УДК 619.616.006.441.084;661.606.446.638.2

ФОРМУВАННЯ ІМУНІТЕТУ У КОРІВ, ЩЕПЛЕНИХ ВАКЦИНОЮ ЛЕЙКОЗАВ, В УМОВАХ ЕПІЗООТОЛОГІЧНОГО ЕКСПЕРИМЕНТУ ТА ЙОГО ВПЛИВ НА ОЗДОРОВЛЕННЯ ВІД ЛЕЙКОЗУ

Завірюха Г.А.

Інститут ветеринарної медицини УААН, м. Київ

Вивчали (РІД) формування противірусного специфічного імунітету у корів, щеплених експериментальною вакциною Лейкозав проти лейкозу ВРХ. Встановлено, що у тварин формується активний імунітет з титром антитіл у сироватці крові 1:2–1:8, рідше 1:16, який захищає їх від спонтанного зараження та позитивно впливає на оздоровлення стада від лейкозу. Через 2 роки регулярних профілактичних щеплень не реєструються тварини з високими титрами (1:32 – 1:64) антитіл, гематологічно хворі, загибель від лейкозу та лейкозні туші на забої. В кінці кожного року в щепленому стаді залишається 10-30 % імунних тварин, що є підставою проведення чергової профілактичної імунізації.

Лейкоз великої рогатої худоби – хронічне захворювання злоякісної пухлинної природи з млявим розвитком інфекційного процесу. Спричиняється РНК-вмісним вірусом родини Retroviridae, роду Deltaretrovirus.

Не зважаючи на те, що Елерман і Банг ще у 1908 році повідомили про роль вірусу, як етіологічного фактора у захворюванні курей злоякісною пухлинною хворобою (лейкоз), вірусна теорія виникнення та розвитку лейкозу у великої рогатої худоби не знаходила підтримки у багатьох дослідників аж до кінця 60-х років XX століття. Основними аргументами супротивників вірусної етіології лейкозу великої рогатої худоби були нетиповість перебігу та розповсюдження у порівнянні з іншими вірусними інфекціями [1].

У 1969 році колектив авторів на чолі з J.M. Miller [2] виявили та описали в молоці хворої лейкозом корови вірусні частки типу С та описали їх. Це започаткувало визнання вірусу, як першопричини виникнення лейкозу у цього виду тварин. На сьогодні роль вірусу у виникненні захворювання на лейкоз сільськогосподарських, домашніх та лабораторних тварин доказана великою кількістю експериментальних робіт і не викликає заперечень [3, 4].

Вірус лейкозу великої рогатої худоби вражає кровотворну систему організму з наступною її руйнацією, неконтрольованою проліферацією форменних елементів, виникненням пухлин в різних частинах тіла, раптовою загибеллю тварин та характерними патологоанатомічними змінами на розтині [4].

В організмі інфікованої тварини вірус лейкозу може перебувати у двох формах: неактивній – у вигляді провірусу інтегрованого в геном В-клітин (СД5+) та активній - у вигляді зформованих віріонів.

Неактивна форма не стимулює накопичення в сироватці крові достатньої кількості антитіл адекватній чутливості реакції імунодифузії і не може бути діагностована. Активна форма вірусу спричиняє розвиток інфекційного процесу, зрілі віріони здатні інфікувати ще не вражені клітини хазяїна.

Лейкоцити, заражені вірусом, та вільні віріони, що вийшли в плазму крові, блокуються антитілами [5]. За допомогою цього природно зформованого механізму відбувається елімінація збудників у організмі. Однак сили природного імунітету недостатньо, щоб звільнитись від ретровірусної інфекції. У великому пулі уражених вірусом клітин завжди знайдеться клон, здатний вижити в процесі еволюційного відбору [6].

Отже кров хворої на лейкоз великої рогатої худоби в гематологічній стадії розвитку інфекції є унікальним природним середовищем, і її необхідно використовувати, як сировину для виготовлення інактивованих протилейкозних вакцин.

Запропонована нами експериментальна інактивована вакцина Лейкозав проти лейкозу великої рогатої худоби під час випробування на вівцях та великий рогатій худобі

показала свої високі захисні властивості [7]. У щеплених тварин формується активний імунітет переважно з титром антитіл 1:2 – 1:8, рідше 1:16 в реакції імунодифузії.

Метою роботи було вивчення динаміки формування специфічного імунітету проти вірусу лейкозу у корів, щеплених вакциною Лейкозав, в умовах епізоотологічного експерименту та його вплив на оздоровлення стада від лейкозу.

Матеріали і методи. В досліді було 206–208 високоудійних корів голштінізованої чорно-рябої породи з середнім добовим удоєм по стаду 20 літрів, приватного підприємства “Фастівецьке” Київської області, неблагополучного щодо лейкозу великої рогатої худоби з 1980 року. Тварини утримувались в одному приміщенні, в однакових умовах годівлі, догляду та утримання.

Інфікованість стада вірусом лейкозу до застосування вакцини була в межах 64–40 відсотків. Щорічно серед РІД-позитивних тварин виявляли 3–27 % гематологічно хворих, а під час забою худоби з господарства – туші з характерними для лейкозу ураженнями.

За місяць до імунізації корів вакциною Лейкозав все стадо було досліджено у РІД та гематологічно. РІД-позитивних (інфіковані) залишили в групах. РІД-негативних тварин вважали здоровими, хоч таке припущення є відносним, через високий (37 %) відсоток ураження вірусом у стаді. Здорових тварин щеплювали профілактичною дозою вакцини один раз на рік. Вакцину вводили підшкірно в ділянці верхньої третини шиї, двічі, з інтервалом 14-21 день по 2 см^3 (2+2 см^3), дотримуючись правил асептики та антисептики. РІД-позитивних корів щеплювали лікувальною дозою вакцини 4+4 см^3 за такою ж схемою. Щеплених вакциною корів досліджували у РІД один раз на рік через 10-12 міс. після введення вакцини. В окремих випадках – через 6 місяців.

З метою вивчення динаміки формування і тривалості напруги поствакцинального імунітету у корів в умовах епізоотологічного експерименту, відібрані сироватки крові досліджували у РІД в нативному вигляді та в розведеннях 1:2–1:64 (1-5 $\log_2$). РІД - позитивних тварин обов’язково досліджували гематологічно.

Результати дослідження. До проведення наших досліджень боротьба з лейкозом великої рогатої худоби в господарстві проводилась згідно вимог чинної інструкції (1992). Протягом п’яти років перед застосуванням вакцини Лейкозав епізоотична ситуація з лейкозу характеризувалась наступними показниками (табл. 1).

Таблиця1 – Результати лабораторних досліджень крові корів ПСП “Фастівецьке” Київської області (1995 – 1999 р.р.)

Рік	Досліджено (гол.)	Виявлено, гол.					Залишилось РІД–негативних, гол.	
		РІД–позитивних		Гематологічно хворих				
		всього	%	досліджено	виявлено	%	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	78,43
1998	561	105	18,72	97	Результати не збереглися		456	81,28
1999	418	166	39,71	165	9	5,45	252	60,29

Аналіз даних табл. 1 підтверджує складність і напруженість епізоотичної ситуації з лейкозу великої рогатої худоби в господарстві. Кількість щорічно виявлених за РІД позитивно реагуючих тварин була в межах 19-63 відсотків.

Щоб оздоровити таке господарство від лейкозу великої рогатої худоби інструкція (1992) рекомендує повну заміну поголів’я. Для ефективної і економічно обґрунтованої активної боротьби з лейкозом в господарствах ми пропонуємо захист чутливого до захворювання поголів’я специфічним противірусним імунітетом. Усіх теличок з 4–5-місячного віку, нетелів, корів і бугаїв-плідників (відтворювальна частина стада) щеплюють профілактично один раз на рік вакциною Лейкозав проти лейкозу великої рогатої худоби. Вакцина не шкідлива, інактивована, імуногенна, не викли-

кає побічних ускладнень і захищає тварин не тільки від спонтанного, але й експериментального зараження [7].

За 2-3 роки регулярних щеплень вдається поступово замінити спонтанно уражених вірусом лейкозу корів здоровим імунним поголів'ям. У щепленому стаді припиняється виділення гематологічно хворих, раптова загибель корів від захворювання на лейкоз та туші з характерними ураженнями на забої. Адже це і є головними складовими оздоровлення великої рогатої худоби господарства від лейкозу.

Вивчення динаміки формування специфічного противірусного імунітету у корів показало можливість, перспективність та практичну необхідність застосування активної імунізації поголів'я для його захисту від спонтанного зараження вірусом лейкозу та оздоровлення господарства в сучасних умовах ведення тваринництва (табл. 2).

Таблиця 2 – Показники специфічного противірусного імунітету у корів, щеплених вакциною Лейкозав (2000 – 2003 р.р.)

Дата дослідження, рік, місяць	**Досліджено за РІД, голів**	**Виявлено РІД – позитивних, гол.**		**Сироватки крові реагували позитивно в РІД, в розведенні**												**негативні**
				1:2		**1:4**		**1:8**		**1:16**		**1:32**		**1:64**		
		всього	%	**всього**	%	**всього**	%	**всього**	%	**всього**	%	**всього**	%	**всього**	%	**РІД гол**
2000, лютий*	206	76	36,90	10	13,20	12	15,80	22	28,90	13	17,10	10	13,20	9	11,80	130
2000, грудень	206	68	33,10	26	38,30	32	47,06	8	11,76	2	2,88	–	–	–	–	138
2001	207	23	11,11	5	21,73	12	52,17	7	26,10	–	–	–	–	–	–	184
2002	208	38	18,90	13	34,20	17	44,74	6	18,43	1	2,63	–	–	–	–	171
2003, травень**	207	81	39,10	13	16,00	36	44,40	16	19,80	11	13,60	5	6,20	–	–	126

** – до щеплення вакциною; ** – через 6 міс. після щеплення*

З даних таблиці 2 видно, що на початку (лютий) 2000 року перед застосуванням імунізації корів вакциною Лейкозав інфікованість стада корів вірусом лейкозу (РІД-позитивні) була на рівні 37 % (76 голів). За рівнем титру специфічних антитіл в сироватці крові тварини розподілились таким чином: 10 корів (13,2 %) реагували позитивно в РІД у розведенні 1:2; 12 (15,8 %) – у розведенні 1:4; 22 (28,9 %) – 1:8; 13 (17,1 %) – 1:16; 10 (13,2 %) – 1:32 і 9 корів (11,8 %) – у розведенні 1:64. У більш високих розведеннях сироватки не досліджувались.

Одержані дані серологічних досліджень свідчать, що в спонтанно інфікованому вірусом лейкозу стаді корів переважна більшість тварин (> 42%) мали високі (1:16 – 1:64) титри постінфекційних специфічних антитіл. У цьому ж стаді було виявлено більше 6 % гематологічно хворих.

У березні 2000 року всіх корів щепили вакциною Лейкозав, а через 9 місяців дослідили за РІД і отримали наступні результати.

У загальній кількості позитивно реагуючих за РІД тварин до і після вакцинації не відбулося значних змін (зменшення всього на 8 голів (3,8%).

В інших господарствах, де ми проводили аналогічні дослідження, кількість РІД – позитивних після першої імунізації навіть зростала на 10-15%. Це давало підставу окремим спеціалістам державної служби ветмедицини стверджувати, що вакцинація тварин не тільки не сприяє оздоровленню стада (зменшенню кількості РІД – позитивних), а навпаки, збільшенню його інфікованості.

Однак результати наших та планових лабораторних досліджень на лейкоз щепленого поголів'я протягом 2000-2004 років спростовують такі переконання.

Через 10 місяців після імунізації вакциною група тварин з титром антитіл 1:2 збільшилась майже в 3 рази (13 % до щеплення і 38 % після імунізації). Цей показник дуже важливий, бо зростання групи тварин з титром 1:2 свідчить про позитивний вплив вакцинації щодо виявлення хворих в латентній стадії розвитку інфекції. В нещепленому стаді вони залишаються за порогом чутливості РІД, тобто в групі здорових тварин, не ізолюються і є джерелом інфекції для підростаючого молодняку та ще не вражених вірусом дорослих тварин.

У проімунізованому стаді відбулися суттєві зміни і в групах РІД - позитивних тварин, що мали більш високі показники напруги антитіл. Так, кількість тварин, сироватки крові яких реагували в РІД у розведенні 1:4, збільшилась в 3 рази (16 % до 47 % після щеплення). Не було тварин з високими показниками титру антитіл –1:32-1:64. До імунізації, серед реагуючих в РІД, їх було 25 %.

Щорічна активна імунізація корів проти лейкозу великої рогатої худоби позитивно вплинула на оздоровлення стада в цілому (таблиця 3).

З даних таблиці 3 видно, що в результаті проведених профілактичних щеплень корів у господарстві у 2000-2001 роках і здачі на забій всіх гематологічно хворих у наступні 2002-2004 рр. імунізація поголів'я сприяла захисту здорових тварин від спонтанного зараження вірусом і оздоровленню від лейкозу. В кінці року залишилось 11,0-22,0 % (в інших господарствах до 30 %), реагуючих позитивно в РІД імунних тварин і 80-90 % РІД – негативних. Під час проведення експерименту не було раптової загибелі тварин від лейкозу, уражених туш на забої, а серед РІД - позитивних корів – тварин з високими (1:32 – 1:64) титрами антитіл в сироватці крові та гематологічно хворих.

Таблиця 3 – Результати застосування профілактичної імунізації корів вакциною Лейкозав у боротьбі з лейкозом великої рогатої худоби

Рік	Досліджено за РІД, гол.	Виявлено в кінці року, гол.				Досліджено гематологічно, гол.		
		РІД-позитивні		РІД-негативні		всього	виявлено хворих	
		всього	%	всього	%		всього	%
2000	414	98	23,7	316	76,3	139	32	23,0
2001	468	19	4,0	449	96,0	72	18	25,0
2002	369	82	22,2	287	77,8	Не досліджували		
2003	346	49	14,2	297	85,8	97	3*	0,3
2004	416	46	11,0	370	89,0	74	5*	0,7

**- кількість лейкоцитів 10,2-13,0 т/л.*
- в графі 7 – всі РІД – позитивні корови, які були в господарстві на день взяття крові.

Результати проведених досліджень дають підставу стверджувати, що захист поголів'я великої рогатої худоби профілактичними щепленнями експериментальною інактивованою вакциною Лейкозав є одним із ефективних способів боротьби з лейкозом у сучасних умовах господарювання.

Висновки: 1. Уперше в умовах епізоотологічного експерименту показана можливість успішної боротьби з лейкозом великої рогатої худоби за допомогою профілактичної імунізації відтворювальної частини стада (телиці, нетелі, корови) вакциною Лейкозав проти лейкозу великої рогатої худоби в господарствах з високим відсотком інфікованості поголів'я.

2. В організмі корів, щеплених вакциною Лейкозав, формується активний противірусний імунітет з титром антитіл 1:2 – 1:8, рідше 1:16 в реакції радіальної імунодифузії (РІД), який захищає тварин від спонтанного зараження та позитивно впливає на видужання РІД – позитивних, з високою напругою антитіл (1:32 – 1:64) зформованих під впливом польового віруса.

3. Через 2-3 роки (термін спостереження) регулярних профілактичних щеплень вакциною в імунному стаді корів не виявлені тварини з високими титрами антитіл

(1:32 – 1:64) та гематологічно хворі, а під час діагностичного забою худоби з господарства не виявляються туші з характерними для лейкозу ураженнями.

Список литературы

1. Нагаєва, Л., Вербицький, П., Горжеєв, В. та ін. Вірусогенетичні обгрунтування вакцини проти лейкозу рогатої худоби та її роль в системі оздоровчих заходів // Ветеринарна медицина України. – 2001. – №7. – С.14-15. *2.* Mille,r J.M., Miller, Y.D., Olson, C., Yilteffe, K.Y. Virus –Lake particles in phitohem – aglutinin stimulated Lymphocyte with reference to bovine Limfosarcoma // J. Natl. Cancer Inst. – 1969. – 43. – P. 1297-1305. *3.* Мандигра, М. Генетичні аспекти лейкозу великої рогатої худоби // Ветеринарна медицина України. – 2001. – №4. – С.18-19. *4.* Інструкція про заходи з профілактики та оздоровлення великої рогатої худоби від лейкозу. – Київ. – № 15-15/220. – 28.09.1992. *5.* Маслянко, Р.П. Основи імунобіології. – Львів. – Вертикаль. –1999. – 472С. *6.* Змушко, Е.И., Белозеров, Е.С., Митин, Ю.А. // Клиническая иммунология Питербург. – 2001. – 574 С. *7.* Завірюха, А., Дзюба, С., Завірюха, А. Випробування вакцини Лейкозав проти лейкозу великої рогатої худоби на вівцях // Ветеринарна біотехнологія. – 2002. – №2. – С. 73-82.

FORMATION OF IMMUNITY AT THE COWS, VACCINATED BY LEUCOSAV, IN THE CONDITIONS OF EPIZOOTOLOGICAL EXPERIMENT AND ITS INFLUENCE ON SANITATION FROM LEUCOSIS

Zaviryukha H.A.

Institute of Veterinary Medicine of the Ukrainian Academy of Agrarian Sciences, Kyiv

The formation of antiviral specific immunodefence at the cows vaccinated by an experimental vaccine Leucosav against leucosis has been studied. It has been determined, that the active immunity with an antibody titer in blood serum 1:2-1:8, less often 1:16 serum is formed at animals, which protects them from spontaneous infection and positively influences on sanitation of herd from a leucosis. After two years of regular preventive vaccinations the animals with high titers (1:32 - 1:64) of antibodies and haematologically diseased have not been detected as well as death from a leucosis and leukemic carcasses have not been detected at slaughter. At the end of each year in vaccinated herd there were 10-30 % of immune animals, that is the basis for carrying out of the next preventive immunization.

УДК 619:616-091:612.014.

ПОРІВНЯЛЬНА ПАТОМОРФОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА НЕФРАЛЬНИХ ПАТОЛОГІЙ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ ПРИ ОТРУЄННІ ПІРОЛІЗИДИНОВИМИ АЛКАЛОЇДАМИ ЖОВТОЗІЛЛЯ ЗВИЧАЙНОГО ТА ЧОРНОКОРЕНЯ ЛІКАРСЬКОГО

Захар'єв А.В.

Харківська державна зооветеринарна академія

Проведено патоморфологічний аналіз нирок у великої рогатої худоби при гострих і хронічних варіантах її отруєння піролізидиновими алкалоїдами жовтозілля звичайного та чорнокореня лікарського. Встановлено, що при гострому отруєнні в нирках розвиваються гіпертрофія, нефральний гострий некроз канальців, нефроз із тубулорексисом, гломерулонефротубулонекроз. При хронічному отруєнні нефральна патологія розвивається у вигляді нефрозу з тубулорексисом чи гломерулонефротубулонекрозу, друга патологія розвивається частіше, ніж перша. Ниркові патології при отруєнні жовтозіллям звичайним перебігають важче, ніж при отруєнні чорнокоренем лікарським.

У наш час констатовано, що бур'яни, які здатні виробляти та накопичувати у собі піролізидинові алкалоїди, надзвичайно широко розповсюджені на нашій планеті; вони здатні викликати важкі отруєння у свійських та диких тварин і в людини.

Зараз відомо понад 660 різних видів таких алкалоїдів, їх продуцентами яких є більше 6000 рослин, найчастіше їх виробляють рослини родин Senecio і Crotalaria [9, 7].

Проте, токсичність піролізидинових алкалоїдів (PAs) різна навіть при однаковому кількісному вмісті їх у рослинах. Для того, щоб викликати отруєння у тварин їх повинно поступити у організм тварини від 5 до 10 % маси тіла [8, 9].