

УДК 616.606.446.638.2

Завірюха А.І., д.вет.н., академік НААНУ**Завірюха Г.А.**, к. с.-г. н., провідний науковий співробітник ©

ДНУ “Державний центр інноваційних біотехнологій” м. Київ

НОВИЙ ЕФЕКТИВНИЙ СПОСІБ ОЗДОРОВЛЕННЯ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ ВРАЖЕНОЇ ВІРУСОМ ЛЕЙКОЗУ

Вперше для боротьби з лейкозом ВРХ в неблагополучному господарстві з великим (>30%) рівнем інфікованості вірусом тварин використано імуногенну вакцину Лейкозав для профілактичної імунізації. За три роки регулярних щеплень зникли гематологічно хворі та лейкозні туші на забої. В кінці року серед щепленого вакциною поголів'я при дослідженні за РІД виявилось до 20% ще імунних тварин, які були стійкі до спонтанного зараження. Щеплену вакциною худобу, сироватка крові, якої реагує позитивно в РІД, не можна вважати інфікованою польовим вірусом лейкозу.

Ключові слова: лейкоз, вакцина, профілактика, імунізація.

Ензоотичний лейкоз (лейкоз) великої рогатої худоби – інфекційна, хронічна хвороба злоякісної пухлинної природи, яка супроводжується неконтрольованим розмноженням клітин кровотворних органів з порушенням їх дозрівання та утворенням пухлин в різних частинах тіла [1].

Збудником є РНК – вмісний вірус родини Retroviridae, роду Deltaretrovirus, тип С [2], який має близьку антигенну спорідненість з вірусом Т- клітинного лейкозу людини типів 1 і 2 та Т – клітинного лейкозу мавп [1].

До вірусу лейкозу сприйнятливі велика рогата худоба, незалежно від віку, вгодованості, породи й продуктивності [3], а також вівці, кози, кролі, свині, коти, собаки, морські свинки, миші [1].

Вірус передається від хворих здоровим тваринам через кров та екскрети, що містять формені елементи крові. Розповсюдженню вірусу серед великої рогатої худоби сприяють кровосисні комахи, спільне утримання хворих і здорових тварин, користування нестерильними інструментами під час відбору крові для лабораторних досліджень, кастрації, нумерації, щеплення тощо.

Джерелом інфекції є хворі тварини в будь-якій стадії розвитку захворювання [1].

Після зараження вірус повільно розмножується в організмі тварини, тому інкубаційний період розвитку хвороби може тягнутися роками. Виявлення в стадії ВРХ інфікованих тварин проводять шляхом дослідження сироватки крові в реакції імунодифузії (РІД), імуноферментного аналізу (ІФА) та полімеразно – ланцюгової реакції (ПРЛ). Основними методами прижиттєвої діагностики є РІД та ІФА. [1].

Кожний з цих методів має свої недоліки: РІД – порівняно низку чутливість, ІФА – значну неспецифічність, ПРЛ – вимагає наявності специфічного обладнання,

дорогих спеціальних реактивів, значних фінансових затрат, та кваліфікованих спеціалістів.

Найбільшу загрозу у підтриманні перебігу інфекційного процесу лейкозу в стаді мають хворі тварини, організм яких нездатний напрацьовувати противірусні антитіла в кількості адекватній рівню чутливості реакції дослідження.

Такі тварини не виявляються і залишаються в стаді як здорові, створюючи постійне джерело інфекції для новонароджених і ще не інфікованих тварин.

В сучасних умовах ведення тваринництва боротьбу з інфекційними хворобами ведуть шляхом профілактичних імунізацій тварин спеціально розробленими вакцинами.

Для боротьби з лейкозом великої рогатої худоби вакцини ще не розроблені, тому боротьбу ведуть пасивними методами, досліджуючи сироватку крові за РІД на наявність противірусних антитіл. Після проведення лабораторних досліджень та ізоляції реагуючих чекають поки у інфікованих тварин стада знову не накопичаться антитіла. Таке оздоровлення триває роками. Щоб отримати два негативних дослідження по стаду, як того вимагає інструкція, необхідно знищити три об'єми поголів'я, яке почали оздоровлювати.

Для активної боротьби з вірусом лейкозу нами розроблена інактивована імуногенна вакцина "Лейкозав", яка після щеплення формує в організмі тварини противірусний імунітет з титром специфічних антитіл 3-4lg₂.

Експериментальні дослідження із зараженням імунних тварин вірусомісним матеріалом показали, що вакцина надійно захищає їх від експериментального та спонтанного зараження [4,5].

Вакцина володіє і лікувальними властивостями. В Нікопольському районі Дніпропетровської області було щеплено двічі впродовж року більше 500 РІД – позитивних корів. За даними досліджень державних діагностичних лабораторій в кінці року у 70% із них не виявили антитіл. Сироватки їх крові під час багаторазових досліджень не реагували за РІД впродовж двох років (термін спостереження) [5]. Випробування вакцини, як лікувального засобу було проведено на 22 гематологічно хворих коровах, які належали ТОВ СГП "Аврора" цього ж району. Встановлено, що після дворазових щеплень впродовж року лікувальною дозою вакцини у 30% тварин гематологічні показники стали в межах фізіологічної норми. У 35% розвиток хвороби призупинився і у третій частини корів відбулась активація розвитку лейкозного процесу [6].

Завданням цих досліджень було дати обґрунтування можливості активного впливу на перебіг лейкозного процесу в стаді ВРХ, враженого вірусом лейкозу (>30%) і його оздоровлення.

Матеріали і методи.

Досліди проводились на великій рогатій худобі ПСП "Фастівецьке" Фастівського району Київської області протягом 2000-2004 рр.

Лейкоз, як вірусна хвороба з хронічним перебігом вражає в основному самок (корови, нетелі, телиці з 5-6 місячного віку). Бички, тварини на відгодівлі тощо майже не хворіють, бо не перебувають в господарстві довгий час, не більше двох років. За цей період лейкоз рідко досягає гематологічної стадії розвитку.

Досягнувши ваги 400 кг і більше відгоддованих тварин здають на забій. Тому основну увагу в своїх дослідах ми звернули на захист молодняку (телиці, нетелі), а також корів дійного стада, серед яких частіше всього виявляють хворих.

Вакцина “Лейкозав” інактивована і не може бути фактором передачі вірусу, тому для імунізації ми використовували її не боячись розповсюдження інфекції в стаді. Під час проведення щеплень суворо дотримувались правил асептики і антисептики.

Перед початком досліду всіх тварин пронумерували і дослідили за РІД, а РІД-позитивних – гематологічно. Гемхворих здали на забій.

Профілактичну імунізацію вакциною розпочинали з молодняку віком 4-5 місяців. Цій віковій групі тварин вакцину вводили підшкірно в ділянку верхньої третини шиї в дозі: перший раз 1 см^3 , а через 14-21 день другий раз – 2 см^3 .

До кінця року цю групу тварин більше не імунізували. Впродовж року дощеплювали цьогорічний молодняк.

Телиць, нетелей і корів щеплювали вакциною двічі по 2 см^3 підшкірно з інтервалом між ін'єкціями 21 день. У таких тварин формується противірусний імунітет достатньої напруги з титром антитіл 3-4 lg_2 , який захищає їх від експериментального і спонтанного зараження.

В перший рік застосування вакцини тварин імунізували один раз на 6 місяців. В кінці року проводили тотальну імунізацію всіх самок (телички, телиці, нетелі, корови). Перед імунізацією тварин досліджували за РІД, а РІД-позитивних ще й гематологічно. Гемхворих здавали на забій.

Результати дослідження.

У тваринницькому господарстві по виробництву молока основною виробничою групою є корови. Вірус лейкозу більше всього вражає цю групу тварин, наносячи значні економічні збитки. Приватне сільськогосподарське підприємство “Фастівецьке” Фастівського району Київської області було неблагополучним щодо лейкозу більше 20 років.

Активна боротьба з лейкозом ВРХ здійснювалась за вимогами чинної на той час Інструкції щодо профілактики та оздоровлення великої рогатої худоби (1992) [7].

Впродовж шести років, взятих нами для аналізу хвороба все більше охоплювала продуктивних тварин (табл.1).

З даних таблиці 1 видно, що протягом п'яти років до застосування вакцини Лейкозав епізоотична ситуація з лейкозу великої рогатої худоби в господарстві була занадто складною і напруженою. У 1995 році інфіковані вірусом лейкозу корови в стаді становили понад 56%, а в 1996р – майже 63%. Активна здача РІД-позитивних та гематологічно хворих корів на забій сприяла частковому зменшенню інфікованості стада вірусом в наступні роки (1997-1998). Однак згодом кількість гематологічно хворих збільшилась майже в три рази. У 1999-2000 рр. відсоток тварин вражених вірусом (РІД-позитивні) збільшився у два рази з попередніми роками, а гематологічно хворих в 4 рази (1995 –6,4%, 2000р –27,3%). За вимогами обох інструкцій [1,7], щоб оздоровити таке господарство необхідно всю худобу замінити здоровим поголів'ям, закупивши тварин в благополучних господарствах.

Таке “оздоровлення” підриває не тільки економіку господарства, але і держави в цілому. Багато керівників після такого оздоровлення змушені перепрофільовувати господарство на виробництво рослинницької продукції.

Таблиця 1.

Показники лабораторних за РІД та гематологічних досліджень на лейкоз крові корів ПСП “Фастівецьке” Київської області (1995-2000)

Рік	Досліджено (гол.)	Виявлено голів						
		Рід позитивних		Гематологічно хворих			Рід негативних	
		всього	%%	Дослі- дже- НО	ВІЯВЛЕНО	%%	всього	%%
1995	415	235	56,60	235	15	6,40	180	43,4
1996	440	277	62,95	277	8	3,00	163	37,05
1997	510	110	21,57	110	13	11,82	400	78,45
1998	561	105	18,72	97	-	-	456	81,28
1999	418	166	39,71	165	9	5,45	252	60,29
02.2000	420	150	35,71	150	41	27,33	270	64,29
Всього	2764	1033	37,37	937	86	9,18	1734	62,63

Для того щоб уникнути таких недоліків, ми пропонуємо новий і ефективний спосіб боротьби з лейкозом ВРХ шляхом активної імунізації вакциною Лейкозав підростаючого молодняка і заміни хворих корів здоровими імунними проти вірусу нетелями. Оздоровлення ВРХ неблагополучних і захист худоби благополучних господарств від спонтанного зараження вірусом лейкозу можна проводити шляхом профілактичної імунізації (раз на рік) інактивованою імуногенною вакциною Лейкозав проти лейкозу великої рогатої худоби.

У щеплених тварин формується противірусний імунітет, який триває в середньому 12 місяців (у окремих тварин і довше). Імунітет такої напруги захищає їх від спонтанного (в умовах побуту) і експериментального зараження. Через 11-12 місяців після щеплення у більшості (70-80%) тварин антитіла виводяться імунною системою з організму, збільшується прошарок РІД–негативних тварин у стаді і виникає необхідність проведення чергової імунізації.

В кінці року перед проведенням щеплення все стадо досліджують за РІД. РІД–позитивних – гематологічно. Гемхворих здають на забій і періодично проводять санацію приміщень для худоби.

Позитивний вплив профілактичної імунізації поголів'я ВРХ на активність перебігу лейкозного процесу серед інфікованого поголів'я з високим відсотком РІД–позитивних видно з таблиці 2.

З даних табл. 2 видно, що застосування профілактичної імунізації корів вакциною Лейкозав у ПСП “Фастівецьке” щорічно впродовж п'яти років істотно вплинуло на активність перебігу лейкозного процесу і оздоровлення стада в цілому. Під кінець кожного року серед щеплених вакциною корів збільшувалась

частка РІД–негативних (76,3-88,9%) і зменшувався відсоток РІД–позитивних та гематологічно хворих (у 3-14 разів).

Таблиця 2.

Вплив профілактичних щеплень вакциною Лейкозав проти лейкозу великої рогатої худоби на активність перебігу лейкозного процесу та оздоровлення стада

Роки	Досліджено РІД, щеплених, вакциною, гол.	Виявлено в кінці року за РІД				Досліджено гематологічно РІД*, гол.		
		РІД -позитивні		РІД - негативні		всього	виявлено хворих	%%
		всього	%%	всього	%%			
III-ХІІ.2000	414	98	23,7	316	76,3	139	32	23,0
2001	468	19	4,5	449	96,0	72	18	25,0
2002	369	82	22,2	287	77,8	-	-	-
2003	346	49	14,2	297	85,8	97	3*	0,3
2004	416	46	11,1	370	88,9	74	5*	0,7

- кількість лейкоцитів 10,2-13,0 Г/л

У перші два роки (2000-2001) застосування імунізації корів вакциною Лейкозав частка РІД-позитивних корів в стаді дещо зросла на 14 і 32% відповідно. Ми вважаємо, що таке збільшення відбулося за рахунок тварин, у яких після імунізації підвищився рівень антитіл в сироватці крові, що дало можливість їх виявити. Без імунізації вакциною такі тварини залишаються в стаді як здорові, створюючи і підтримуючи активне джерело інфекції. Під впливом вакцини значні зміни відбулися і серед реагуючих позитивно за РІД та гематологічно хворих тварин. Так, у 2000 році перед проведенням профілактичних щеплень було досліджено стадо корів (414 голів) і виявлено 98 голів позитивно реагуючих за РІД (35,7%). Серед них 27,3% (41 гол.) були хворі в гематологічній стадії розвитку інфекції. Після щеплення вакциною лише за цей рік кількість РІД–позитивних зменшилась на 12% (52 гол.), а гематологічно хворих на 4% (9 гол.).

Після проведеної профілактичної імунізації корів (468 гол.) в кінці 2001 року було виявлено позитивно реагуючих за РІД 19 корів (4,5%), а частка РІД–негативних склала 96%.

Більшість РІД–позитивних корів, виявлених під час серологічних і гематологічних досліджень на лейкоз у 2000 році, здали на забій, як спонтанно інфікованих польовим вірусом.

П'ятдесят дві РІД–позитивні високо продуктивні корови з 2000 року та 19 голів, що виявились РІД–позитивними у 2001 році дослідили гематологічно і виявили 18 голів (25%), хворих в гематологічній стадії розвитку інфекції.

Значні зміни у збільшенні прошарку РІД–негативних корів у стаді відбулися після регулярних щорічних (раз на рік) профілактичних щеплень протягом трьох років (2000-2002). Так, у кінці 2003-2004 рр. залишок іmunних (РІД–позитивних) тварин у стаді становив всього 11-14%, а частка РІД–негативних – 85-89%. Ці показники дають підставу стверджувати, що тварини захищені профілактично специфічним противірусним імунітетом не піддаються спонтанному зараженню патогенним вірусом лейкозу. Хвороба припинила вражати нових тварин. Крім того, активна імунізація тварин в стаді позитивно

впливає на латентно хворих лейкозом. Згасання активності перебігу інфекційного процесу лейкозу в стадії корів під впливом профілактичної імунізації вакциною підтверджується і відсутністю гематологічно хворих тварин.

Під час гематологічних досліджень РІД-позитивних корів у 2003-2004 рр. було виявлено Державною районною лабораторією 8 голів із загальною кількістю лейкоцитів 10,2-13,0 Г/л. Кров цих тварин була повторно досліджена в Київській державній лабораторії ветмедицини. Встановлено, що ці тварини були інвазовані сета́рїями. Цілком можливо, що це спричинило підвищення кількості лейкоцитів в крові тварин до верхньої межі фізіологічної норми.

Про оздоровлення стада корів від лейкозу під впливом захисту тварин профілактичною імунізацією вакциною Лейкозав свідчить відсутність лейкозних туш під час забою. Протягом 2005-2006 рр. було забито 126 голів (54 гол. РІД-позитивних і 68 гол. гематологічно хворих). З однієї туші найбільш підозрілої за гематологічними показниками було відібрано пат матеріал для гістологічного дослідження. За даними Київської державної лабораторії ветмедицини у надісланому матеріалі не виявлено патологічних змін, характерних для захворювання на лейкоз.

Щоб експериментально підтвердити або спростувати наявність чи відсутність вірусу у щеплених вакциною Лейкозав РІД-позитивних тварин, що залишалися в кінці року, нами проведено спеціальний дослід. Донором була корова Ластівка (інв. № 653), сироватка крові якої протягом 2000-2003 рр. реагувала позитивно в РІД. Гематологічні дослідження, що проводились регулярно не виявили збільшення кількості лейкоцитів (5,0-5,6 Г/л). Починаючи з 2000 року, ця тварина регулярно імунізувалась один раз на рік вакциною Лейкозав.

Двом яркам віком 5 і 6 місяців ввели підшкірно в ділянці верхньої третини ший по 5 см³ крові корови Ластівки. Протягом року заражених овець досліджували гематологічно через кожні три місяці. За цей період вівці народили ягнят, але не проявили ознак захворювання на лейкоз. Кількість лейкоцитів в їх крові була в межах фізіологічної норми (5,8-8,6 Г/л).

Висновки :

1. Вперше розроблено інактивовану імуногенну вакцину Лейкозав проти лейкозу великої рогатої худоби і використано для профілактичної імунізації та активної боротьби з лейкозом в господарстві з високим (>30%) відсотком інфікованого вірусом лейкозу поголів'я великої рогатої худоби.

2. В організмі великої рогатої худоби, щепленої вакциною, формується специфічний протівірусний імунітет з титром антитіл переважно 1-3 lg₂, який надійно захищає їх від спонтанного зараження онкогенним вірусом лейкозу. Поствакцинальні антитіла сироватки крові реагують позитивно в РІД із стандартним лейкозним антигеном. Таку тварину не можна вважати інфікованою вірусом лейкозу і хворою.

3. Профілактична імунізація великої рогатої худоби вакциною Лейкозав активно сприяє згасанню перебігу лейкозного процесу серед заражених вірусом лейкозу тварин та оздоровленню стада (господарства) від інфекції.

4. Щеплені вакциною Лейкозав тварини не є вірусоносіями та джерелом інфекції для підростаючого молодняка і здорових дорослих тварин.

5. Через 2-3 роки (термін спостереження) щорічної (раз у рік) імунізації неблагополучного щодо лейкозу великої рогатої худоби стада, збільшується частка РІД–негативних тварин, призупиняється виділення гематологічно хворих і РІД–позитивних та не виявляються лейкозні туші після забою.

Література

1. Інструкція з профілактики та оздоровлення великої рогатої худоби від лейкозу. – 11.01.2008 р., № 12/14703.

2. Miller J.M., Miller Y.D., Olson C., Yilteffa K.Y. Virus-Like particles in phitogem-agglutinin stimulated Lymphocyte cultures with reference to bovine Limphosarcoma//J. Natl. Cancer Inst. – 1969. – 43. – p. 1297-1305.

3. Мандрига М. Генетичні аспекти лейкозу великої рогатої худоби//Ветеринарна медицина України. – 2001. – № 4. – С. 18-19.

4. Завірюха Г., Дзюба С., Завірюха А. Випробування вакцини Лейкозав проти лейкозу великої рогатої худоби на вівцях//Ветеринарна біотехнологія. – Бюлетень № 2/2002. – С. 73-82.

5. Завірюха А. Здобутки і перспективи у боротьбі з лейкозом великої рогатої худоби//Аграрний вісник Причорномор'я: Вет. наука. – Одеса, 2003. – Вип. 21. – С. 63-70.

6. Завірюха Г.А., Дзюба С.М., Завірюха А.І. Лікувальні властивості вакцини Лейкозав проти лейкозу великої рогатої худоби//Ветеринарна біотехнологія. – Бюлетень № 4/2004. – С. 72-78.

7. Інструкція про заходи з профілактики та оздоровлення великої рогатої худоби від лейкозу. – Київ. – № 15-15/220.

Summary

Zaviruha A.I., Zaviruha G.A.

THE NEW EFFECTIVE REHABILITATION METHOD FOR CATTLE EXPOSED TO A LEUKEMIA VIRUS.

The immunogenic Leykozav vaccine first was used for prophylactic immunization to fight leukemia in affected cattle farms with large (> 30%) virus infection rates of animals. After three years of regular vaccination the hematological patients with leukemia and leucemic carcasses at slaughter disappeared. At the end of the year the immunodiffusion test results confirmed 20% residue of immune animals among vaccinated livestock, admitted to be spontaneous infection-resistant. Vaccinated cattle with positively-reacting serum in the immunodiffusion test could not be considered infected by wild leukemia virus.

Key words: leukemia, vaccine, prophylaxis, immunization.

Рецензент – д.вет.н., проф. Завірюха В.І.