1	OKO	FAM	FAM-NFQ-...	Undeter...	No Amp
E1	OKO	JOE	VIC-NFQ-M...	Undeter...	No Amp

Рисунок 47 - Профиль продукта ПЦР амплификации кривой пробы отрицательного контроля экстракции

Результаты исследований по идентификации ДНК BLV представлены в таблице 16.

Таблица 16 – Результаты исследований нимф иксодовых клещей на наличие провируса лейкоза крупного рогатого скота Тюменской области в 2024 году

Номер исследования	Наименование пробы	Результат исследования		
		рисунок	результат	комментарий
1.	Нимфы <i>D. reticulatus</i> после питания имаго на инфицированных вирусом лейкоза крупного рогатого скота животных	рисунок 35	отрицательный	отсутствие
2.	Нимфы <i>D. reticulatus</i> после питания имаго на инфицированных вирусом лейкоза крупного рогатого скота животных	рисунок 36	отрицательный	отсутствие

На основании полученных данных можно отметить, что из двух проб нимф *D. reticulatus* после питания имаго на инфицированных вирусом лейкоза крупного рогатого

скота животных ПЦР-диагностикой не выявлен ДНК BLV.

Такие отличия в результатах можно объяснить генетической вариабельностью вируса, а также низким уровнем вирусной нагрузки в исследуемых пробах, а также можно предположить о снижении чувствительности реагентики, использованной в проведении исследования на этапах пробоподготовки. Поэтому в дальнейшем будут использованы методики выделения с помощью магнитный частиц, колонок, а также апробировано исследованием с помощью SNP- маркеров.

## ВЫВОДЫ

Мониторинг эффективности противоэпизоотических мероприятий и ретроспективный анализ результатов лабораторных исследований в Тюменской области показал достаточно высокую, но не абсолютную эффективность противолейкозных мероприятия.

В настоящее время в регионе доля больных лейкозом коров снижается и составляет 0,4%.

Уровень инфицированных животных за период с 2003 по 2023 гг. снизился на 95,52% и составил 1,68% в 2023 году.

Показатель превалентности также имел стабильную тенденцию к снижению. В период с 2003 по 2023 гг. он снизился практически в 12 раз с 23,76 до 2,01.

Показатель заболеваемости лейкозом среди крупного рогатого скота, снизился за двадцать лет почти в тридцать раз с 0,0206 до 0,0011%.

Коэффициент напряженности эпизоотического процесса (НЭП) по лейкозу крупного рогатого скота в Тюменской области за период наблюдений снизился с 0,043 до 0,000005.

Среди двадцати двух муниципалитетов Тюменской области свободными от вируса лейкоза крупного рогатого скота являются три – Тобольский, Уватский и Вагайский районы.

В течение 2024 года наивысшие показатели эффективности оздоровительных мероприятий зарегистрированы в подзоне подтайги, где уменьшилось число неблагополучных пунктов на 34%, и неблагополучных очагов на 40,3%. В муниципальных районах Тюменской области, расположенных в подзоне северной лесостепи, число неблагополучных пунктов снизилось на 19,4%, а число неблагополучных очагов на 25,3%. В подзоне южной лесостепи на 20,7% сократилось число неблагополучных пунктов по лейкозу, и на 37,2% уменьшилось число неблагополучных очагов.

Инфицированность крупного рогатого скота вирусом лейкоза имеет наименьшие показатели в крупных сельскохозяйственных предприятиях – 3,63%. Крупный рогатый скот, содержащийся в личных подсобных хозяйствах оказался инфицирован лейкозом на 5,54%. Крупный рогатый скот, содержащийся в крестьянско-фермерских хозяйствах имел наивысший уровень инфицированности – 15,46%.

Для проведения молекулярно-генетических исследований отбирали кровососущих членистоногих из предприятий с наивысшим уровнем инфицированности вирусом лейкоза

крупного рогатого скота, амплитуда инфицированности в базовых предприятиях составила 34,91-100%.

При сборе слепней основу фауны составляли два вида - *Tabanus bovinus Linnaeus, 1758*, *Tabanus bromius Linnaeus, 1758*.

При сборе иксодовых клещей выявлено паразитирование трёх видов иксодовых клещей *Ixodes persulcatus* ИД – 36,23% и *Dermacenter reticulatus* ИД – 54,14%, в незначительных количествах встречался *D. marginatus* ИД – 9,63%. Амплитуда колебания численности иксодовых клещей на теле крупного рогатого скота составила от 0 до 19 особей. Индекс встречаемости иксодид составил 87,20%, при индексе обилия 2,64 особи.

При спонтанном питании слепней *Tabanus bovinus L.* и *Tabanus bromius L.* на крупном рогатом скоте в их теле не обнаружен вирус лейкоза крупного рогатого скота.

Имаго иксодовых клещей способных сохранять в своем организме молекулу ДНК провируса лейкоза крупного рогатого скота в 92,9-100% при питании на гематологически больных и серопозитивных животных соответственно.

При ПЦР анализе проб установлено, что провирус лейкоза отсутствовал в пробах с контрольными личинками, а также его не обнаружили при исследовании голодных имаго иксодовых клещей, собранных с территории, где выпасается инфицированный крупный рогатый скот.

Подтверждено наличие провируса лейкоза в личинках, полученных от самок, напивавшихся на инфицированных животных.

Вирус лейкоза крупного рогатого скота способен сохраняться в теле имаго иксодовых клещей на протяжении не менее одного года.

Установлена способность вируса лейкоза крупного рогатого скота проникать трансвариально. Провирус лейкоза крупного рогатого скота был обнаружен в личинках иксодовых клещей после метаморфоза из яиц, отложенных самками *D. reticulatus* после питания на инфицированных вирусом лейкоза животных.

При молекулярно-генетических исследованиях нимф, после метаморфоза из личинок, отложенных самками *D. reticulatus* после питания на инфицированных вирусом лейкоза серопозитивных животных установлено низкое содержание вируса, что не позволяет интерпретировать результаты как положительные.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Автушенко, Е.Г. Медицинская паразитология: учеб, пособие / Е.Г. Автушенко. Е.П. Гаврилова, Ф.И. Межазакис. - Санкт-Петербург: Изд-во Фолиант, 2003. - 128 с. -Текст : непосредственный.
2. Адилова, А.А. Гистологическое строение кишечника и слюнных желез слепней / А.А. Адилова // Двукрылые насекомые и их значение в сельском хозяйстве. -Ленинград, 1987.-С. 4-5. -Текст : непосредственный.
3. Адилова, А.А. Морфофункциональное состояние кишечника и слюнных желез слепня *Tabanus bromius* в процессе переваривания крови / А.А. Адилова // Успехи энтомологии СССР. Двукрылые: систематика, экология, медицинское и ветеринарное значение. -Санкт-Петербург, 1992. - С. 85. -Текст : непосредственный.
4. Айала, Ф. Современная генетика: учебное издание / Ф. Айала, Д. Кайгер. - Москва: Мир, 1988. - том II. - 368 с. -Текст : непосредственный.
5. Алексеев, Г.А. Лейкозы: патогенез, клиника и лечение: монография / Г.А. Алексеев. - Москва: Изд-во Центрального института усовершенствования врачей, 1980. - 188 с. -Текст : непосредственный.
6. Алтухов, Ю.П. Генетические процессы в популяциях: учеб, пособие / Ю.П. Алтухов. - Москва: Академ-книга, 2003. - 431 с. -Текст : непосредственный.
7. Анализ эпизоотической ситуации по лейкозу крупного рогатого скота в Сибирском федеральном округе / М. И. Гулюкин, А. М. Гулюкин, А. С. Донченко [и др.] // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. – 2021. – Т. 51, № 4. – С. 67-75. – DOI 10.26898/0370-8799-2021-4-8. -Текст : непосредственный.
8. Анисим. И.А. Сравнительная оценка некоторых методов диагностики лейкозакрупного рогатого скота / И.А. Анисим // Лейкоз крупного рогатого скота. - Рига, 1974. -С. 68. -Текст : непосредственный.
9. Апалькин, В. Эпизоотическая ситуация в России в 2004 году: [из цикла «Итоги»] / В. Апалькин // Ветеринарная жизнь. - 2005. - № 6. - С. 3. -Текст : непосредственный.
10. Балашов, Ю. С. Кровососущие клещи (Ixodidae) – переносчики болезней человека и животных / Ю. С. Балашов. – Ленинград: Наука, 1967.– 319 с. -Текст : непосредственный.
11. Бакулин, В. А., Федякина Е. А. Нетрадиционные переносчики пути заражения вирусом бешенства / В. А. Бакулин, Е. А. Федякина // Сборник материалов II международного ветеринарного конгресса VETistambul-2015: Санкт-Петербург. – ТОПРИНТ. – 2015. – С. 47-48. -Текст : непосредственный.

12. Белов, Л. Ретроспективный взгляд на борьбу с лейкозом крупного рогатого скота: [из цикла «Лечение и профилактика»] / Л. Белов // Ветеринарный консультант. -2006. -№ 15.-С. 19-21. -Текст : непосредственный.
13. Бергольц, В. Вирусная этиология и эпидемиология лейкозов: [из цикла «Обзоры»] / В. Бергольц // Вопросы вирусологии. - 1969. - № 1. - С. 9. -Текст : непосредственный.
14. Бергольц, В.М. Иммунология и иммунотерапия лейкоза: монография / В.М. Бергольц, Н.С. Кисляк, В.С. Еремеев. - Москва: Медицина, 1978. - 408 с. -Текст : непосредственный.
15. Бергольц, В.М. Сравнительная патология и этиология лейкоза человека и животных: монография / В.М. Бергольц, Н.В. Румянцев. - Москва: Медицина, 1966. -292с. -Текст : непосредственный.
16. Бергольц, В. Иммунология и иммунотерапия лейкоза: [из цикла «Оригинальные статьи»] / В. Бергольц // Вопросы онкологии. - 1978. - том XXIV. - № 11. - С. 16 - 17. -Текст : непосредственный.
17. Бергольц, В.М. Проблема лейкоза: монография / В.М. Бергольц. - Москва: Медицина, 1973. - 224 с. -Текст : непосредственный.
18. Бобоходжаев, М. К диагностике предлейкозного состояния: [из цикла: «В помощь практическому врачу»] / М. Бобоходжаев // Здравсохранение Таджикистана. - 1988. - №5. -С. 70-73. -Текст : непосредственный.
19. Богданов-Катьков, Н.Н. Практическая энтомология: руководство / Н.П.Богданов-Катьков. - Москва - Ленинград: Изд-во сельскохозяйственной колхозно-кооперативной литературы, 1931. - 296 с. -Текст : непосредственный.
20. Богданов-Катьков, Н.Н. Руководство к практическим занятиям по общей энтомологии: учеб, пособие / Н.Н. Богданов-Катьков. - Москва - Ленинград: Государственное изд-во сельскохозяйственной литературы, 1947. - 474 с. -Текст : непосредственный.
21. Букринская, А.Г. Вирусология: учеб, пособие / А.Г. Букринская. - Москва: Медицина, 1986. - 336 с. -Текст : непосредственный.
22. Булычева, Т. Итоги работы Всесоюзной научной конференции «Иммунология и иммунотерапия лейкозов человека и животных»: [из цикла «Хроника»] / Т. Булычева // Гематология и трансфузиология. - 1986. - том XXXI. - № 3. - С. 59 - 62. -Текст : непосредственный.

23. Бусол, В. Тест-система для выявления ВЛКРСЦР: [из цикла «Инфекционные болезни»] / В. Бусол // Ветеринария. - 1999. - № 6. - С. 4. -Текст : непосредственный.
24. Бутенко, З.А. Стволовые кроветворные клетки и лейкоз: монография / З.А. Бутенко. -Киев: Наукова Думка, 1978. - 182 с. -Текст : непосредственный.
25. Бычков, В. Проблема онкогенности паразитов: [из цикла «Обзоры»] / В.Бычков // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. - 1990. - № 3. - С. 46 - 49. -Текст : непосредственный.
26. Верховский, О. Иммуноферментный анализ в диагностике лейкоза крупного рогатого скота: [из цикла «Проблемы и перспективы»] / О. Верховский // Ветеринария сельскохозяйственных животных. - 2005. - № 6. - С. 13. -Текст : непосредственный.
27. Виноградова, Ю. А. Комбинированный способ культивирования иксодовых клещей рода *Dermacentor* в лесостепной зоне Тюменской области / Ю. А. Виноградова, Ю. В. Глазунов, Л. А. Глазунова // АПК: инновационные технологии. – 2023. – № 1(60). – С. 6-16. – DOI 10.35524/2687-0436\_2023\_01\_06. -Текст : непосредственный.
28. Виолович. Н.А. Слепни Сибири: монография / Н.А. Виолович. - Новосибирск: Наука, 1968.-284 с. -Текст : непосредственный.
29. Владимирская, Е. Что такое предлейкоз?: [из цикла «Обзоры»] / Е. Владимирская // Гематология и трансфузиология. - 1984. - том 29. - № 12. - С. 43 - 46. -Текст : непосредственный.
30. Воробьев, А.И. Патогенез и терапия лейкозов: монография / А.И. Воробьев, М.Д. Бриллиант. - Москва: Медицина, 1976. - 342 с. -Текст : непосредственный.
31. Гаврилов, О. Современное состояние проблемы лейкозов: [из цикла «Передовые статьи»] / О. Гаврилов // Клиническая медицина. - 1981. - том LIX. - № 8. - С.6-9. -Текст : непосредственный.
32. Гаврилова, Г. Диагностика лейкоза крупного рогатого скота: [из цикла «Инфекционные болезни»] / Г. Гаврилова И Ветеринария. - 2004. - № 1. - С. 20 - 23. -Текст : непосредственный.
33. Гаврилова, Г. Диагностика лейкоза крупного рогатого скота: [из цикла «Наука производству»] / Г. Гаврилова // Ветеринария сельскохозяйственных животных. - 2005. - №8.-С. 15. -Текст : непосредственный.
34. Гаврилова, Г. Неспецифическая резистентность коров, инфицированных ВЛКРС и больных лейкозом: [из цикла: «Животноводство и ветеринария»] / Г. Гаврилова // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. - 2005. -№ 1.-С. 118-121. -Текст : непосредственный.

35. Гаврилова, Г. Эпизоотическая ситуация по лейкозу быков-производителей: [из цикла «Практика: опыт, проблемы, перспективы»] / Г. Гаврилова // Ветеринария. - 2003. - №6.-С. 10-12. -Текст : непосредственный.

36. Гейл, Р. Стволовые клетки, клональность и лейкоз: [из цикла «Обзоры»] / Р. Гейл // Гематология и трансфузиология. - 1991. - том 36. - № 10. — С. 27 - 29. -Текст : непосредственный.

37. Генджиева Ольга Бекяевна Филогенетическое сравнение вируса лейкоза крупного рогатого скота // Вестник КалмГУ. 2012. №2 (14). URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/filogeneticheskoe-sravnienie-virusa-leykoza-kрупного-rogatogo-skota-1>

38. Глазунов, Ю. В. Видовой состав и численность иксодовых клещей, нападающих на крупный рогатый скот, инфицированный вирусом лейкоза, в Тюменской области / Ю. В. Глазунов, В. Н. Домацкий, Л. А. Глазунова // АПК: инновационные технологии. – 2023. – № 4(63). – С. 26-35. – DOI 10.35524/2687-0436\_2023\_04\_26. -Текст : непосредственный.

39. Глазунов, Ю. В. Подготовка культуры иксодовых клещей для изучения возможности трансвариальной передачи вируса лейкоза крупного рогатого скота / Ю. В. Глазунов, А. М. Иванюшина, А. А. Эргашев // Труды Кубанского государственного аграрного университета. – 2024. – № 113. – С. 343-349. – DOI 10.21515/1999-1703-113-343-349. -Текст : непосредственный.

40. Глазунов, Ю. В. Сравнительная оценка методов прижизненной диагностики, и эпизоотическая ситуация по лейкозу крупного рогатого скота в Тюменской области / Ю. В. Глазунов, Я. А. Кабицкая, И. В. Плотников // Вестник АПК Ставрополя. – 2017. – № 2(26). – С. 63-68. -Текст : непосредственный.

41. Голосова, ГВ. Инфекция и естественный иммунитет при лейкозах: монография / Т.В. Голосова, Ф.Э. Файнштейн, В.А. Мартынова. - Москва: Медицина, 1980. - 198 с. - Текст : непосредственный.

42. Григор, Г. Г., Земцов А. А. Природное районирование Западной Сибири / Г. Г. Григор, А. А. Земцов // Вопросы географии. – М., Изд-во АН СССР, 1961. – Сб.55. -Текст : непосредственный.

43. Гринишин, Д. Противолейкозные мероприятия на основе полимеразной цепной реакции: [из цикла «Диагностика»] / Д. Гринишин // Ветеринарный консультант. - 2004. -№ 19-20.-С. 12-13. -Текст : непосредственный.

44. Гринишин, Д. РИД и ПЦР при диагностике лейкоза: [из цикла «Информация»] / Д. Гринишин // Ветеринарная жизнь. - 2005. - № 11 - 12. -С. 13. -Текст : непосредственный.



45. Гулюкин, М.И. Исключить крайности в проведении противоэпизоотических мероприятий при лейкозе крупного рогатого скота: [из цикла «Лечение и профилактика»] /М.И. Гулюкин // Ветеринарный консультант. - 2005. - № 13 - 14. - С. 5. -Текст : непосредственный.

46. Гулюкин, М.И. Обзор эпизоотической ситуации по лейкозу крупного рогатого скота / М.И. Гулюкин // Ветеринарная жизнь. – 2005. – № 6. – С. 1. -Текст : непосредственный.

47. Гулюкин, М.И. Состояние и перспективы борьбы с лейкозом крупного рогатого скота: [из цикла «Инфекционные болезни»] / М. Гулюкин // Ветеринария. - 1999. - № 12. - С. 3-5. -Текст : непосредственный.

48. Давиденкова, Е.Ф. Клиника и генетика лейкозов: монография / Е.Ф. Давиденкова, С.И. Шерман, Н.Н. Колосова. -Ленинград: Медицина, 1973. - 176 с. -Текст : непосредственный.

49. Двоеглазов, Н.Г. Значение ИФА и ПЦР в диагностике вирусного лейкоза крупного рогатого скота /Н.Г. Двоеглазов // Актуальные вопросы ветеринарной медицины(материалы Сибирского международного ветеринарного конгресса). - Новосибирск, 2005.-С. 123-124. -Текст : непосредственный.

50. Детинова, Т.С. Методы установления возрастного состава двукрылых насекомых, имеющих медицинское значение: монография / Т.С. Детинова. Женева: Всемирная организация здравоохранения, 1962. - 220 с. -Текст : непосредственный.

51. Джупина, С.И. К проблеме моделирования эпизоотического процесса /С.И. Джупина // Противоочаговые антропозоозы. - Омск, 1976. -С. 37 39. -Текст : непосредственный.

52. Джупина, С.И. К проблеме теории эпизоотического процесса /С.И. Джупина // Актуальные вопросы эпизоотологии. - Казань, 1983. - С. 16. -Текст : непосредственный.

53. Джупина, С.И. К теории эпизоотического процесса /С.И. Джупина // Актуальные вопросы общей эпизоотологии. - Москва, 1974. - С. 74 - 85. -Текст : непосредственный.

54. Джупина, С.И. Методы эпизоотологического исследования и теория эпизоотического процесса: монография / С.И. Джупина. - Новосибирск: «Наука», 1991. -142 с. -Текст : непосредственный.

55. Дзяк, Г. Клинико-гематологические особенности предлейкозного состояния: [из цикла «Оригинальные исследования»] / Г. Дзяк // Врачебное дело. - 1991. - № 6. - С. 75 -76. -Текст : непосредственный.

56. Димов, С. Теория паразитарных систем: практические аспекты ее использования в эпизоотологии: [из цикла «Животноводство и ветеринария»] / С. Димов // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. - 2002. - № 3-4. - С. 91 - 95. -Текст : непосредственный.

57. Димов, С.К. Проблемы эпизоотологического мониторинга /С.К. Димов // Эпизоотический и инфекционный процессы (теоретические и практические аспекты). - Новосибирск, 1992. - С. 23 - 26. -Текст : непосредственный.

58. Динамика эпизоотического процесса по лейкозу крупного рогатого скота в Тюменской области в период с 2007 по 2022 гг / Ю. В. Глазунов, И. В. Плотников, Р. Н. Зверев, Л. А. Глазунова // Мир Инноваций. – 2023. – № 4(27). – С. 3-9. -Текст : непосредственный.

59. Донник, И.М. Лейкоз крупного рогатого скота: современный подход / И. М. Донник, М. Петропавловский // Животноводство России. – 2022. – № S2. – С. 57-59. -Текст : непосредственный.

60. Донник, И.М. ПЦР-диагностика в системе комплексной диагностики лейкоза КРС : [из цикла «Лечение и профилактика»] / И.М. Донник // Ветеринарный консультант. - 2005. -№ 13-14.-С. 6. -Текст : непосредственный.

61. Донник, И.М. Иммунный статус крупного рогатого скота, инфицированного вирусом лейкоза /И.М. Донник И Актуальные вопросы ветеринарной медицины (материалы Сибирского международного ветеринарного конгресса). - Новосибирск, 2005.- С. 129-130. -Текст : непосредственный.

62. Донченко, А.С. Анализ эпизоотического процесса лейкоза крупного рогатого скота: [из цикла «Ветеринарная медицина»] / А.С. Донченко // Вестник Российской академии сельскохозяйственных наук. - 2007. - № 1. -С. 80 - 82. -Текст : непосредственный.

63. Донченко, А.С. Ассоциативное проявление вирусно-бактериальных инфекций на примере лейкоза и туберкулеза крупного рогатого скота: [из цикла «Ветеринарная медицина»] / А.С. Донченко И Вестник Российской академии сельскохозяйственных наук. -2005. - № 5. -С. 66 - 67. -Текст : непосредственный.

64. Донченко, А.С. Значение показателя охвата поголовья скота диагностическими исследованиями в статистическом анализе распространения лейкоза: [из цикла «Инфекционные болезни»] / А.С. Донченко // Ветеринария. - 2003. - № 4. - С. 17-21. -Текст : непосредственный.

65. Донченко, А.С. Основные принципы эпизоотологического мониторинга при туберкулезе, бруцеллезе и лейкозе крупного рогатого скота: [из цикла «Животноводство»]/

А.С. Донченко // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. - 2003. - № 3. - С. 27 -31.  
-Текст : непосредственный.

66. Доронин, Н.Н. Лейкоз крупного рогатого скота: учеб, пособие / Н.Н. Доронин, В.А. Бусол, Г.Х. Субаев. - Киев: Урожай, 1976. - 200 с. -Текст : непосредственный.

67. Дроздова, Л. Система «мать-плод» - модель для изучения патоморфогенеза лейкоза: [из цикла «Лечение и профилактика»] / Л. Дроздова // Ветеринарный консультант. - 2005. - № 13 - 14. - С. 7. -Текст : непосредственный.

68. Жарова, Е. Некоторые вопросы патогенеза ранней стадии лейкозов: [из цикла «Обзоры»] / Е. Жарова // Проблемы гематологии и переливания крови. - 1982. – том XXVII.- №7.-С. 51. -Текст : непосредственный.

69. Жизнь животных (беспозвоночные): коллектив, монография / [Л.А. Зенкевич и др.]. - Москва: Просвещение, 1969. - том 3. - 576 с. -Текст : непосредственный.

70. Заводских, А. Программа по оздоровлению от лейкоза поголовья КРС сегодня очень нужна: [из цикла «Обсуждаем проект»] / А. Заводских // Ветеринарный консультант.- 2003.-№ 17.-С.3. -Текст : непосредственный.

71. Захваткин, Ю.А. Эмбриология насекомых (курс лекций): учеб, пособие / Ю.А. Захваткин.- Москва: Высшая школа, 1975. - 328 с. -Текст : непосредственный.

72. Иваненко, Н. Морфология эритроцитов при лейкозах: [из цикла «Заметки из практики»] / Н. Иваненко // Гематология и трансфузиология. - 1989. - том 34. - № 11. - С.56 - 57. -Текст : непосредственный.

73. Иванова-Казас, О.М. Курс сравнительной эмбриологии беспозвоночных животных: учебник / О.М. Иванова-Казас, Е.Б. Кричинская. - Ленинград: Изд-во Ленинградского университета, 1988. - 352 с. -Текст : непосредственный.

74. Изучение возможности резервации вируса лейкоза крупного рогатого скота в имаго *dermacentor reticulatus* / Ю. В. Глазунов, Я. А. Кабицкая, И. М. Донник [и др.] // Вестник Бурятской государственной сельскохозяйственной академии им. В.Р. Филиппова. – 2020. – № 4(61). – С. 40-47. – DOI 10.34655/bgsha.2020.61.4.006. -Текст : непосредственный.

75. Иммунологический фенотип лейкозной клетки: коллектив, монография / А.Ю. Барышников [и др.].- Москва: Медицина, 1989. - 240 с. -Текст : непосредственный.

76. Иммунология: коллектив, монография / [У. Пол и др.]. - Москва: Мир, 1987-1988. - том 1. - 476 с. -Текст : непосредственный.

77. Иммунология: коллектив, монография / Д.А. Берзофски [и др.].- Москва: Мир, 1987-1989.-том 3. -360с. -Текст : непосредственный.

78. К вопросу вакцинопрофилактики лейкоза крупного рогатого скота / И. М. Донник, М. И. Гулюкин, В. А. Бусол [и др.] // Ветеринария Кубани. – 2020. – № 1. – С. 3-6. – DOI 10.33861/2071-8020-2020-1-3-6. -Текст : непосредственный.

79. Кавалаяускас, П. Сравнительный анализ способности лимфоцитов крови крупного рогатого скота связывать бактерии в норме и при лимфолейкозе: [из цикла «Иммунные механизмы лейкоза»] / П. Кавалаяускас // Сельскохозяйственная биология (серия биология животных). - 1989. - № 4. - С. 87 - 90. -Текст : непосредственный.

80. Канеп, В. Вероятностные модели распространения лейкоза и лимфом: [из цикла «Оригинальные статьи»] / В. Канеп // Вопросы онкологии. - 1982. - том XXVIII. - №1.-С. 47-53. -Текст : непосредственный.

81. Каретин, Л. Н. Почвы Тюменской области / Л. Н. Каретин. – Новосибирск: – Наука, 1990. – 281 с. -Текст : непосредственный.

82. Кеннеди, К.Р. Популяционная биология паразитов: современное состояние и перспективы /К.Р. Кеннеди // Паразитология. - Ленинград, 1985. - том XIX. - Вып. 5. - С.347-355. -Текст : непосредственный.

83. Козырева Н.Г., Абашин И.Ю., Иванова Л.А. Генетический анализ изолятов ВЛКРС у перинатально инфицированного крупного рогатого скота в молодом возрасте. Российский паразитологический журнал. 2022;16(3):282-295. <https://doi.org/10.31016/1998-8435-2022-16-3-282-295> -Текст : непосредственный.

84. Константинов, С.А. Поведение слепней при нападении на крупный рогатый скот в естественных условиях / С.А. Константинов // Успехи энтомологии СССР. Двукрылые: систематика, экология, медицинское и ветеринарное значение. - СанктПетербург, 1992.-С. 152. -Текст : непосредственный.

85. Коровушкин, А.А. Иммунологические маркеры лейкоза крупного рогатого скота/А.А. Коровушкин // Актуальные проблемы науки в агропромышленном комплексе(материалы 53 межвузовской научно-практической конференции). - Кострома, 2002. -Том 1.-С. 113-114. -Текст : непосредственный.

86. Коровушкин, Л.А Цитогенетические и биохимические аспекты лейкоза крупного рогатого скота /А.А Коровушкин // Актуальные проблемы науки в агропромышленном комплексе (материалы 53 межвузовской научно-практической конференции). - Кострома, 2002.-\_Т.1.- С. 114-115. -Текст : непосредственный.

87. Коромыслов, Г. О классификации коринеморфных бактерий, выделенных из крови здоровых и больных лейкозом коров, на основе молекулярных характеристик

ДНК:[из цикла «Молекулярная биология, генная инженерия»] / Г. Коромыслов // Сельскохозяйственная биология. - 1988. - № 1. - С. 27 - 30. -Текст : непосредственный.

88. Крашкевич, К.В. Медицинская паразитология: учеб, пособие / К.В. Крашкевич, В.В. Тарасов. - Москва: Изд-во Московского университета, 1969. - 391 с. -Текст : непосредственный.

89. Кривошеина, Н.П. Онтогенез и эволюция двукрылых насекомых: монография / Н.П. Кривошеина. - Москва: Наука, 1969. - 296 с. -Текст : непосредственный.

90. Крикун, В. Лейкоз крупного рогатого скота и иммунологическая толерантность: [из цикла «Практика: опыт, проблемы, перспективы»] / В. Крикун // Ветеринария. - 2002. - № 6. - С. 7. -Текст : непосредственный.

91. Куделева, Г. Экспрессия поверхностных антигенов лимфоидных клеток, ассоциированных с лейкозом крупного рогатого скота, и ее корреляция с изменениями состава периферической крови при экспериментальной инфекции ВЛКРС: [из цикла«Иммунные механизмы лейкоза»] / Г. Куделева // Сельскохозяйственная биология (серия биология животных). - 1989. - № 4. - С. 97 - 101. -Текст : непосредственный.

92. Куделева, Г.В. Показатели клеточного иммунитета при лейкозе крупнорогатого скота / Г.В. Куделева // Ретровирусы и их роль в патологии человека и животных.- Рига. 1989. - С. 78 - 80. -Текст : непосредственный.

93. Куделева. Г. Специфичность гуморального цитотоксического ответа, индуцированного у телят внедрением лимфоцитов больного лейкозом крупного рогатого скота: [из цикла «Механизмы лейкоза крупного рогатого скота»] / Г. Куделева // Сельскохозяйственная биология. Серия биология животных. - 1989. - № 6. - С. 83 - 88. - Текст : непосредственный.

94. Кузнецов, Н.Я. Основы физиологии насекомых: монография / Н.Я. Кузнецов. - Москва - Ленинград: Изд-во АН СССР, 1948. - том I. - 380 с. -Текст : непосредственный.

95. Лейкоз крупного рогатого скота: [из цикла «Актуальные вопросы»] / под ред. Л. Демидчик // Ветеринария сельскохозяйственных животных. - 2005. - № 6. - С. 4 - 6. -Текст : непосредственный.

96. Лейкозные клетки: происхождение, ультраструктура, дифференцировка: коллектив, монография / З.А. Бутенко [и др.].- Киев: Наукова думка, 1984. - 216 с. -Текст : непосредственный.

97. Лейкозы и злокачественные опухоли животных: коллектив, монография / Л.Г. Бурба [и др.].- Москва: Колос, 1977. - 376 с. -Текст : непосредственный.

98. Лемеш, В.М. Лейкоз крупного рогатого скота: монография / В.М. Лемеш, А.Г. Дрогун, В.Н. Якубов. - Минск: Ураджай, 1986. - 224 с. -Текст : непосредственный.

99. Ликвидация лейкоза крупного рогатого скота в условиях промышленного производства / И. М. Донник, О. И. Пономарева, Р. А. Кривонос [и др.] // Ветеринария Кубани. – 2021. – № 2. – С. 3-8. – DOI 10.33861/2071-8020-2021-2-3-8. -Текст : непосредственный.

100.Магер, С. Изучение эпигенетических факторов предрасположенности к лейкозу крупного рогатого скота: [из цикла «Ветеринария»] / С. Магер // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. - 2005. - № 2. - С. 129 - 132. -Текст : непосредственный.

101.Магер, С. Краткий аналитический обзор приоритетных фундаментальных и прикладных исследований в области ветеринарной экологии и лейкозологии: [из цикла«Ветеринария»]/ С. Магер И Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. - 2005. - №2.-С. 124-126. -Текст : непосредственный.

102.Магер, С. Метаболическая активность клеток крови интактного, инфицированного ВЛКРС и больного лейкозом крупного рогатого скота: [из цикла «Ветеринария»] / С. Магер // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. 2005. - №2.- С. 127- 129. -Текст : непосредственный.

103.Макаров, В. В. Лейкоз крупного рогатого скота / В. В. Макаров // Российский ветеринарный журнал. – 2020. – № 2. – С. 18-26. – DOI 10.32416/2500-4379-2020-2-18-26. – -Текст : непосредственный.

104.Макаров, В. ПЦР в диагностике лейкоза крупного рогатого скота: [из цикла «Практика: опыт, проблемы, перспективы»] / В. Макаров // Ветеринария. - 2005. - № 4. -С.9-11. -Текст : непосредственный.

105.Макаров, В. Эпизоотологические перспективы лейкоза крупного рогатого скота: [из цикла «Ветеринарная медицина»] / В. Макаров // Вестник Российской академии сельскохозяйственных наук. - 2005. - № 2. - С. 70 - 73. -Текст : непосредственный.

106.Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики: справочник / И.П. Кондрахин [и др.].- Москва: КолосС, 2004. - 520 с. -Текст : непосредственный.

107.Методы лабораторной диагностики вирусных болезней животных: справочник / В.Н. Сюрин [и др.].- Москва: Агропромиздат, 1986. - 351 с. -Текст : непосредственный.

108.Нагаева, Л. Иммуногенная эффективность поверхностного гликопротеидного антигена вируса лейкоза крупного рогатого скота: [из цикла «Иммунные механизмы лейкоза»] / Л. Нагаева И Сельскохозяйственная биология (серия биология животных) - 1989. №4 -С. 91-96. -Текст : непосредственный.

109.Нахмансон, В.М. Дифференциальная диагностика инфекционных болезней сельскохозяйственных животных: справочник / В.М. Нахмансон, Л.Г. Бурба. - Москва: Росагропромиздат, 1990. - 256 с. -Текст : непосредственный.

110.Общая вирусология: коллектив, монография / С. Лурия [и др.] - Москва: Мир, 1981.-680 с. -Текст : непосредственный.

111.Околелов, В.И. Картина крови при лейкозе и других болезнях животных: [из цикла «Диагностика»] / В.И. Околелов // Ветеринарный консультант. - 2005. - № 6. - С. 18-19. -Текст : непосредственный.

112.Олсуфьев, Н.Г. Слепни (Diptera, Tabanidae) / Н.Г. Олсуфьев И Переносчики возбудителей природноочаговых болезней. - Москва, 1962. - С. 157. -Текст : непосредственный.

113.Павлов, С.Д. Методические рекомендации по применению ловушек для сбора, учета численности и истребления слепней на пастбищах: рекомендации / С.Д. Павлов, Р.П. Павлова. - Москва: Изд-во Всесоюзная академия сельскохозяйственных наук имени В.И. Ленина, 1986. - 20 с. -Текст : непосредственный.

114.Павлова, Р.П. Места выплода слепней на юге Тюменской области Р.П. Павлова // Материалы по ветеринарной арахно-энтомологии и ветеринарной санитарии (итоги научно-производственной конференции). - Тюмень, 1971. - Вып. 3. - С. 48 - 53. -Текст : непосредственный.

115.Павлова, Р.П. Численность и возрастной состав слепней лесной зоны Тюменской области / Р.П. Павлова // Материалы по ветеринарной арахно-энтомологии и ветеринарной санитарии (итоги научно-производственной конференции). - Тюмень, 1970. - Вып. 3. - С. 85-86. -Текст : непосредственный.

116.Павловский, Е.Н. Руководство по паразитологии человека с учением о переносчиках трансмиссивных болезней: монография / Е.Н. Павловский. - Москва - Ленинград: Издательство АН СССР, 1948. - том II. - 525 - 1024 с. -Текст : непосредственный.

117.Павловский. Е.Н. Природная очаговость трансмиссивных болезней в связи с ландшафтной эпидемиологией зоантропонозов: монография / Е.Н. Павловский. - Москва-Ленинград: Наука. 1964. - 211 с. -Текст : непосредственный.

118.Павловский. Е.Н. Работы по экспериментальной паразитологии: сборник экспериментальных работ / Е.Н. Павловский. - Москва-Ленинград: Изд-во АН СССР, 1963.- 275 с. -Текст : непосредственный.

119.Паразитология и инвазионные болезни сельскохозяйственных животных учебник / [К.И. Абуладзе [и др.] - Москва: Колос, 1982. - 496 с. -Текст : непосредственный.

120.Парнес, В.А. Иммунология лейкоза: монография / В.А. Парнес. - Москва: Медгиз. 1960. - 244 с. -Текст : непосредственный.

121.Парнес, В.А. Онковирусы: монография / В.А. Парнес. - Москва: Наука, 1986. - 176 с. -Текст : непосредственный.

122.Паршина, О.Н. Сопоставление результатов диагностических исследований на лейкоз в тест-системах ИФА и РИД GP51 с антигенами разных серий /О.Н. Паршина //Актуальные вопросы ветеринарной медицины (материалы Сибирского международного ветеринарного конгресса). - Новосибирск, 2005. - С. 151. -Текст : непосредственный.

123.Патент № 2694617 С1 Российская Федерация, МПК С12Q 1/68. Способ диагностики лейкоза крупного рогатого скота методом полимеразной цепной реакции : № 2018116549 : заявл. 04.05.2018 : опубл. 16.07.2019 / Н. Г. Козырева, Л. А. Иванова, Т. В. Степанова, М. И. Гулюкин ; заявитель Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Федеральный научный центр - Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской академии наук". -Текст : непосредственный.

124.Первомайский, Г.С. Паразитология человека: монография / Г.С. Первомайский, В.Я. Подолян. - Москва: Медицина, 1974. - 575 с. -Текст : непосредственный.

125.Петрищева, П.А. Кровососущие комары (Culicinae), мокрецы (Heleidae), слепни (Tabanidae) / П.А. Петрищева // Методы изучения природных очагов болезней человека. - Москва, 1964.-С. 23 -34. -Текст : непосредственный.

126.Петропавловский М. В., Безбородова Н. А., Романова А. С., Лысов А. В. и Кожуховская В. В. "Опыт применения полимеразной цепной реакции при диагностике вируса лейкоза крупного рогатого скота и её эффективность на разных этапах проведения оздоровительных мероприятий" Аграрный вестник Урала, N. 12 (191), 2019, с. 52-59.

127.Петропавловский М.В., Донник И.М., Безбородова Н.А. Эпизоотологическая и филогенетическая оценка вируса лейкоза крупного рогатого скота на территории Российской Федерации. Инновации и продовольственная безопасность. 2018;(3):161-165. <https://doi.org/10.31677/2311-0651-2018-0-3-161-165>-Текст : непосредственный.

128.Проблемы лейкоза животных: коллектив, монография / П.Н. Смирнов [и др.]- Новосибирск: Советская Сибирь, 1992. - 480 с. -Текст : непосредственный.

129.Пяткин, К.Д. Микробиология: учебник / К.Д. Пяткин, Ю.С. Кривошеин. - Москва: Медицина, 1981. - 512 с. -Текст : непосредственный.

130.Разумовская, В.В. Роль гематологической диагностики в системе противолейкозных мероприятий /В.В. Разумовская // Актуальные вопросы



ветеринарной медицины (материалы Сибирского международного ветеринарного конгресса). - Новосибирск, 2005. - С. 155-156. -Текст : непосредственный.

131.Робаев, А.Г. Эффективность внедрения мероприятий против лейкоза крупного рогатого скота в неблагополучном хозяйстве /Робаев А.Г. // Актуальные проблемы и перспективы развития агропромышленного комплекса (материалы Международной научно-практической конференции). - пос. Персиановский (Ростовская область), 2005. - Т. 3.-С. 111-112. -Текст : непосредственный.

132.Седов, В.А. Основные принципы эпизоотологического мониторинга /В.А. Седов // Эпизоотология, эпидемиология, средства диагностики, терапии и специфической профилактики инфекционных болезней, общих для человека и животных. - Львов, 1988. - С. 8. -Текст : непосредственный.

133.Сергеев, А. Диагностическое и прогностическое значение генетических аномалий опухолевых клеток при лейкозах: [из цикла «Школа гематолога»] / А. Сергеев // Гематология и трансфузиология. - 2000. - том 45. - № 1. - С. 28 - 35. -Текст : непосредственный.

134.Симонян, Г. Профилактика и меры борьбы с лейкозом КРС в Российской Федерации: [из цикла «Диагностика»] / Г. Симонян // Ветеринарная жизнь. - 2005. - № 11 - 12.-С. 1. -Текст : непосредственный.

135.Скуфьин, К.В. Методы сбора и изучения слепней: пособие / К.В. Скуфьин. - Ленинград: Наука, 1973. - Вып. 8.-104 с. -Текст : непосредственный.

136.Смирнов П. Н., Батенёва Н. В., Михнович И. В. Генотипирование лейкоза крупного рогатого скота (BLV): научные и практические аспекты // Достижения науки и техники АПК. 2011. №12. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/genotipirovanie-leykoza-kрупного-rogatogo-skota-blv-nauchnye-i-prakticheskie-aspekty>

137.Смирнов П. Н., Белявская В. А., Грачева Н. В., Рябина В. А. Генотипическое разнообразие вируса лейкоза крупного рогатого скота разной породной принадлежности // АВУ. 2009. №7. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/genotipicheskoe-raznoobrazie-virusa-leykoza-kрупного-rogatogo-skota-raznoy-porodnoy-prinadlezhnosti>

138.Смирнов, А. О проблемах лейкоза КРС : [из цикла «Лечение и профилактика»] / А. Смирнов // Ветеринарный консультант. - 2005. - № 13 - 14. - С. 3. -Текст : непосредственный.

139.Смирнов, П. Лимфоцитарные рострегулирующие факторы в норме, при спонтанном лейкозе крупного рогатого скота и развитии экспериментального ВЛКРС индуцированного лимфолейкоза у овец: [из цикла «Иммунные механизмы лейкоза»] /

П.Смирнов // Сельскохозяйственная биология (серия биология животных). - 1989. - № 4. - С.102- 107. -Текст : непосредственный.

140.Смирнов, П.Н. Антигенный спектр лейкоцитов крови здорового и больногелейкозом крупного рогатого скота /П.Н. Смирнов // Диагностика и профилактикаинфекций сельскохозяйственных животных. -Новосибирск, 1981. -С. 62 - 66. -Текст : непосредственный.

141.Смирнов, Ю. Значение естественной случки в распространении ВЛКРС: [из цикла «Лечение и профилактика»] / Ю. Смирнов // Ветеринарный консультант. - 2005. - №13-14.-С. 7. -Текст : непосредственный.

142.Смирнов, Ю. Некоторые аспекты генетики вирусиндуцированного канцеро-илейкозогенеза: [из цикла «Поиск. Решения. Опыт»] / Ю. Смирнов // Вестник Российскойакадемии сельскохозяйственных наук. - 2002. - № 3. -С. 18-21. -Текст : непосредственный.

143.Смирнов, Ю. О переходе инфекции ВЛКРС в стадию продуктивного лимфоцитоза: [из цикла «Ветеринарная медицина»] / Ю. Смирнов // Вестник Российской академии сельскохозяйственных наук. - 2006. - № 5. -С. 74 - 76. -Текст : непосредственный.

144.Смирнов, Ю. О переходе инфекции ВЛКРС в стадию продуктивного лимфоцитоза: [из цикла «Ветеринарная медицина»] / Ю. О.Смирнов // Вестник Российской академии сельскохозяйственных наук. - 2006. - № 5. -С. 74 - 76.

145.Смирнов, Ю. Развитие лейкозного процесса и инфицирование ВЛКРС коров в зависимости от их возраста: [из цикла «Инфекционные болезни»] / Ю. Смирнов // Ветеринария. - 1999. - № 12. - С. 12 - 15. -Текст : непосредственный.

146.Современная ситуация по распространению лейкоза крупного рогатого скота в Российской Федерации / И. М. Донник, М. В. Петропавловский, В. А. Макутина [и др.] // Ветеринария. – 2024. – № 11. – С. 18-22. – DOI 10.30896/0042-4846.2024.27.11.18-22. -Текст : непосредственный.

147.Структура геномов (фенотип популяций), доминирующих на территории УрФО генетических групп возбудителя лейкоза крупного рогатого скота / И. М. Донник, А. П. Порываева, М. В. Петропавловский [и др.] // Ветеринарный врач. – 2023. – № 5. – С. 30-36. – DOI 10.33632/1998-698X\_2023\_5\_30. -Текст : непосредственный.

148..Сулейманова. М.Ф. Эпизоотическое значение прижизненной диагностики лейкоза крупного рогатого скота /М.Ф. Сулейманова // Научные труды БашНПВЛ. - Уфа, 2002. – С. 98- 100. -Текст : непосредственный.

149.Таслицкий, С.Я. Хозяйственно полезные признаки у интактного, инфицированного ВЛКРС и больного лейкозом крупного рогатого скота /С.Я. Таслицкий// Актуальные вопросы ветеринарной медицины (материалы Сибирского международноветеринарного конгресса). - Новосибирск, 2005. - С. 160-161. -Текст : непосредственный.

150.Тихонов, В. Состояние сывороточных иммуноглобулинов при лейкозе крупнорогатого скота: [из цикла «Ветеринария»] / В. Тихонов // Сибирский вестниксельскохозяйственной науки. - 2005. - № 2. - С. 102 - 109. -Текст : непосредственный.

151.Удина, И. Применение метода полимеразной цепной реакции для диагностики инфицированности крупного рогатого скота вирусом лейкоза: [из цикла «Методика»] / И. Удина // Сельскохозяйственная биология. Серия биология животных. - 2005. - № 4. - С.122-125. -Текст : непосредственный.

152.Федоров. В.С. Особенности проявления эпизоотического процесса лейкоза крупного рогатого скота в хозяйствах различных форм собственности (на примере Курганской области) /В.С. Федоров // Научное обеспечение ветеринарных проблем в животноводстве. - Новосибирск, 2000. - С. 81 - 83, 409 - 410. -Текст : непосредственный.

153.Федотенков, А. Лейкозы: успехи и перспективы (по материалам Всесоюзной конференции «Распознавание и меры борьбы с лейкозами человека и животных», г. Белаяцерковь 28-30/IX 1982г.): [из цикла «Хроника»] / А. Федотенков // Гематология и трансфузиология. - 1983. - том XXVIII. - № 3. - С. 61 - 62. -Текст : непосредственный.

154.Харченко, М.Ф. О перспективности исследований гликозаминогликанов лейкоцитов в диагностике заболеваний системы крови / М.Ф. Харченко // Лейкозы (патогенез, клиника, лечение). -Ленинград, 1988. - С. 16-20. -Текст : непосредственный.

155.Хохлова, М. Вопросы этиологии, эпидемиологии и патологии лейкозов: [из цикла «Обзорные статьи, лекции»] / М. Хохлова // Архив патологии. - 1972. - том XXXIV. - № 3.-С.3. -Текст : непосредственный.

156.Хохлова, М. Исследование проблемы взаимосвязи лейкозов человека и животных: [из цикла «Обзоры и лекции»] / М. Хохлова // Советская медицина. - 1975. - №9. - С. 64 - 67. -Текст : непосредственный.

157.Храмцов, В.В. Влияние эпизоотического состояния на сроки оздоровления стад от лейкоза (на примере хозяйств Красноярского края) /В.В. Храмцов // Научное обеспечение ветеринарных проблем в животноводстве. - Новосибирск, 2000. - С. 196 — 198,417. -Текст : непосредственный.

158.Храмцов, В.В. Научно-обоснованная система (на принципах многофакторного анализа) оздоровления стад крупного рогатого скота от лейкоза /В.В. Храмцов //Проблемы ветеринарной экологии в Якутии. - Якутск, 2002. - С. 38-39. -Текст : непосредственный.

159.Царев, Ю.П. Сравнительные результаты исследования сыворотки крови крупного рогатого скота при лейкозе /Ю.П. Царев // Актуальные вопросы ветеринарной медицины(материалы Сибирского международного ветеринарного конгресса). - Новосибирск, 2005.-С. 166-167. -Текст : непосредственный.

160.Черкасский, Б.Л. Опыт создания и внедрения системы эпизоотолого-эпидемиологического надзора за зоонозами /Б.Л. Черкасский // Эпизоотология, эпидемиология, средства диагностики, терапии и специфической профилактики инфекционных болезней, общих для человека и животных. -Львов, 1988. - С. 9 - 10. -Текст : непосредственный.

161.Черных, О.Ю. Иммунобиологический статус потомства коров, инфицированных вирусом лейкоза: автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Черных О.Ю. - Ставрополь: Ставропольский государственный аграрный университет, 2005. - 24 с. -Текст : непосредственный.

162.Чичина, С.В. Анализ полиморфизма гена 1Ь8К. в связи с предрасположенностью к лейкозу крупного рогатого скота /С.В. Чичина // Актуальные вопросы ветеринарной медицины (Материалы Сибирского международного ветеринарного конгресса). - Новосибирск, 2005. - С. 168-170. -Текст : непосредственный.

163.Чичина, С.В. Возможности и ограничения использования ПЦР в диагностике вируса лейкоза крупного рогатого скота: [из цикла «Ветеринарная медицина»] / С.В. Чичина // Вестник Российской академии сельскохозяйственных наук. - 2006. - № 6. - С.71-73. -Текст : непосредственный.

164.Чунихин, С.П. Природная очаговость вирусных болезней и экология вирусов/С.П. Чунихин // Паразитология. -Ленинград, 1989. - том 23. - Вып. 3. - С. 185- 192. -Текст : непосредственный.

165.Шванкевич, Б.Н. Введение в энтомологию: учеб, пособие / Б.Н. Шванкевич. - Ленинград: Изд-во Ленинградского университета, 1956. - 244 с. -Текст : непосредственный.

166.Шишков, В.П. Лейкозы животных - общебиологическая и социальная проблема /В.П. Шишков // Актуальные проблемы ветеринарной медицины в России. - Новосибирск, 1998. – С. 72-82. -Текст : непосредственный.

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

вопросы ветеринарной медицины (материалы Сибирского международного ветеринарного конгресса). - Новосибирск, 2005. - С. 172. -Текст : непосредственный.

168.Шовен, Р. Физиология насекомых: монография / Р. Шовен. - Москва: Изд-во иностранной литературы, 1953. — 495 с. -Текст : непосредственный.

169.Шукель, А.А. Влияние эпизоотического состояния на сроки оздоровления хозяйств от лейкоза /А.А. Шукель // Научное обеспечение ветеринарных проблем в животноводстве. - Новосибирск, 2000. -С. 204 - 205, 418. -Текст : непосредственный.

170.Шурыгин, Д.Я. Эндокринная система при лейкозах и лимфогранулематозе: монография / Д.Я. Шурыгин. -Ленинград: Медицина, 1966. - 235 с. -Текст : непосредственный.

171.Щелкунов, С.Н. Генетическая инженерия: учеб, справочное пособие / С.Н. Щелкунов. - Новосибирск: Сибирское университетское издательство, 2004. - 496 с. -Текст : непосредственный.

172.Юдин Н. С., Подколотный Н. Л., Агаркова Т. А., Игнатьева Е. В. Приоритизация генов, ассоциированных с патогенезом лейкоза у крупного рогатого скота // Журнал генетики и селекции им. Вавилова. 2018. № 22 (8). С. 1063-1069. DOI:<https://doi.org/10.18699/VJ18.451>. -Текст : непосредственный.

173.Ямов, В. Достижения ученых Сибири в области арахноэнтомологии: [из цикла «Ветеринарная медицина»] / В. Ямов И Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. - 2004.-№3,-С. 135- 137. -Текст : непосредственный.

174.Яхонтов, В.В. Экология насекомых: учебник / В.В. Яхонтов. - Москва: Высшаяшкола, 1969. - 488 с. -Текст : непосредственный.

175.Ямов, В.З. Фауна и распространение слепней в лесотундрах Ямала / В. З. Ямов, А. А. Тарарин, // Проблемы энтомологии и арахнологии : Сборник научных трудов. Том 42. – Екатеринбург : "Путиведь", 2001. – С. 149-153. -Текст : непосредственный.

176.Aida Y., Murakami H., Takahashi M., Takeshima S. Mechanisms of pathogenesis induced by bovine leukemia virus as a model for human T-cell leukemia virus, *Front. Microbiol.*, 2013, No. 4, pp. 328. doi: 10.3389 / fmicb.2013.00328.

177.Akov S. Blood digestion in ticks// *Physiology of ticks*. Ed. F. D. Obenchain, R. Galun. Oxford etc., 1982 P. 197—211.

178.Buxton BA, Hinkle NC, Schultz RD. Role of insects in the transmission of bovine leukosis virus: potential for transmission by stable flies, horn flies, and tabanids. *Am J Vet Res*. 1985 Jan;46(1):123-6. PMID: 2982293.

179. Buxton BA, Schultz RD, Collins WE. Role of insects in the transmission of bovine leukosis virus: potential for transmission by mosquitoes. *Am J Vet Res.* 1982 Aug;43(8):1458-9. PMID: 6285782.
180. EFSA AHAW Panel (EFSA Panel on Animal Health and Welfare), 2015. Scientific opinion on enzootic bovine leukosis, *EFSA Journal*, 2015, Vol. 13(7), No. 4188, 63 p. doi:10.2903/j.efsa.2015.4188.
181. Foil LD, French DD, Hoyt PG, Issel CJ, Leprince DJ, McManus JM, Seger CL. Transmission of bovine leukemia virus by *Tabanus fuscicostatus*. *Am J Vet Res.* 1989 Oct;50(10):1771-3. PMID: 2552874.
182. Glazunov, Y. V. *Dermacentor reticulatus* biorhythms in the northern forest-steppe of the Tyumen region / Y. V. Glazunov, L. A. Glazunova, Y. A. Vinogradova. – Текст: непосредственный // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. – IOP Publishing, 2021. – Т. 689. – №. 1. – С. 012042.
183. Glazunov, Y.V. Phenology of pasture ticks in the Trans-Urals / Y. V. Glazunov, L. A. Glazunova. – Текст: непосредственный // *Indian Veterinary Journal.* -2018. -Т. 95. -№ 1. С. 19-22.
184. Gutiérrez G., Merlini R., Alvarez R., Rondelli F., Dynamics of perinatal bovine leukemia virus infection, *BMC Veterinary Research*, 2014, No. 10(1), pp. 82. doi: 10.1186 / 1746-6148-9-95.
185. Hanon E., Stinchcombe J., Saito M., Asquith B., Taylor G., Tanaka Y., Weber J., Griffiths G., Bangham C. Fratricide among CD81 T Lymphocytes Naturally Infected with Human T Cell Lymphotropic Virus Type I, *Immunity*, 2000, Vol. 13, pp. 657-664.
186. Höllsberg P., Mechanisms of T-cell activation by human T-cell lymphotropic virus type I, *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 1999, No. 63, pp. 308-333.
187. Hoshino H. Cellular factors involved in HTLV-1 entry and pathogenicity. *Front. Microbio.*, 2012, No. 3, pp. 222. doi: 10.3389/fmicb.2012.0022.
188. <https://sites.icgbio.ru/vogis/download/pict-2018-22/appx18.pdf>
189. Igakura T., Stinchcombe J., Goon P., Taylor G., Weber J., Griffiths G., Tanaka Y., Osame M., Bangham C., Spread of HTLV-I between lymphocytes by virus-induced polarization of the cytoskeleton, *Science*, 2003, No. 299, pp. 1713-1716.
190. Juliarena M., Gutierrez S., Ceriani C., Determination of proviral load in bovine leukemia virus-infected cattle with and without lymphocytosis, *Am. J. Vet. Res.*, 2007 Nov, No. 68 (11), pp. 1220-5. DOI: 10.2460 / ajvr.68.11.1220.

191. Kajiyama W., Kashiwagi J., Ikematsu H., Hayashi H., Nomura H., Okōchi K., Intrafamilial clustering of anti-ATLA-Positive persons, *Am J Epidemiol*, 1988, No. 124, pp. 800-806].
192. Maguer-Satta V., Duc Dodon M., Human immature thymocytes as target cells of the leukemogenic activity of human T-cell leukemia virus type I, *Blood*, 1995, No. 86(4), pp. 1444-1452. DOI: 10.1182/blood.
193. Makarov V.V., Grinishin D.P. E`pizootologicheskie perspektivy` lejkoza krupnogo rogatogo skota [Epizootological prospects for the bovine leucosis], *Vestnik Rossel`xozakademii* [Herald of RAA], 2005, No. 2, pp. 70-73.
194. Makarov V.V., Grinishin D.P. PCzR v diagnostike lejkoza krupnogo rogatogo skota [PCR in diagnostics of the bovine leucosis], *Veterinariya* [Veterinary medicine], 2005, No. 4, pp. 9-11.
195. Mazzarello A., Fitch M., Hellerstein M., Chiorazzi N., Measurement of Leukemic B-Cell Growth Kinetics in Patients with Chronic Lymphocytic Leukemia, *Methods Mol. Biol.*, 2019, No. 1881, pp. 129-151. doi: 10.1007 / 978-1-4939-8876-1\_11.
196. Mekata H., Sekiguchi S., Konnai S., Kirino Y., Honkawa K., Nonaka N., Horii Y., Norimine J., Evaluation of the natural perinatal transmission of bovine leukaemia virus, *Vet. Record.*, 2015, No. 176(10), pp. 274. [http:// dx.doi.org/10.1136/vr.102464](http://dx.doi.org/10.1136/vr.102464)
197. Mesa, G. Bovine Leukemia Virus Gene Segment Detected in Human Breast Tissue / G. Mesa // *Open Journal of Medical Microbiology*. – 2013. – Vol. 3 – P. 84–90.
198. Messmer B., Messmer D., Allen S., Kudalkar P., Cesar D., Murphy E., Koduru P., Ferrarini M., Zupo S., Cutrona G., Damle R., Wasil T., Rai K., Hellerstein M., Chiorazzi N., In vivo measurements document the dynamic cellular kinetics of chronic lymphocytic leukemia B cells, *J. Clin. Invest.* , 2005 Mar, No. 115(3), pp. 755-764.
199. Mirsky M., Olmstead C., Da Y., Lewin H., The prevalence of proviral bovine leukemia virus in peripheral blood mononuclear cells at two subclinical stages of infection, *J. Virol.*, 1996, No. 70 (4), pp. 2178-2183.
200. Panei C.J., Takeshima S.N., Omori T., Nunoya T., Davis W., Ishizaki H., Matoba K., Aida Y., Estimation of bovine leukemia virus (BLV) proviral load harbored by lymphocyte subpopulations in BLV-infected cattle at the subclinical stage of enzootic bovine leucosis using BLV-CoCoMo-qPCR, *BMC Vet. Res.* 2013;, No. 9, pp. 95. DOI: 10.1186/1746-6148-9-95,
201. Perino LJ, Wright RE, Hoppe KL, Fulton RW. Bovine leukosis virus transmission with mouthparts from *Tabanus* abactor after interrupted feeding. *Am J Vet Res.* 1990 Aug;51(8):1167-9. PMID: 2167027.

202. Ribeiro Jose, M.C Role of arthropod saliva in blood feeding: Sialome and post-sialome perspectives /M/C Ribeiro Jose // Annual Review of Entomology. – Palo Alto (Calif), 2003. - Vol. 48. – C. 73-88.

203. Ruiz V., Porta N., Lomónaco M., Trono K., Alvarez I., Bovine Leukemia Virus Infection in Neonatal Calves. Risk Factors and Control Measures. Front. Vet. Sci., 2018, No. 5, pp. 267. doi: 10.3389/fvets.2018.00267.

204. Samitas K., Lötvall J., Bossios A. B cells: from early development to regulating allergic diseases, Arch Immunol Ther Exp (Warsz), 2010, Vol. 58, Is. 3, pp. 209-225. doi:10.1007/s00005-010-0073-2.

205. Schwartz I., Bensaid A., Polack B., Perrin B., Berthelemy M., Levy D., In vivo leukocyte tropism of bovine leukemia virus in sheep and cattle, Journal of Virology, 1994, No. 68 (7), pp. 4589-96, doi: 10.1128/JVI.68.7.4589-4596.199

206. Sherer N., Lehmann M., Jimenez-Soto L., Horensavitz C., Pypaert M., Mothes W., Retroviruses can establish filopodial bridges for efficient cell-to-cell transmission, Nat Cell Biol., 2007, No. 9, pp. 310-315.

207. Watanuki S., Takeshima S., Borjigin L., Sato H., Bai L., Murakami H., Aida Y., Visualizing bovine leukemia virus (BLV)-infected cells and measuring BLV proviral loads in the milk of BLV seropositive dams. Vet Res., 2019 Nov, Vol. 29, No. 50(1), pp. 102. doi: 10.1186/s13567-019-0724-1.

208. Wu M, C. Shanks R. D., Lewin H. A. Milk and fat production in dairy cattle influenced by advanced subclinical bovine leukemia virus infection / C. Wu M, R. D. Shanks, H. A. Lewin // Proc . Nat. Acad . Sci. USA. – 1989. – P. 993-996.

209. Yu, C., Wang, X., Zhou, Y. et al. Genotyping bovine leukemia virus in dairy cattle of Heilongjiang, northeastern China. BMC Vet Res 15, 179 (2019). <https://doi.org/10.1186/s12917-019-1863-3>



Размещается в сети Internet на сайте ГАУ Северного Зауралья  
<https://www.gausz.ru/nauka/setevye-izdaniya/2024/glazunov.pdf>,  
в научной электронной библиотеке eLIBRARY, РГБ, доступ свободный

Издательство электронного ресурса  
Редакционно-издательский отдел ФГБОУ ВО «ГАУ Северного Зауралья».  
Заказ № 1256 от 28.12.2024; авторская редакция  
Почтовый адрес: 625003, Тюменская область, г. Тюмень, ул. Республики, 7.  
Тел.: 8 (3452) 290-111, e-mail: rio2121@bk.ru

ISBN 978-5-98346-189-5



9 785983 461895 >