МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ЗАПОРІЗЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

БІОЛОГІЧНИЙ ФАКУЛЬТЕТ

Кафедра фізіології, імунології і біохімії
з курсом цивільного захисту та медицини

Кваліфікаційна робота
магістра

на тему: ПОКАЗНИКИ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ ПРИ ЗАПАЛЬНИХ ПРОЦЕСАХ У СВІЙСЬКИХ ТВАРИН

Виконала: студентка 2 курсу, групи 8.0913-б-з
спеціальності 091 Біологія та біохімія
освітньої програми Біологія
Волжаніна Л. М.
Керівник доцент, к.б.н., Копійка В. В.
Рецензент доцент, к.б.н., Литвиненко Р. О.

Запоріжжя – 2024

ЗАПОРІЗЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Біологічний факультет
Кафедра фізіології, імунології і біохімії з курсом цивільного захисту та медицини
Рівень вищої освіти магістр
Спеціальність 091 Біологія та біохімія
Освітня програма Біологія

ЗАТВЕРДЖУЮ
Завідувач кафедри фізіології, імунології і біохімії з курсом цивільного захисту та медицини, д.б.н., професор
_____ О.Г. Кущ
«_____» _____ 2023 року

ЗАВДАННЯ
НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ СТУДЕНТЦІ

Волжаніної Лілії Миколаївни

1. Тема роботи Показники периферичної крові при запальних процесах у свійських тварин. Peripheral Blood Parameters In Inflammatory Processes In Domestic Animals
керівник роботи Копійка В. В., к.б.н., доцент
затверджена наказом ЗНУ від «26» березня 2024 року № 519-с
2. Строк подання студентом роботи грудень 2024 року
3. Вихідні дані до роботи: Серед інфекційних хвороб лейкоз великої рогатої худоби займає одне з особливих місць, оскільки хвороба отримала значне поширення в багатьох регіонах України. Таке значне поширення лейкозу зумовлює великі економічні збитки, які, у першу чергу, стосуються племінних господарств, де хворі на лейкоз тварини втрачають племінну цінність, а племінні господарства – відповідний статус.
4. Зміст розрахунково-пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити): 1) дослідити частоту виявлення лейкозу ВРХ у господарствах Запорізького району; 2) проаналізувати динаміку лейкозу ВРХ Запорізького району в динаміці за останні 4 роки.
5. Перелік графічного матеріалу (з точним зазначенням обов'язкових креслень): Табл. 3.1-3.5, Рис. 1.1-1.6, 2.1.

6. Консультанти розділів роботи

Розділ	Консультант	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
4	Гороховський Є. Ю., к. б. н., доцент		

1. Дата видачі завдання _____2023 р._____

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапів кваліфікаційної роботи	Строк виконання етапів роботи	Примітки
1.	Огляд літературних джерел. Написання відповідного розділу роботи.	Січень 2024	Виконано
2.	Підбір методик дослідження. Написання відповідного розділу роботи.	Лютий 2024	Виконано
3.	Засвоєння правил техніки безпеки під час виконання експериментальної частини.	Березень 2024	Виконано
4.	Формування бази експериментальних досліджень. Оформлення результатів експерименту.	Квітень - травень 2024	Виконано
5.	Оформлення кваліфікаційної роботи. Передзахист роботи.	Червень-листопад 2024	Виконано
6.	Рецензування кваліфікаційної роботи.	Листопад 2024	Виконано
7.	Захист кваліфікаційної роботи.	Грудень 2024	Виконано

Студентка _____ Л.М. Волжаніна

Керівник роботи _____ В.В. Копійка

Нормоконтроль пройдено
Нормоконтролер _____ Є.Ю. Гороховський

РЕФЕРАТ

У роботі 64 сторінки, 5 таблиць, 7 рисунків; було використано 54 літературних джерела, із них 9 іноземною мовою.

Об’єкт дослідження – лейкоз.

Предмет дослідження – показники периферичної крові у свійських тварин при лейкозі (діагностика, прогноз та профілактика лейкозу).

Методи дослідження – імунологічні, статистичні.

Метою кваліфікаційної роботи було вивчити показники периферичної крові при запальних процесах у свійських тварин на прикладі лейкозу великої рогатої худоби.

Основним завданням було вивчити лабораторні показники, які застосовуються при діагностиці лейкозу великої рогатої худоби в системі забезпечення стійкого благополуччя господарств та ліквідації лейкозу у неблагополучних стадах, дослідити епізоотичну ситуацію щодо лейкозу ВРХ у тваринницьких господарствах.

Теоретично та експериментально аналізували результати лабораторних досліджень, акти епізоотологічних обстежень господарств та плани оздоровлення господарств від лейкозу ВРХ у господарствах Запорізького району.

ЛЕЙКОЗ, ПЕРИФЕРИЧНА КРОВ, ІМУНОЛОГІЧНІ ПОКАЗНИКИ.

ABSTRACT

The work of 64 pages, 5 tables, 7 figures; used 54 literary sources, 9 of them in a foreign language.

The object of the study is leukemia.

The subject of the study is peripheral blood parameters in domestic animals with leukemia (diagnosis, prognosis and prevention of leukemia).

Research methods are immunological, statistical.

The purpose of the qualification work was to study peripheral blood parameters in inflammatory processes in domestic animals using the example of bovine leukemia.

The main task was to study laboratory parameters used in the diagnosis of bovine leukemia in the system of ensuring sustainable well-being of farms and eliminating leukemia in disadvantaged herds, to investigate the epizootic situation regarding bovine leukemia in livestock farms.

Theoretically and experimentally analyzed the results of laboratory studies, acts of epizootological examinations of farms and plans for the improvement of farms from bovine leukemia in farms of the Zaporizhiadistrict.

LEUKEMIA, PERIPHERAL BLOOD, IMMUNOLOGICAL INDICATORS.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ.....7
ВСТУП.....8
1 ОГЛЯД НАУКОВОЇ ЛІТЕРАТУРИ.....13
1.1 Лейкоз – загальне захворювання кровотворної системи……...13
1.2 Діагностичне значення дослідження крові.....18
1.3 Реакція імунодіфузії.....24
1.4 Серологічні дослідження молока, молозива і секрету вимені корів.....34
2 МАТЕРІАЛ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....39
2.1 Об’єкти і матеріали дослідження.....39
2.2 Імуноферментний аналіз.....40
3 ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА.....44
4 ОХОРОНА ПРАЦІ ……...52
ВИСНОВКИ.....54
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ ……55
ПЕРЕЛІК ПОСИЛАНЬ.....59

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

ВРХ − велика рогата худоба.

ВЛ ВРХ − вірус лейкоз великої рогатої худоби

ВНА − вірус нейтралізатор антитіл

РІД − реакція імунодифузії

ІФА − імуноферментний аналіз

РЗК − реакція зв’зування компліменту

РНГА − реакція непрямої гемаглютинації

РА − реакція аглютинації

ПЛР − полімеразна ланцюгова реакція

ВСТУП

Запальні процеси у науковій роботі ми розглядаємо на такому об’єкті як лейкоз ВРХ. Предметом дослідження були лабораторні показники периферичної крові та молока ВРХ (на наявність збудника лейкозу). Кров у ветеринарній медицині досліджують з метою постановки діагнозу, особливо за прихованого перебігу захворювання, оскільки ще до появи клінічних симптомів серологічними дослідженнями можна діагностувати лейкоз, бруцельоз, лептоспіроз, пулороз.

Серед інфекційних хвороб лейкоз великої рогатої худоби займає одне з особливих місць, оскільки хвороба отримала значне поширення в багатьох регіонах України. Таке значне поширення лейкозу зумовлює великі економічні збитки, які у першу чергу стосуються племінних господарств, де хворі на лейкоз тварини втрачають племінну цінність, а племінні господарства – відповідний статус. Проблема лейкозів людини і тварин має велике біологічне, економічне і соціальне значення. Захворювання лейкозами і смертність від них, переважно високопродуктивних корів, у багатьох країнах продовжує збільшуватись, що певною мірою відбивається на виробництві продуктів тваринництва та їх якості. Ізолювання інфікованих тварин від неінфікованих на підставі результатів лабораторних досліджень залишається основним методом боротьби з лейкозом ВРХ в усьому світі.

Поряд з удосконаленням методів діагностики, відбувається пошук нових підходів у вивченні питань специфічної профілактики, імунітету, патогенезу. Ведуться інтенсивні наукові дослідження визначення якості продуктів тваринництва при лейкозі з врахуванням стадії розвитку лейкозного процесу. В багатьох науково-дослідних установах продовжуються роботи і створення нових вакцинних препаратів для профілактики лейкозу. Започатковано нові напрями у застосуванні

сироваток крові, які містять антитіла до вірусу лейкозу, для профілактики хвороби, запропоновані лізати лейкоцитів інфікованих тварин, застосовуються нові ад'юванти та імуномодулятори, що підвищує імуногеність інактивованих вакцин проти лейкозу. Персистентний лімфоцитоз з пухлинним проявом хвороби можливий лише у тварин при наявності трьох факторів: вірусу лейкозу великої рогатої худоби, генетичної схильності організму до лейкозу та імунологічної недостатності організму.

Основним методом діагностики лейкозу в Україні є серологічний (РІД).

Джерелом збудника інфекції є тварини хворі на лейкоз, реагуючі позитивно в РІД з антигенами вірусу лейкозу великої рогатої худоби.

Основний шлях передачі – горизонтальний (від хворої тварини – здоровій). Зараження можливе з внесенням в організм лімфоцитів, інфікованих вірусом лейкозу великої рогатої худоби (осіменіння, взяття крові, кастрація, щеплення, вакцинація, випоювання телятам збірного молока і ін.).

Розвиток епізоотичного процесу при лейкозі обумовлений взаємодією джерела збудника інфекції, механізму його передачі і поголів'я сприйнятливої великої рогатої худоби. Вивчення закономірностей прояву епізоотичного процесу в історичному аспекті дозволить мати інформацію про поширення лейкозу, провести порівняльну оцінку різних методів управління ним та запропонувати більш досконалу систему боротьби з лейкозом великої рогатої худоби.

Лікування лейкозу худоби не розроблене. Основою ефективного забезпечення благополуччя тваринництва щодо лейкозу є:

- своєчасна діагностика лейкозу;
- чітке знання епізоотичної ситуації;
- негайне виведення із стад вірусоносіїв і забій тварин з гематологічними ознаками лейкозу;
- забезпечення чіткого зоотехнічного обліку і нумерації тварин;

− дотримання ветеринарно-санітарних правил на фермах;

− забезпечення асептики та антисептики при масових обробках тварин (нумерація, взяття крові, вакцинація і ін.).

Поняття про лейкоз (лейкемію) як про самостійну зоологічну одиницю започаткував в 1845 ВР. Віршовий. Одночасно подібну у людини хворобу спостерігав і описав І. Бенкет, який назвав її лейкоцитонемією.

Перший випадок лейкемії у тварин описав патологоанатом Дрезденського ветеринарного інституту Leisering у 1858 р., а у 1865 р. вперше описав лейкоз у свиней . У хворого на лейкоз коня він виявив різко збільшену селезінку, яка містила переважно білі кров'яні тільця. У наступні роки він повідомив ще про три випадки лейкозу серед коней. У 1880 р. Nokard повідомив про свої спостереження за хворими на лейкоз кіньми. Ним започатковано дискусію стосовно даного питання у тодішній спеціальній літературі. У 1883 р. Henschen повідомив про 100 випадків лейкозу серед коней. У 1968 році Зейле об'єднує матеріал про 192 випадки лейкозу серед коней, а у 1985 році з'являється огляд літератури з цього питання .

Хворобу серед овець діагностували В.М. Митрофанов (1961), А.А. Кунаков і Г.Д. Горбачова (1967).Лейкоз у овець вперше описав l. Lund (1922), дещо пізніше W. Feldman. У 1932 р. в колишньому СРСР . Зміни, властиві лейкозу, у птахів виявив у 1868 р. F. Roloff. Вперше про лейкоз курей повідомив V. Muore у 1895 р. і U. Caparini у 1896 році. Нині хворобу діагностують у ряді країн Європи, Америки, Африки, при цьому вчені відмічають тенденцію до зростання захворюваності серед овець . Перші обґрунтовані і переконливі дослідження цієї хвороби у птахів провели V. Ellermann, O. Bang (1908) та V. Ellermann (1918).

Серед гемобластозів кішок здебільшого реєструють лімфосаркому.

У собак виявляють переважно лімфосаркому, лімфогранулематоз і тучноклітинну пухлинну форму. Проте, є повідомлення інших дослідників про те, що у собак часто вдається виділити також ретикульози та ретикулосаркоми. Деякі автори повідомляють про те, що у собак описані всі види пухлин, які зустрічаються у людини.

При лейкозі курей V. Ellermann виявив зміни не лише у крові, але й у кровотворних органах, тому у 1921 р. він замінив назву хвороби “лейкемія” новим терміном «лейкоз», який нині є загальноприйнятим при визначенні цієї хвороби у людини, тварин та птиці . Останній експериментально довів можливість перещепити мієлоїдну і еритроїдну лейкемію від хворих курей здоровим (тканинною емульсією, кров’ю та безклітинними фільтратами). У повідомленнях G. Cottral (1952) у порівняльному аспекті наведена статистика смертності сільськогосподарських тварин від лейкозів. Так, у овець відмічають 1 випадок захворювання на 30 тис. тварин, у свиней – 1 на 130 тис., у великої рогатої худоби – 1 на 10 тис., а у курей – 1 на 5 птахів. Можливість зараження здорових тварин різних видів вивчалась багатьма дослідниками в цілих серіях дослідів.

Розвиток лейкозології як науки в колишньому Радянському Союзі і зокрема в Україні має глибокі корені. Як зазначає П. Н. Смирнов, в умовах виробництва одержані позитивні результати, на підставі довготривалого епізоотологічного спостереження, вперше була встановлена можливість передачі збудника лейкозу в межах одного стада та від стада до стада Р. О. Москаликом (1992), в експериментах із контактної передачі вірусу лейкозу проведені численні досліди на телятах і ягнятах з позитивними результатами з експериментального відтворення інфекції ВЛВРХ шляхом інокуляції їм нативної крові, плазми, молока та безклітинних екстрактів в умовах експерименту доведена можливість пасажування і підвищення патогенності інфікуючого матеріалу підтверджений високий рівень асоціації вірусної інфекції з лейкозом [4, 7].

Перші випадки лейкозу великої рогатої худоби були зареєстровані в Харківській області в 1953 р. Пізніше з’явились повідомлення про виявлення захворювання серед корів у Львівській, Кіровоградській та інших областях. Вагомий внесок у вивчення лейкозу великої рогатої худоби на території України внесли такі вчені, як М. Н. Доронін, В. О. Бусол, М. С. Мандигра, Б. М. Ярчук та інші. Професор М. Н. Доронін є першим вченим України, який займався вивченням етіології лейкозу великої рогатої худоби. Ним започаткована перша в Україні школа лейкозологів, яка складалась із

вчених однодумців, що працювали в лабораторії вивчення лейкозу при Білоцерківському сільськогосподарському інституті. Ще в 1964–1965 роках М. Н. Доронін підтримав гіпотезу про вірусну етіологію лейкозу, якої дотримувалась нечисленна когорта вчених того часу, сформував навколо себе працездатний колектив із співробітників створеної ним наукової лабораторії. М. Н. Доронін бачив перспективи серологічної діагностики цього захворювання, вивчав клінічні ознаки лейкозу, епізоотичні особливості перебігу хвороби, її профілактику і розробив заходи з ліквідації. Ним була висунута гіпотеза вірусної етіології лейкозів не лише у великої рогатої худоби, а й у інших видів тварин та людей. Серед інфекційних хвороб лейкоз великої рогатої худоби займає одне з особливих місць, оскільки хвороба отримала значне поширення в багатьох регіонах України. Таке значне поширення лейкозу зумовлює великі економічні збитки, які у першу чергу стосуються племінних господарств, де хворі на лейкоз тварини втрачають племінну цінність, а племінні господарства – відповідний статус.

Для підтвердження своїх наукових позицій він формує три напрями досліджень: вивчення епізоотології з експериментальним підтвердженням інфекційності хвороби, а також поведінки передбачуваного вірусу в системах «тварина–тварина», «людина–тварина»; розробка методів виявлення неопластичного процесу за життя тварин; розкриття етіопатогенетичних закономірностей розвитку інфекції.

Тому метою роботи було вивчити показники периферичної крові при запальних процесах у свійських тварин.

Вказана мета реалізовувалась через вирішення таких завдань:

1) дослідити частоту виявлення лейкозу ВРХ у господарствах Запорізького району;

2) проаналізувати динаміку лейкозу ВРХ Запорізького району в динаміці за останні 4 роки (під час введення карантинних заходів та воєнного стану).

1 ОГЛЯД НАУКОВОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1.1 Лейкоз – це загальне захворювання кровотворної системи

Лейкоз (*Leucosis*) – це хронічна інфекційна хвороба великої рогатої худоби, інших ссавців та різних видів птахів, що характеризується порушенням процесу дозрівання клітинних елементів крові, злоякісним розростанням кровотворної та лімфоїдної тканин, утворенням у різних органах пухлин. Останнім часом лейкоз великої рогатої худоби набув значного поширення в багатьох країнах світу, в тому числі й в Україні.

Збудником лейкозу ВРХ є онкогенний РНК-вірус з родини ретровірусів, який має близьку генетичну й антигенну спорідненість з вірусом Т-клітинного лейкозу людини типів 1 і 2 та Т-клітинного лейкозу мавп. Вірус виділяється з організму заражених тварин з кров'ю, молоком, слиною та іншими секретами й екскретами, що містять лімфоцити, які є активними факторами його передачі.

Лейкоз, за рахунок широкого розповсюдження, наносить світовому скотарству значних збитків. Він представляє потенційну небезпеку, особливо генофонду племінного молочного тваринництва, так як реєструється у високопродуктивних тварин найбільш цінних молочних порід. Велика рогата худоба може бути інфікована лейкозом у будь-якому віці, навіть на стадії розвитку ембріону.

Майже протягом століття вчені багатьох країн проводили дослідження з вивчення етіології даного захворювання і лише 1969 рік увійшов до історії, як рік відкриття вірусу лейкозу великої рогатої худоби. Це екзогенний онковірус типу С, який відрізняється від всіх відомих вірусів типу С ссавців.

Збудник хвороби вірус є етіологічним агентом бичачого лейкозу і отримав назву «вірус лейкозу великої рогатої худоби» (ВЛВРХ), або *Bovine Leukemia virus* (BLV) (рис. 1.1).

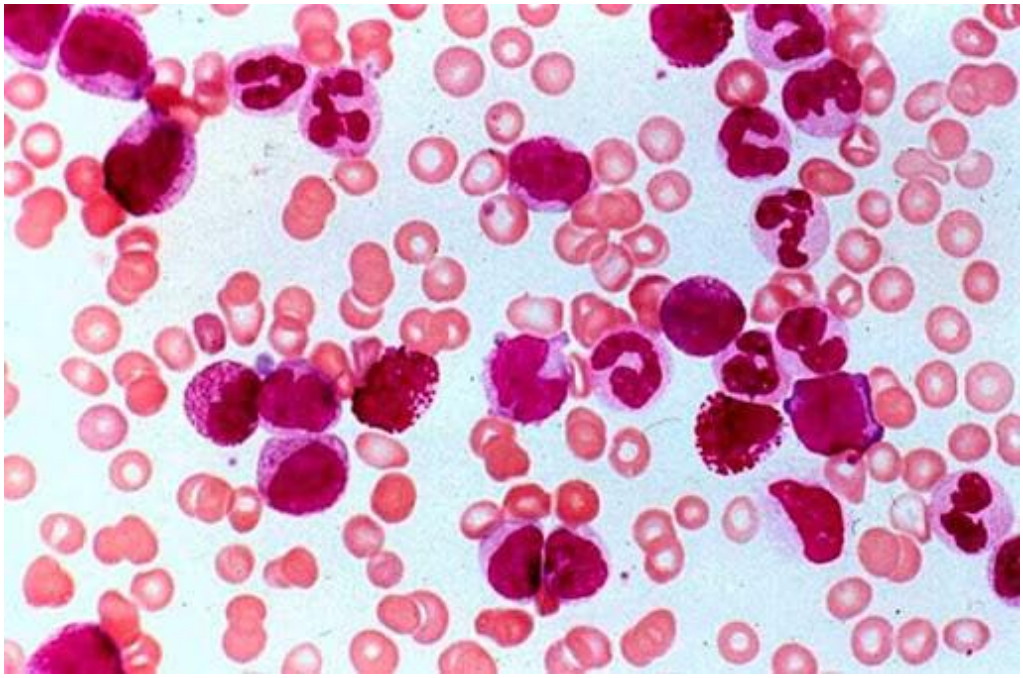


Рис. 1.1 − Віріони вірусу лейкозу великої рогатої худоби (ВЛ ВРХ) [3].

Вірус лейкозу великої рогатої худоби має значне поширення у стадах тварин (до 75%). Належить до родини *Retroviridae*, підродини *Oncornaviridae*. Разом із нещодавно відкритим вірусом Т клітинного лейкозу людини (HTLV), ВЛВРХ відноситься до особливої групи , яку позначають типом Е .

На підставі цих відмінностей, J. Ferrer вважає, що ВЛ ВРХ являє собою особливий лейкемічний вірус, який належить до групи *Oncovirinae*, позначеної як тип Е . Із слини, носових витоків, сечі і сперми інфікованих тварин виділити його не вдалося. Спонтанно іекспериментально заражене до і після народження теля залишається інфікованим все життя, незважаючи на наявність в організмі віруснейтралізуючих антитіл (ВНА), які вдається виявити при серологічних дослідженнях .Вірус локалізується у клітинах, які містяться в молоці та молозиві природно інфікованих тварин. Вірус лейкозу великої рогатої худоби є екзогенним вірусом, який відрізняється від відомих ретровірусів за антигенними властивостями, морфогенезом, здатністю індукувати синцитій в моношарових культурах клітин, і за властивостями

ревертази. Окрім того, на відміну від більшості лейкемічних вірусів, він присутній у інфікованих тварин в непродуктивному стані.

Відсутність експресії вірусного геному ВЛВРХ, за наявності транскрипційних вірусів в пухлинних клітинах дало можливість припустити, що причиною пухлинної трансформації клітин ВЛВРХ є порушення структури клітинного геному. Неспроможність антитіл елімінувати (видаляти) ВЛВРХ пояснюється тим, що цей вірус, як правило, знаходиться в інфікованих лімфоцитах у непродуктивному стані і захищений від дії антитіл.

Вертикальний шлях зараження характеризується передачею вірусу від матері до плоду під час внутрішньоутробного (пренатального) розвитку в останні 6 місяців вагітності. Але пренатальна передача ВЛВРХ не перевищує 20-ти випадків із кожної сотні можливих. Передавання лейкозу людині від тварин не встановлено [3, 10].

При лейкозі великої рогатої худоби існує два шляхи передачі вірусу: вертикальний – від матері до плоду і горизонтальний – від однієї тварини до іншої. Проте, основним у поширення інфекції в природних умовах є горизонтальний шлях – контактна передача. У більшості випадків, вірус передається з інфікованими лімфоцитами. В літературі є повідомлення про те, що поширення інфекції ВЛВРХ може проводитись комахами-гематофагами, особливо у зонах їх природного існування.

Патогенез вивчений недостатньо. Під впливом ще не цілком з’ясованих екзогенних і ендогенних факторів відбувається активізація інфекційного процесу, порушення нормального процесу дозрівання та диференціювання кровотворних клітин, надмірного розмноження малодиференційованих елементів лімфоїдного, мієлоїдного та еритроїдного рядів не лише у кровотворних органах, а й за їхніми межами. В кровотворній тканині спостерігається гіперплазія, нерегульоване прогресивне розмноження клітинних елементів, що призводить до дифузної інфільтрації малодиференційованими клітинами різних органів і тканин з

наступним утворенням лейкозної тканини, порушенням анатомічної структури та функції органу.

Лейкози ссавців проявляються у двох основних формах — власне лейкози (лімфолейкоз, мієлолейкоз, гемоацитобластоз), що характеризуються системним ураженням органів кровотворення та лейкемічними змінами картини периферичної крові, і ретикульози (лімфоретикулосаркома, системний ретикульоз, лімфогрануломатоз), які характеризуються осередковими або генералізованими пухлинними розростаннями ретикулярних елементів кровотворної тканини та відсутністю відхилень від норми в показниках крові. Найчастіше спостерігаються лімфолейкоз (62,4 %) та ретикулосаркома (53,4 %), рідко — мієлолейкоз.

Перебіг та клінічні ознаки хвороби. Під час лейкозів, залежно від інтенсивності розростання лейкозної тканини та залучення в процес тих чи інших життєво важливих органів, симптоми хвороби в одних випадках наростають днями й тижнями, в інших — місяцями й роками. Інкубаційний період при спонтанному зараженні великої рогатої худоби триває 2 –6 років, при експериментальному — від 2 міс до 2 років. У дорослих тварин перебіг хвороби хронічний (місяці, роки) без певних порушень загального стану організму. Часто встановлюють лімфолейкоз, лімфо- і ретикулосаркому. роками. Летальний кінець може настати швидко або через тривалий час (6 і більше років) [18].

Розрізняють три стадії розвитку хвороби: початкову, розгорнуту і термінальну.

Початкова стадія характеризується системним або осередковим ураженням власне органів кровотворної системи (лімфатичних вузлів, селезінки, кісткового мозку). В цій стадії клінічних ознак лейкозу немає. Під час гематологічного дослідження спостерігаються кількісні зміни в клітинному складі крові — збільшення кількості лейкоцитів, підвищення

вмісту лімфоцитів, поява незрілих та патологічно змінених форм клітин. У цій стадії наявність інфекції встановлюють імунологічними дослідженнями.

Патологоанатомічні зміни. У початковій, а іноді і в розгорнутій стадії лейкозу видимих патологічних змін немає. Лімфатичні вузли при лімфоїдному лейкозі збільшені в розмірі, мають м'яку еластичну консистенцію, не зрощені з прилеглими тканинами. У тварин, що загинули від лейкозу, а також у забитих в термінальній стадії хвороби патологічні зміни виявляються в усіх органах кровотворної системи — у лімфатичних вузлах, селезінці, кістковому мозку. Капсула знімається легко, поверхня розрізу волога, сірувато- або жовтувато-білого кольору.

При лімфогрануломатозі та лімфосаркомі лімфатичні вузли горбисті, капсула зрощена з паренхімою, на розрізі часто виявляються крововиливи і некрози. В органах черевної й тазової порожнин, а також на серозних оболонках спостерігаються пухлинні розростання у вигляді конгломератів біло- або жовто-сірого кольору. Селезінка при лимфоїдному та мієлоїдному лейкозах — відповідно буро- або малиново-червоного кольору, значно збільшена в розмірі (іноді у 8 – 10 разів). Поверхня розрізу при лімфоїдному лейкозі зерниста внаслідок гіперплазії фолікулів. У разі мієлоїдного лейкозу фолікули малопомітні, в окремих ділянках зовсім відсутні. При лімфоретикулосаркомі селезінка не збільшена. У кістковому мозку виявляється осередкове розростання лімфоїдних та ретикулярних клітин, які мають вигляд сірих і жовтувато-зелених гнізд м'якої консистенції і заміщають червоний кістковий мозок. Крім органів кровотворної системи патологоанатомічні зміни виявляються також у серці, печінці, нирках, сичузі, кишках, яєчниках, матці. Проявляються дифузною інфільтрацією лімфоїдними клітинами (збільшення розмірів і маси ураженого органа, зміна кольору) або пухлиноподібними розростаннями, утворенням обмежених лейкозних осередків сірого чи жовтувато-сірого кольору, що виступають над поверхнею органу. В скелетних м'язах патологічні зміни виявляються

рідко, характеризуються інфільтративним розростанням лейкозної тканини, яка пронизує м’язи.

Діагноз на лейкоз установлюють на підставі клінічних ознак хвороби, патоморфологічних змін і результатів лабораторних досліджень. Беруть також до уваги епізоотичну ситуацію щодо лейкозу.

1.2 Діагностичне значення дослідження крові

Серологічні дослідження проводять за реакція імунодифузії, імуноферментний аналіз, із сироватками крові інфікованих корів, а також за рекоменрдаціями радіоімунопреципітації, затримки синцитієутворення, ELISAметодом, РНГА, РЗК, методом визначення циркулюючих імунних комплексів тощо. Потреба у дослідженні крові визначається, передусім, її фізіологічним значенням і змінами, які настають у ній при різних патологічних станах.

Кров у ветеринарній медицині досліджують з метою постановки діагнозу, особливо за прихованого перебігу захворювання, оскільки ще до появи клінічних симптомів серологічними дослідженнями можна діагностувати лейкоз, бруцельоз, лептоспіроз, пулороз птиці, біохімічними – порушення обміну речовин.

Морфологічний аналіз крові використовують для діагностики піроплазмідозів, лейкозу, інфекційної анемії коней, анемій незаразної етіології. У кров виділяються продукти життєдіяльності різних органів, за вмістом яких можна визначити їх функціональний стан. За результатами дослідження крові контролюють ефективність лікування тварини, оздоровлення господарств від різних інфекційних захворювань (лейкоз, бруцельоз), передбачають прогноз захворювання. Важливе значення у профілактиці внутрішніх хвороб.

Лабораторна діагностика. Включає гематологічні, цитологічні, гістологічні та серологічні дослідження.

Взяття крові у тварин.

Невелику кількість крові, необхідну для морфологічного дослідження, у тварин можна отримати із вен вушної раковини. Перед взяттям крові місце проколу вистригають, дезінфікують спиртом або ефіром. Вену перетискують ближче до основи вушної раковини, потім проколюють її під прямим кутом стерильною ін'єкційною голкою. Для створення твердої основи вухо з протилежної сторони підтримують пальцем, з накладеним на нього ватним тампоном. Для діагностики піроплазмідозів мазки готують із першої краплі крові, яка з'явилася із судини. При малому витіканні кров видавлювати не можна. У курей кров отримують із гребеня або сережки, у гусей і качок – із м'якоті ступні кінцівок, у хутрових звірів – з м'якуша пальця. Велику кількість крові у великих тварин (коні, велика і дрібна рогата худоба, свині, верблюди) беруть із яремної вени. У свиней, крім цього, кров можна взяти із великих судин вуха, орбітального синуса або із хвостової вени. В останньому випадку кінчик хвоста вистригають, а потім гострим скальпелем роблять надріз його вентральної поверхні. У собак та інших м'ясоїдних кров отримують із судин кінцівок, у кролів – з вушної, птахів – з підкрилової вени. Для попередження гемолізу кров має поступати в пробірку по стінці [22].

Основним методом прижиттєвої діагностики лейкозу є серологічний — реакція імунодифузії (РІД). У лабораторію для серологічного дослідження надсилають 2 – 3 мл сироватки крові, для гематологічного дослідження — кров з яремної вени, яку відбирають в пробірки з антикоагулянтом. Для цитологічних досліджень виготовляють мазки зі свіжої або стабілізованої крові на знежирених предметних скельцях. З метою патогістологічного дослідження вирізають шматочки (2 × 1,5 см) селезінки, лімфатичних вузлів, печінки, нирок, легень, серця і правого

вушка серцевого м’яза, сичуга, тонкого й товстого відділів кишок, матки та скелетних м’язів .

Гематологічні дослідження передбачають виявлення у периферичній крові підвищеної кількості лейкоцитів лімфоїдного ряду, слабодиференційованих клітин (родоначальних, пролімфоцитів, лімфобластів) та поліморфних атипових клітин кровотворних органів. Результати підрахунків оцінюють за так званим «лейкозним ключем». Якщо кількість підрахованих в 1 см3 крові лейкоцитів виявляється меншою, ніж указано в «лейкозному ключі», результати дослідження вважають негативними; якщо кількість лейкоцитів перевищує норму в «лейкозному ключі», результати дослідження вважають позитивними. Тварин, підозрюваних щодо захворювання на лейкоз, піддають додатковому 2 – 3-разовому дослідженню з інтервалом 30 діб. Якщо під час другого і третього досліджень отримують негативні результати, тварин визнають здоровими. У разі виявлення змін у крові, характерних для хворих або підозрюваних щодо захворювання, тварин вважають хворими. Для диференціювання різних форм лейкозу проводять цитологічні дослідження крові, пунктатів кісткового мозку й поверхневих лімфатичних вузлів, визначення в мазках крові відсоткового співвідношення окремих видів лейкоцитів, виведення лейкоцитарної формули.

Спеціальні цитологічні дослідження пунктатів кісткового мозку і поверхневих лімфатичних вузлів дають змогу визначити форму прояву лейкозу. При лімфоїдному лейкозі виявляється збільшення лімфоїдних клітин (понад10-15%) за пригнічення мієлобластичного та еритробластичного ростків. У розгорнутій і термінальній стадіях лейкозу майже завжди спостерігається часткова або повна лімфоїдна метаплазія кісткового мозку. У випадку загострення хвороби в лейкограмі, мієлограмі й аденограмі виявляється підвищення відсотка гемоцитобластів, лімфобластів та пролімфоцитів.

При алейкемічному перебігу лімфоїдного лейкозу в мієлограмі визначається підвищений відсоток лімфоцитів. При мієлолейкозі відмічається збільшення кількості мієлобластних клітин за рахунок пригнічення еритробластичного ростка.

При гемоцитобластозі в мієлограмі, аденограмі та лейкограмі збільшується відсоток молодих, недиференційованих клітин - гемоцитобластів, лімфобластів, пролімфоцитів (понад 10-15%), визначається пригнічення мієлобластичного та еритробластичного ростків кісткового мозку і зменшення кількості зрілих лімфоцитів у крові та лімфатичних вузлах.

При ретикульозах спостерігається збільшення кількості ретикулярних і атипових клітин до 10 % і більше. При лімфогранулематозі можуть виявлятися недиференційовані та гігантські клітини Березовського - Штернберга. При ретикулосаркомі у пунктатах кісткового мозку та лімфатичних вузлах спостерігається проліферація гематобластів, ретикулярних і атипових клітин.

При лімфосаркомі у мазках крові, пунктатах кісткового мозку та лімфатичних вузлах виявляється до 10 % і більше лімфоїдних і ретикулярних клітин.

Результати цитологічного дослідження на лейкоз вважають позитивними в разі виявлення в мазках крові понад 3% і у кровотворних органах понад 10 % родоначальних слабодиференційованих клітин (пролімфоцитів, лімфобластів, мієлобластів) або пухлинних клітин при нормальних показниках абсолютної кількості лімфоцитів; на слабодиференційовану форму лейкозу - при виявленні в гемограмах і цитограмах кровотворних органів підвищеного відсотка родоначальних слабодиференційованих клітин макро-, мезо- і мікрогенерації лімфобластів та пролімфоцитів; на лімфоїдний лейкоз - у разі збільшення кількості клітин лімфоїдного ряду різного ступеня зрілості (пролімфоцитів і лімфобластів) в мазках крові, селезінки, лімфатичних вузлів, кісткового мозку та інших

органів; на гематосаркому (лімфосаркоми різного ступеня зрілості) - при збільшенні в гемограмах і цитограмах атипових (пухлинних) клітин, які відрізняються від нормальних за формою, розміром, структурою і подібні до клітин, що утворюють пухлини; на лімфогранулематоз - при встановленні в мазках крові лімфоцитозу, в препарах з лімфатичних вузлів - лімфоїдної гіперплазії з виявленням еози- нофілів, базофілів, фібробластів, плазматичних, атипових, недиференційованих та гігантських клітин Березовського - Штернберга.

Для гістологічного дослідження в лабораторію надсилають шматочки розміром 2/2 /1 см зміненої, здорової та суміжної тканин селезінки, печінки, нирок, серця, м'язів, лімфатичних вузлів, грудної кістки, стінок органів травлення, які відбирають не пізніше ніж через 8 год після загибелі або забою тварини, і вміщують у герметично закритий посуд з 8-10%-м водним розчином формальдегіду.

Діагноз вважається встановленим на лімфоїдний лейкоз, якщо в селезінці й лімфатичних вузлах спостерігається повне зникнення малюнка за рахунок дифузної інфільтрації клітинами лімфоїдного ряду, серед яких виявляються переважно зрілі лімфоцити, в меншій кількості — пролімфоцити, лімфобласти, іноді ретикулярні клітини.

У кістковому мозку строма збережена, виявляється лише значне стоншення та розсмоктування балок, скупчення лімфоцитів, які розміщуються у вигляді осередків або дифузно, заповнюючи всі кістково-мозкові простори (лімфоїдна метаплазія). У нирках, печінці, серці, сичузі та інших органах спостерігається скупчення лімфоцитів у просвіті капілярів та інфільтрація лімфоїдними клітинами інтерстиціальної тканини.

На слабодиференційований лейкоз (гемоцитобластоз) діагноз установлюють у тих випадках, коли в кістковому мозку, селезінці, лімфатичних вузлах та інших органах спостерігаються осередкові й дифузні проліферати, клітинний склад яких представлений недиференційованими або слабодиференційованими клітинами типу гемоцитобластів.

Мієлоїдний лейкоз установлюють, якщо в селезінці виявляються незрілі елементи гранулоцитарного ряду, мегакаріоцити, клітини типу гемобластів, ретикулярні клітини, фрагментація та розпад волокон; у кістковому мозку - скупчення зрілих і незрілих клітин гранулоцитарного ряду; в лімфатичних вузлах, печінці, нирках, легенях та інших органах спостерігаються осередкові й дифузні зростання мієлоїдних елементів. На лімфосаркому діагноз установлюють, якщо в лімфатичних вузлах, органах травлення, відтворення, серцевому й скелетних м'язах відмічається розростання пухлини з недиференційованих або слабодиференційованих клітин лімфоїдного типу; на лімфогрануломатоз, якщо виявляється гіперплазія лімфоїдних клітин або поліморфно-клітинна проліферація, склеротичні зміни й некроз у лімфатичних вузлах, селезінці, печінці та інших органах, а серед поліморфних клітин ретикулярного типу виявляють багатоядерні гігантські клітини, плазматичні клітини, еозинофіли, нейтрофіли різного ступеня дозрівання, а також фібробласти.

Серологічні дослідження проводять за РІД, РФІ, із сироватками крові інфікованих корів, а також за алгоритмом радіоімунопреципітації, затримки синцитієутворепння, ELISA-методом, РНГА, РЗК, методом визначення циркулюючих імунних комплексів тощо. Діагноз на лейкоз вважається встановленим у разі наявності одного з таких показників: позитивний результат серологічного дослідження за РІД; типові патологоанатомічні ознаки хвороби; позитивний результат гістологічного дослідження патологічного матеріалу. Диференціальна діагностика. Передбачає необхідність виключення таких інфекційних хвороб як актиномікоз, туберкульоз, паратуберкульоз, бруцельоз, а також паразитарних (бабезіоз) і незаразних захворювань.

Актиномікоз супроводжується ураженням переважно лімфатичних вузлів голови і грудної порожнини, які мають щільну консистенцію, містять інкапсульовані абсцеси. Гістологічними дослідженнями виявляються друзи

грибка. При туберкульозі частіше інфікуються легені й кишки, виявляються туберкульозні вузлики, що мають характерну гістологічну будову.

Бактеріологічним дослідженням установлюють специфічний збудник. Слід мати на увазі можливість одночасного захворювання на туберкульоз і лейкоз. При паратуберкльозі спостерігаються ураження кишок та брижових лімфатичних вузлів. На відміну від лейкозу, паратуберкульоз часто супроводжується явищами лейко- та лімфопенії. Мікроскопією забарвлених мазків, зроблених зі стінок слизової оболонки кишок, та бактеріологічними дослідженнями виявляється паратуберкульозна паличка. Для перебігу бруцельозу характерні аборти, дослідження за РЗК і РА дають можливість надійно діагностувати це захворювання.

Різні незаразні хвороби диференціюються на підставі їх тимчасового характеру та помірної проліферації клітин ретикулогістіоцитарної системи. Бабезіоз диференціюється виявленням у мазках крові кровопаразитів. Гепатити різної етіології, за яких також змінюються показники крові, діагностуються на підставі результатів відповідних досліджень.

Лікування лейкозу великої рогатої худоби не розроблено.

1.3 Діагностика лейкозу за допомогою РІД

За визначенням нормативних актів МЕБ РІД (AGID) є специфічним та високочутливим методом виявлення антитіл у пробах сироваток крові при індивідуальному дослідженні тварин. Цей метод показав свою високу ефективність для впровадження систем оздоровчих протилейкозних заходів. За міжнародними стандартами РІД повинна виявляти антитіла проти ВЛ ВРХ в контрольній сироватці Е4 (референтна сироватка ,яка використовується МЕБ для оцінки чутливості тесту) при її розведенні 1:10. При постановці РІД лінія преципітації між лункою розведеної контрольної

сироватки і лункою з антигеном повинна бути чітко вираженою і розміщуватись посередині між ними. За стандартом антиген розміщують у центральних лунках, а контрольні досліджувані сироватки — в периферійних лунках. Реакція вважається позитивною ,якщо вона утворює лінію преципітації з антигеном ,аналогічну з лінією контрольної сироватки і не перехрещується з нею.

Досліджувана сироватка вважається негативною ,якщо вона не утворює специфічної лінії з антигеном або не відхиляє лінії позитивної контрольної сироватки в сторону досліджуваної проби .

Реакція вважається слабкопозитивною ,якщо досліджувана сироватка відхиляє лінію позитивної контрольної сироватки до лунки антигену ,не утворюючи лінії преципітації з антигеном.

При постановці реакції преципітації на виявлення специфічних антитіл проти ВЛ можуть з’являтись неспецифічні лінії. Вони не з’єднуються (розміщуються незалежно) або перетинаються лінією позитивно контрольною сироваткою.

Цей метод, поряд з методом ELISA (ІФА), рекомендований директивою Євросоюзу СЕЕ 64-432 та Міжнародним санітарним кодексом наземних тварин МЕБ ,як один з основних методів діагностики лейкозу ВРХ при міжнародній торгівлі.

Принцип методу.

В 1946 році Уден описав метод простої лінійної імунодифузії, а через рік Оухтерлоні в Швеції і в 1948 р. Елек в Англії описали подвійну радіальну імунодифузію в гелі. Основна функція гелю — локалізація преципітату. Вона стає можливою , якщо розчинені антиген (АГ) і антитіло (АТ) легко дифундують в гелі і при зустрічі утворюють імунні комплекси . За формою і розміщенням преципітатів можна судити про дифузійні властивості та відносну молекулярну масу АГ і АТ. Порядок розміщення ліній преципітації по відношенню однієї до другої дає змогу робити висновок про повну чи часткову імунохімічну схожість або відсутність

такої. Для всіх компонентів процесу імунодифузії до їх з'єднання діють закони вільної дифузії. Коефіцієнт дифузії залежить від температури , в'язкості середовища та діаметру молекули , що дифундує. При інших рівних умовах коефіцієнт дифузії являє собою постійну величину . Це означає, що для отримання порівняльних результатів при імунодифузії необхідно стандартизувати такі показники як: концентрація гелю ,температура, час дифузії ,концентрація антигену та антитіл.

Зустріч компонентів реакції (АГ та АТ) змінює або припиняє вільну дифузію ,що зумовлено утворенням стійких преципітатів .Найбільш виражені лінії преципітації зустрічаються в зоні еквівалентності. В даному випадку два найбільш важливих фактори утворення преципітату — коефіцієнт дифузії і відносні концетрації — приблизно рівні. Якщо один з компонентів реакції дифундує повільніше ,ніж інший , то комплекси АГ-АТ ,які виникли при першому контакті, повільно розчиняються внаслідок зміщення зони еквівалентності під впливом притоку більш повільно дифундуючого компонента -партнера. Тому знову утворений комплекс формується все ближче до резервуару швидше дифундуючого компонента. Таким чином , при незбалансованій системі , переміщення лінії преципітації є наслідком утворення преципітату, розпаду комплексів і повторного випадіння преципітату.

У зв'язку з цим існуючі набори РІД для діагностики лейкозу повинні бути відтитрованими (збалансованими). Від цього залежить специфічність прояву реакції імунодифузії між АГ і досліджуваною сироваткою. Факторами, які впливають на показники преципітації є час, pH, іонна сила середовища, товщина агару, вологість камери, де проходить дифузія.

Утворення первинних комплексів після контакту АГ і АТ проходить протягом декількох хвилин. Для повної преципітації необхідно 24-48 годин. При наявності "слабких" сироваток час повної преципітації збільшується до 72-96 годин. Подвійну радіальну імунодифузію проводять мікрометодом (на предметних скельцях) та макрометодом, який ставлять в чашках Петрі.

Теоретичні основи оцінки результатів РІД.

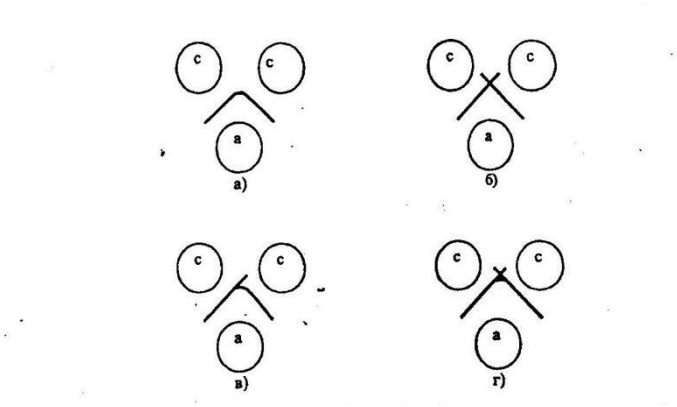
При двох і більше системах АГ-АТ існує ймовірність утворення декількох імунних комплексів внаслідок однакової швидкості дифузії. При цьому на одній і тій же ділянці гелю буде утворюватись одна візуально визначена лінія преципітації. Крім цього, концентрація АГ і АТ або їх співвідношення можуть призводити до відсутності преципітатів.

Розміщення преципітатів між лунками. При оптимальному співвідношенні між АГ і АТ після закінчення дифузії лінія преципітації розміщується посередині між лунками. Якщо один з компонентів реакції (АГ чи АТ) присутній в більшій концентрації, ніж другий, то лінія преципітації зсувається в бік лунки з меншим вмістом реагенту. Частина імунних агрегатів, особливо в зоні надлишку АТ, може залишитися на старому місці у вигляді вуалі і розширення ліній преципітації. При оцінці РІД можна спостерігати чотири варіанти розміщення ліній преципітації з антигеном та не ідентичними антитілами (рис. 1.2).

З метою оцінки специфічності антитіл в досліджуваних сироватках та недопущення вибраковки тварин за даними хибних оцінок РІД в системах серологічного тесту використовується специфічна позитивна сироватка, яку вносять в суміжно розміщені з досліджуваними сироватками лунки.

Технологія постановки РІД.

На сьогодні для серологічної діагностики лейкозу в РІД використовують діагностичні набори, виготовлені біофабриками чи науково-дослідними інститутами. Метод базується на виявленні специфічних антитіл переважно проти глікопротеїдного (gP51) антигену вірусної оболонки.



а) обидві лінії преципітації повністю зливаються і утворюють тупий кут. Це свідчить про ідентичність антитіл у обох сироватках;

б) лінії преципітації перетинаються — реагуючі сироватки містять не ідентичні антитіла, що означає неспецефічність ліній преципітації;

в) одна лінія довша і продовжується за іншою у вигляді так званої «шпори» — антитіла в обох сироватках мають загальні властивості, але не ідентичні;

г) обидві лінії преципітації перехрещуються і зливаються одночасно. Це означає, що обидві сироватки містять як однакові, так і різні антитіла (поліспецифічні сироватки).

Рисунок 1.2 – Варіанти розміщення ліній преципітації з антигеном та не ідентичними антитілами [5].

До складу наборів для діагностики лейкозу ВРХ в РІД незалежно від виробника обов’язково входять: специфічний антиген; позитивна контрольна сироватка; агар чи агаро-сольова суміш; настанова по використанню. Наприклад, до складу набору Р00410 для діагностики лейкозу ВРХ запропонованого інститутом Пурк’є (Франція), входять такі компоненти: ліофілізований антиген, позитивна ліофілізована сироватка, агар готовий до використання, настанова по застосування (власне фото).

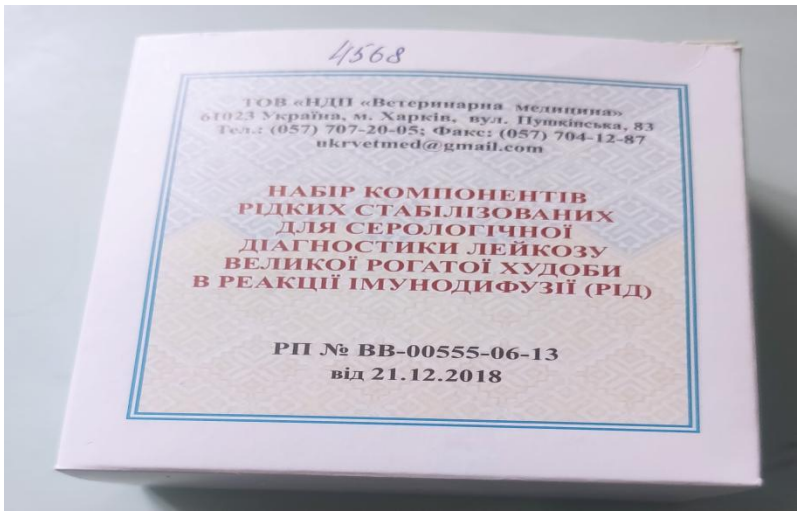


Рисунок 1.3 − Набір фабричний (власне фото).

Крім того до складу наборів можуть входити слабкопозитивна контрольна сироватка, негативна контрольна сироватка, позитивна контрольна сироватка з антитілами до внутрішнього (капсидного)р24-антигену.

Мінімум вимог (згідно з рекомендаціями МЕБ та Міжнародним санітарним кодексом наземних тварин) для систем РІД полягає в їх здатності виявляти специфічні антитіла проти ВЛ ВРХ в розведеній 1:10 референтній сироватці Е4, яка використовується МЕБ для оцінки чутливості тесту.

Компоненти реакції та їх підготовка:

а) гель агару — 08-1% розчин агару в 0,2М Трис-буфері;

б) антиген- специфічний глікопротеїн gP51 ВЛ отриманий на культурі клітин нирки ембріона вівці;

в) позитивна контрольна сироватка-сироватка крові ВРХ чи овець, експериментально чи спонтанно заражених ВЛ;

г) негативна контрольна сироватка-сироватка крові ВРХ чи овець вільної від ВЛ ВРХ;

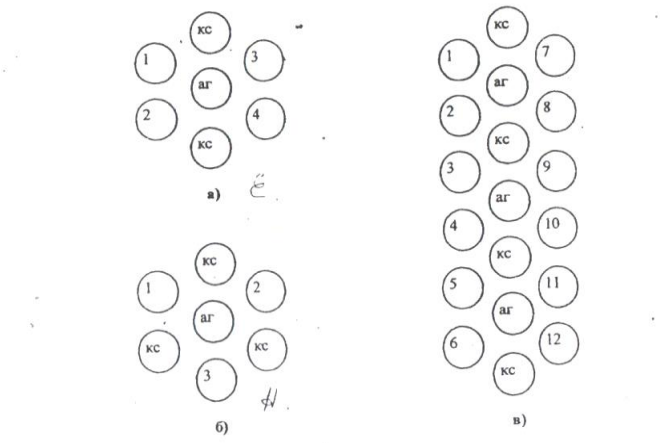
Компоненти реакції готують у відповідності до настанови по застосуванню діагностичного набору.

Агаро-сольову суміш відважують у потрібній кількості, переносять до вимірювальної колби, доливають дистильованої води до кількості, перемішують до отримання однорідної суспензії. Колбу з суспензією вміщують у киплячу водяну баню , перемішуючі витримують 50-60 хвилин до утворення прозорого однорідного агару-гелю.

Чашки Петрі розміщують на строго горизонтальній поверхні. Розплавлений агар-гель розливають у чашки Петрі по 15 мл за допомогою вимірювальної піпетки. Після витримування чашок Петрі при кімнатній температурі 15-20 хвилин. В застиглому агарі круглим чи прямокутним штампом нарізають лунки діаметром 6,5 -7 мм на відстані 3 мм одна від одної. Пробки гелю після нарізання лунок обережно видаляють за допомогою вакуумного чи водоструменевого насосів, слідкуючі, щоб агар не відшаровувався від дна чашки чи предметного скельця.

Антиген, контрольні та дослідні сироватки вносять в лунки за допомогою пастерівських піпеток окремих для кожного компонента або автоматичними піпетками-дозаторами із змінними наконечниками

Після заповнення лунок комплнентами реакції чашки Петрі розміщують у вологій камері термостата на 48-72 години при температурі 23-27°С (рис. 1.4).



(ar – антиген; кс — позитивна контрольна сироватка; 1-12 — дослідні сироватки)

Рисунок 1.4 − Схема заповнення лунок компонентами реакції [8].

Облік реакції проводять через 48-72 години (рисунок 1.5). Чашки проглядають на темному фоні в косо направлених променях світла. З цією метою використовують освітлювач ОИ-19. Реакцію враховують за контрольною лінією преципітації, але якщо вона відсутня або слабко виражена, то дослідження необхідно повторити. Контрольні лінії преципітації повинні бути чітко вираженими, розміщеними посередині між лунками з антигеном та позитивною контрольною сироваткою.

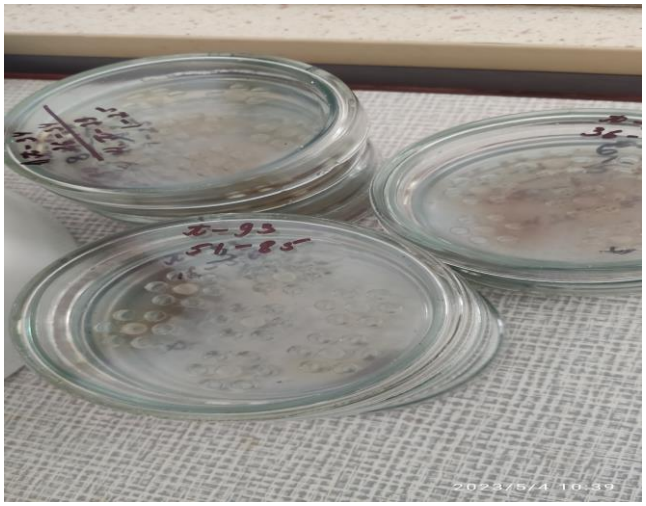


Рисунок 1.5 − Чашка Петрі досліджуваної проби (власне фото).

Суттєвий зсув контрольних ліній при правильному заповненні лунок є наслідком зниження активності діагностікумів. Дослідження повторюють, якщо контролі (позитивний, негативний, слабопозитивний) не дають очикуваних результатів, чи утворюється інтенсивний ореол навколо лунок, що утруднює облік реакції.

Оцінка результатів реакції.

Негативна реакція-утворюються контрольні лінії преципітації між лунками з антигеном і позитивною контрольною сироваткою, які продовжуються в бік лунки з дослідною сироваткою без згинів або з незначним згином у бік контрольної позитивної сироватки (рис. 1.4 а лунка 3, рис. 1.4 б 5, 6, 7, рис. 1.4 в лунки 2, 4, 5, 7, 9, 11).

Позитивна реакція :

а) між лунками з дослідною сироваткою і антигеном утворюється лінія преципітації, яка з’єднується з контрольною лінією під тупим кутом (рис. 1.4 А і 3б , лунка 1; рис. 1.4 Лунки 1,3,8,12), інколи утворюється подвійна лінія (рис. 3 лунка3)

б) лінія преципітації відсутня ,але контрольні лінії утворюють поблизу з дослідною дослідною сироваткою згин ,направлений в бік антигену — слабкопозитивна сироватка (рис. 1.4 А, лунка 2; рис. 1.4 Б лунка 4)

в) контрольні лінії вкорочуються з боку лунки з дослідною сироваткою , в окремих випадках контрольні лінії повністю розчиняються, що свідчить про високий титр антитіл (рис. 1.4 А, лунка 6; рис. 1.4 Б, лунка 8). При повторному дослідженні в розведенні 1:4 або 1:8 такі проби дають більш чіткі лінії преципітації.

Сумнівна реакція — слабкий згин контрольної лінії погано проглядається ; утворюються інтенсивні не спецефічні лінії або зона опалесценції навколо лунок ,внаслідок чого утруднюється облік реакції.

Неспецифічна реакція — між лунками з дослідною сироваткою та антигеном утворюється лінія преципітації , яка не зливається з контрольною, а перетинає чи впирається в неї (рис. 1.4 А лунки 4, 5; рис. 1.4 Б лунка 5; рис. 1.4 В лунки 6, 10). В одній і тій же пробі можуть бути специфічні та неспецифічні антитіла. Тварини, в пробах яких виявили неспецифічну реакцію , досліджуються повторно через 14 днів. У разі повторного прояву неспецифічної реакції таку пробу вважають позитивною (рис. 1.6).

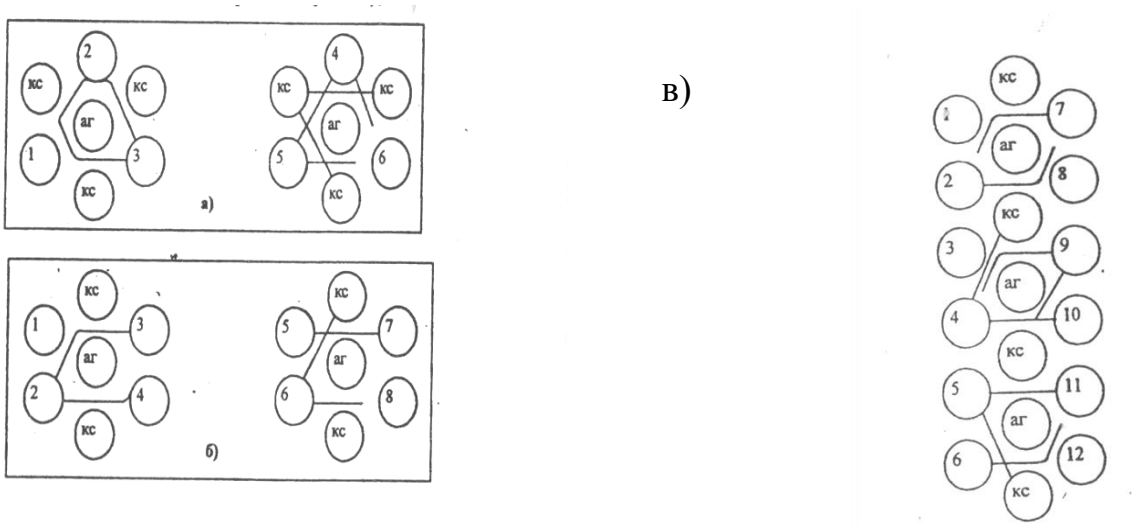


Рисунок 1.6 − Результати РІД [14].

Модифікація РІД в напрямку підвищення її чутливості.

Для підвищення чутливості методу використовують концентрування дослідних сироваток, більш товсті шари агару та лунки більшого діаметру. Слабкі преципітати стають більш видимими після обробки 0,2- 4 % розчином таніну(рН 1,5) . Обробка дослідних сироваток детергентами (2-меркаптоетанолом) або внесення неіонних полімерів в лунки з антигеном також підвищують чутливість реакції. Забарвлення амідошварцом, солями кадмію в малих дозах (0,65% розчин сульфату кадмію) підсилюють контрастність ліній преципітації. Чутливість реакції підвищується при додаванні в агар метріоляту в концентрації 1: 10 000. науковцями національного аграрного університету розроблено додатковий компонент для РІД, який дозволяє збільшити діагностичну чутливість реакції в 1,5-1,7 рази.

Використання РІД.

Реакція імунодифузії в гелі — найпростіший, найекономічніший і технологічно виважений для масових досліджень метод. В світовій ветеринарній практиці він прийнятий основним діагностичним тестом, який регламентован міжнародним і внутрішнім торгівлю тваринами, а також проведення профілактичних і оздоровчих протилейкозних заходів в усіх

країнах, де здійснюється державні програми ліквідації лейкозу великої рогатої худоби:

1) знання епізоотичної ситуації;

2) системність діагностичних досліджень;

3) своєчасність ізоляції і забою інфікованих тварин.

Безсистемність діагностичних досліджень тварин і несвоєчасність вилучення із стад джерел збудника вірусу лейкозу сприяє підвищенню напруженості епізоотичної ситуації.

Тварин, сироватки крові яких дали позитивний результат у РІД, визнають зараженими вірусом лейкозу.

2.3 Серологічні дослідження молока, молозива і секрету вимені корів

Проводять за методом РІД та І ФА ставиться згідно інструкції. Виявлення в молоці, молозиві та секреті вимені сухостійних корів антитіл до вірусу лейкозу великої рогатої худоби дозволяє зробити висновок про інфікованість тварин цим вірусом.

Загальні положення. Ветеринарно санітарне оцінювання молока від інфекційно хворих корів проводять відповідно до «Правил ветеринарно-санітарної експертизи молока і молочних продуктів та вимог щодо їх реалізації», затверджених наказом Державного департаменту ветеринарної медицини Міністерства аграрної політики України від 20.04.2004 р. № 49; у Міністерстві юстиції України 7.05.2004 р. за № 579/9178.

Забороняється реалізація молока та молочних продуктів із ферм (господарств) – суб’єктів господарювання будь-якої форми власності та від тварин особистих підсобних господарств населення за наявності таких хвороб:За лейкозу в молоці знижується масова частка **β**-лактоглобуліну на 13 %, збільшується масова частка **γ**-глобулінів вдвічі.

Згідно з Інструкцією з профілактики та оздоровлення великої рогатої худоби від лейкозу, затвердженої наказом Державного комітету ветеринарної медицини України від 21.12.2007 № 21, зареєстрованої в Міністерстві юстиції України 11.01.2008 р. за № 12/14703, у неблагополучному стаді, фермі, присадибному господарстві щодо лейкозу, заборонено:

1) використовувати молоко без попереднього знезараження для громадського харчування і згодовування тваринам, реалізовувати його переробним підприємствам та на агропромислових ринках;

2) молоко корів неблагополучних на лейкоз присадибних господарств громадян слід використовувати лише після знезараження в межах цього господарства;

3) доїти одними доїльними апаратами корів, заражених та вільних від лейкозу великої рогатої худоби;

4) використовувати молозиво корів, хворих на лейкоз, для напування телят, отриманих від здорових корів.

Молоко від серопозитивних тварин, яких утримують ізольовано від серонегативного стада, пастеризують у господарстві за температури не нижче 80 °С (лише за такого режиму можна контролювати якість пастеризації за допомогою реакції на пероксидазу), після чого його можна використовувати для згодовування телятам або здавати на молокозавод. Молоко від корів серонегативного стада можна реалізовувати переробним підприємствам без попередньої пастеризації.

У разі, коли серопозитивні на лейкоз тварини не відділені від загального стада, молоко від усього поголів’я ферми підлягає пастеризації в зазначених режимах.

В окремих випадках допускається, з письмового дозволу головного державного інспектора ветеринарної медицини областей, міста Київ, районів, міст, тимчасове вивезення сирого молока окремим транспортом на молокозавод для технологічної пастеризації і подальшої переробки за

наявності на молокопереробному підприємстві окремої лінії для приймання такого молока.

Молоко від серопозитивних тварин, яких утримують ізольовано від серонегативного стада, може піддаватися сепарації в господарстві. На молокопереробне підприємство вивозять лише пастеризовані вершки, а відвійки кип'ятять і згодовують тваринам.

Молоко від корів з клініко-гематологічними ознаками лейкозу забороняється використовувати з харчовою метою та згодовувати тваринам. Таке молоко знешкоджують додаванням до нього формальдегіду з масовою часткою 5 % або іншої дезінфікувальної речовини.

У неблагополучних щодо лейкозу господарствах телят до 7-добового віку випоюють материнським молозивом (молоком), а надалі – пастеризованим молоком оздоровленого стада або серонегативних корів неблагополучного стада.

Усі випадки виявлення лейкозу, а також пухлин різного походження під час здійснення ветеринарно-санітарної експертизи реєструють у відповідних журналах та подають у звітах (форми № 5-вет, 6-вет, які затверджені наказом Мінагрополітики України від 30.12.2005 № 775 «Про затвердження форм звітності з питань ветеринарної медицини»).

Господарство, ферму, стадо вважають оздоровленими після вивезення усіх хворих тварин та отримання двох негативних результатів поспіль (з інтервалом 30−45 діб) серологічного дослідження худоби старше 6-міс. віку.

У перший рік після оздоровлення, серологічні дослідження проводять щоквартально. Молоко є сприятливим середовищем для мікроорганізмів, котрі можуть в ньому активно розмножуватися, у зв'язку з чим молоко та молочні продукти можуть бути причиною захворювань, що передаються через нього у разі недотримання санітарних норм. Молоко відноситься до продуктів, що швидко псуються. Тому отримання високоякісного молока та молочних продуктах базується на рекомендованих гігієнічних заходах, а

також контролі санітарії на всіх етапах – від видоювання корів до переробки та реалізації молока та молочної продукції.

Розрізняють обсіменіння молока патогенними мікроорганізмами, які потрапляють від хворих корів та обслуговуючого персоналу, або, досить рідко, з оточуючого середовища, та забруднення мікробами-сапрофітами або непатогенними бактеріями.

Непатогенні мікроорганізми, потрапляючи в молоко, спричиняють погіршення його як сировини для переробної промисловості – підвищення кислотності, згортання білка тощо. Патогенні мікроорганізми у молоці призводять до захворювання людини, яка споживає цей продукт.

Молоко може бути джерелом як інфекційних захворювань, так і харчових отруєнь. Патогенна мікрофлора може потрапити до молока як від хворих тварин під час видоювання, так і від бактеріоносія, яким може бути і тварина, і обслуговуючий персонал на фермі, або працівники переробних підприємств. Загалом пастеризація молока – це технологічна операція, завданням якої є, в першу чергу, інактивація патогенної мікрофлори. Режими пастеризації забезпечують ефект до 99,98 %. Тобто, незначна кількість мікроорганізмів, так звана «залишкова мікрофлора», є в молоці після пастеризації, але якщо серед цих бактерій будуть патогенні, такий продукт може бути небезпечним для здоров’я людини.

Молоко є поживним середовищем для багатьох мікроорганізмів, зокрема патогенних, що потрапляють до нього під час доїння, зберігання чи переробки від працівників або інфікованих предметів, що контактують з молоком. Так часто поширюються збудники черевного тифу, дизентерії, ангіни, скарлатини, бактерії роду *Salmonella, Proteus*, ентеропатогенні серовар *Escherichia coli, B. Cereus, Cl.perfringens, Str.faecalis*, бактерії родів *Citrobacter, Klebsiella, Jersinia, Pseudomonas, Campylobacter* та ін.

Харчові отруєння можуть бути мікробного та немікробного походження. Харчові отруєння мікробного походження, в свою чергу, поділяють на токсикоінфекції та токсикози. Більшість збудників цих хвороб

тривалий час зберігають свою життєдіяльність не лише у молоці, а й молочних продуктах.

За даними В. Н. Смирновой (1999) і А. И. Кузина, Е. Н. Закрепиной (1997), молоко хворих лейкозом корів за фізико-хімічними показниками має більш низьку якість порівняно з молоком клінічно здорових тварин. Зниження білка і казеїну відмічали на 17,5–18,2 % ($P<0,025$), жиру, сухої речовини, молочного цукру, сухого знежиреного молочного залишку і золи – на 6,6–13,6%.

Молоко корів, хворих на лейкоз, зазнає значної бактеріальної забрудненості (в 4,7 рази вище за показники контролю – $P<0,001$). Воно також контамінується мікрофлорою із групи харчових токсикоінфекцій (у 33% випадків). Часто містить бактерії групи кишкової палички у титрах, які перевищують гранично допустимі рівні. Стафілококова мікрофлора молока таких корів в 18% випадків мала слабопатогенні властивості. Зміни у амінокислотному складі молока лейкозних корів характеризувались зниженням їх загальної сумарної величини за рахунок збільшення замінних (на 2%) і зменшення незамінних амінокислот (на 6% – $P< 0,001$).

Антибактеріальні властивості молока у лейкозних корів порівняно з клінічно здоровими тваринами значно знижені. Вміст лізоциму в молоці зменшився на 30% відносно контролю. Кисломолочні продукти і масло, які виготовлені з молока лейкозних корів, мають більш низькі якісні параметри порівняно з продуктами, які виготовили з молока клінічно здорових тварин як за органолептичними показниками, так і за хімічним складом: підвищення вологості і білка молочнокислих продуктів на 11–12%, кислотності – на 22–33% ($P<0,01$), жирність масла знизилась на 12, а вологість збільшилась на 50%. При вивченні амінокислотного складу молока та м’яса хворих на лейкоз тварин, виявлено накопичення великої кількості вільного триптофану та його метаболітів, які володіють канцерогенними властивостями, а рівень треоніну в молоці знижувався на 17%. Змінюється не лише амінокислотний, але й мінеральний склад молока, збільшується кількість хлору, калію, магнію, заліза, кобальту, брому, свинцю, цирконію, селену, миш’яку, сірки, кадмію.

2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Об’єкти і матеріали дослідження

Відбір, доставка проб крові, молока, молозива, патологічного матеріалу в лабораторію, їх дослідження проводять відповідно до діючих нормативно-правових документів.(ДСТУ 8671:2016 Методи лабороторної діагностики лейкозу великої рогатої худоби п.5.2.1.2.) Об’єктами дослідження були господарства Запорізького району: БАЛТХІМТРЕЙД, Лісогірський, Сінергія Органік, АФ Ніва, ФГ Марія, яке проводиться один раз на рік. Також використовувались звіти лабораторних досліджень.

Основними методами прижиттєвої діагностики є:

1) серологічний — реакція імунодіфузії (РІД) та імуноферментний аналіз (ІФА);

2) гематологічний — підрахунок кількості, а при необхідності і якості лейкоцитів;

3) молекулярно-генетичний — полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР).

До прижиттєвих методів відносяться також епізоотологічний, на основі якого можна вивчати епізоотичну ситуацію щодо лейкозу, прогнозувати можливе виникнення захворювання після завозу тварин з неблагополучних або недосліджених регіонів, аналізувати хід і ефективність протилейкозних заходів.

Клінічний метод діагностики можна допускати лише в умовах експерименту, тому для практичної ветеринарної медицини не повинен мати діагностичного значення .

РІД проводиться з використанням компонентів «Набір для діагностики лейкозу великої рогатої худоби методом РІД», виробництва Інституту епізоотології НААН у стандартній постановці. Читку результатів реакції проводили через 48 годин. При постановці РІД використовували різні

штампи (круглі, квадратні), а також штампи різних розмірів між лунками (2, 4, 5 мм) і самих лунок (3, 4, 7 мм), реакцію ставили в чашках Петрі і на предметних скельцях.

При постановці ІФА використовували іменоферментну тест-ситему для детекції анти-gp51 антитіл в сироватках крові. Діагностичні дослідження виконували згідно з інструкцією. Дослідження методом ПЛР проводили тест-системою BLV-test для виявлення ДНК BLV виробництва ГНКІБШМ. В основі методу знаходиться виділення ДНК BLV при використанні специфічних олігонуклеотидних праймерів і синтезу комплементарних ланцюгів ДНК з допомогою ферменту Taq-полімерази.

2.2 Імуноферментний аналіз (ІФА)

Суть методу імуноферментного аналізу полягає в імунохімічній реакції взаємодії антиген-антитіло і використанні як індикатору цієї реакції маркованих ферментами антитіл або антигенів.

Для серологічної діагностики ЛВРХ використовують дві модифікації імуноферментного аналізу : непрямий і конкурентний .

Метод непрямого імуноферментного аналізу базується на зв'язуванні специфічних до вірусу лейкозу антитіл з антигеном ВЛВРХ, адсорбованим на стінках лунок планшета для мікротитрування.

Антитіла, що зв’язалися, виявляють за допомогою видоспецифічних антитіл, мічених ферментом(пероксидазою) ,з подальшим ферментативним перетворенням безбарвного субстрату пероксидазою в забарвлений продукт. Інтенсивність забарвлення прямо пропорційна вмісту антитіл до ВЛВРХ у сироватці крові [25].

В основі конкурентного імуноферментного аналізу лежить здатність антитіл до ВЛВРХ, що містяться у випробуваній сироватці, блокувати

зв'язування антигену ВЛВРХ з антитілами до ВЛВРХ, імобілізованими(адсорбованими) на стінках лунок планшетів для мікротитрування. Антиген ВЛВРХ, що зв’язався з імобілізованими антитілами, виявляють за допомогою антитіл до ВЛВРХ, що мічені пероксидазою (кон’югатом антитіл з пероксидазою) і подальшого ферментативного перетворення безбарвного субстрата пероксидази на забарвлений продукт. У тому випадку, якщо випробуваний матеріал не містив антитіл до ВЛВРХ, інтенсивність фарбування максимальна. Антитіла до ВЛВРХ у випробуваному матеріалі знижують інтенсивність фарбування прямо пропорційно їх вмісту.

Дослідження проводять строго відповідно до листка-вкладки щодо застосування стандартних комерційних тест-наборів для ІФА.





Рисунок 2.1 − Фабричний набір тесту ІФА (власне фото).

Облік результатів непрямого імуноферментного аналізу для виявлення антитіл до ВЛВРХ. Можливе візуальне й інструментальне оцінювання результатів.

За візуального оцінювання результатів потрібно звернути увагу на колір забарвлення. Він залежить від того, яка речовина є хромогеном у цьому діагностичному наборі. Наприклад, якщо до складу субстратної суміші входить 5-аміносаліцилова кислота, забарвлення повинно бути

фіолетово-коричневим, якщо орто-фенілендіамін — оранжево-червоним. Поява фарбування, не властивого цій речовині, зазвичай свідчить про неналежну якість води, вживаної для розчинення компонентів реакції, і негативно позначається на чутливості й специфічності реакції. Інтенсивність фарбування однієї і тієї самої проби в обох лунках має бути однакова. Допустимо незначне фонове фарбування негативної проби. Інтенсивність фарбування негативного контролю має трохи перевищувати інтенсивність фарбування негативної проби.

Інтенсивність фарбування слабо позитивного контролю має бути істотно вища, ніж у негативному контролі. Позитивний контроль повинен бути забарвлений найінтенсивніше. Випробувану пробу вважають позитивною, якщо інтенсивність її фарбування більша або дорівнює інтенсивності фарбування слабо позитивного контролю. Якщо інтенсивність фарбування для двох паралельних досліджень однієї проби розрізняється настільки, що утруднює встановлення діагнозу, то цю пробу досліджують повторно.

За інструментального оцінювання результатів реакції після візуального оцінювання кольору і правильності реагування контрольних зразків оптичну щільність продуктів реакції вимірюють на фотометрі за довжиною хвилі, що вказана в настанові щодо застосування цього діагностичного набору. Результати оцінюють за відносної величини (ВВ), яку обчислюють за формулою, вказаною в настанові щодо застосування тест-набору.

Інтерпретація отриманих результатів. Позитивним вважають випробовуваний матеріал, відносна величина якого більше або дорівнює 2,0. Негативним вважають випробуваний матеріал, відносна величина якого не перевищує 1,49. Випробовуваний матеріал з відносною величиною від 1,5 до 1,9 включно вважають сумнівним. Повторне дослідження крові або проби молока від цієї тварини проводять через три місяці.

Облік результатів конкурентного імуноферментного аналізу для виявлення антитіл до ВЛВРХ. Позитивною вважають випробовувану пробу, якщо інтенсивність її фарбування не перевищує інтенсивність фарбування слабо позитивного контролю.

Інструментальне оцінювання результатів аналізу проводять після попереднього візуального оцінювання кольору продуктів ферментативної реакції і правильності реагування контрольних проб.

Вимірюють оптичну цільність продуктів реакції на фотометрі за довжиною хвилі, вказаній у настанові щодо застосування цього діагностичного набору. Результат оцінюють за величиною відсотка конкуренції, яку обчислюють за формулою, вказаною в настанові щодо застосування тест-набору. Результат вважають позитивним, якщо К (конкуренція випробувального матеріалу) не менше ніж 50%.

Експериментальні дані обраховували методами параметричної статистики через визначення їх середнього показника та його похибки; достовірність відмінностей між показниками визначали через обрахування коефіцієнту Ст’юдента.

3 ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

Основними заходами ефективного забезпечення благополуччя тваринництва щодо лейкозу є своєчасна діагностика хвороби. Ситуація щодо лейкозу в Запорізькому районі дослідження на лейкоз у благополучних господарствах та приватному секторі проводяться один раз на рік. На даний час у державі створено необхідні умови для їх виконання: область повністю забезпечена лейкозним антигеном. Дослідження проводились на базі «Запорізької Державної лабораторії державної служби України з питань безпечності харчових продуктів та захисту споживачів».

Для вивчення епізоотологічної ефективності прижиттєвої діагностики проведенні результати серологічних досліджень за ІФА груп тварин, різного віку і статі в господарствах Запорізького району.

Таблиця 3.1 − Результати виявлення лейкозу у сироватці периферичної крові великої рогатої худоби за результатами імуноферментного аналізу (800 зразків крові, 2020 р.)

Господарства	Досліджено зразків	Виявлено позитивних	% позитивних зразків
БАЛТХІМТРЕЙД	62	9	14,52±0,02
Лисогірський	46	0	0
Росія	448	17	3,79±0,01
АФ Ніва	200	0	0
ФГ Марія	44	0	0
Всього по господарствах	800	26	3,25±0,01

Таблиця 3.2 − Результати виявлення лейкозу у сироватці периферичної крові великої рогатої худоби за результатами імуноферментного аналізу (800 зразків, 2021 р.)

Господарства	Досліджено зразків	Виявлено позитивних	% позитивних зразків
БАЛТХІМТРЕЙД	113	13	11,50±0,02
Лисогірський	36	0	0
Росія	297	6	2,02±0,01
АФ Ніва	300	0	0
ФГ Марія	54	0	0
Всього по господарствах	800	19	2,38±0,01

Таблиця 3.3 − Результати виявлення лейкозу у сироватці периферичної крові великої рогатої худоби за результатами імуноферментного аналізу (800 зразків, 2022 р.)

Господарства	Досліджено зразків	Виявлено позитивних	% позитивних зразків
БАЛТХІМТРЕЙД	132	0	0
Лисогірський	33	0	0
Сінергія органік	218	17	7,80±0,02
АФ Ніва	347	0	0
ФГ Марія	70	0	0
Всього по господарствах	800	17	2,13±0,01

Таблиця 3.4 − Результати виявлення лейкозу у сироватці периферичної крові великої рогатої худоби за результатами імуноферментного аналізу (800 зразків, 2023 р.)

Господарства	Досліджено зразків	Виявлено позитивних	% позитивних зразків
БАЛТХІМТРЕЙД	40	0	0
Лисогірський	35	0	0
Сінергія органік	275	3	1,09±0,01
АФ Ніва	450	0	0
ФГ Марія	0	0	0
Всього по господарствах	800	3	0,38±0,01

Завдяки проведенню лікарями ветеринарної медицини Запорізького району планових досліджень великої рогатої худоби та інформаційно-роз’яснювальної роботи з її власниками щодо дій у разі виявлення хворої тварини та подальшого поводження з нею, на сьогодні у переважній більшості населених пунктів району таке захворювання, як лейкоз ВРХ не реєструється. Хід оздоровчих і профілактичних заходів постійно знаходиться в центрі уваги Держветслужби, однак проблема зараженості господарств вірусом існує і на сьогодні.

Проте знати, у чому полягає небезпека даної хвороби та які профілактичні засоби її запобігання існують, необхідно. Згідно результатам дослідження видна динаміка зниження росту захворюваності ($p \leq 0,05$, таблиця 3.5).

Таблиця 3.5 − Частота виявлення лейкозу у сироватці периферичної крові великої рогатої худоби за результатами імуноферментного аналізу (%)

Господарства	2020 р.	2021 р.	2022 р.	2023 р.	Середнє (2020-2023 р.р.)
БАЛТХІМТРЕЙД	14,52±0,02	11,50±0,02 *	0	0	6,51±0,01
Лисогірський	0	0	0	0	0
Сінергія органік	3,79±0,01	2,02±0,01	7,80±0,01 *	1,09±0,01 *	3,68±0,01 **
АФ Ніва	0	0	0	0	0
ФГ Марія	0	0	0	0	0
Середнє (всього по господарствах, на 800 зразків)	3,25±0,01	2,38±0,01	2,13±0,01	0,38±0,01	2,04±0,01 **

Примітки:

* – показник статистично значимо відрізняється від даних попереднього року;

** – показник статистично значимо відрізняється від даних БАЛТХІМТРЕЙД.

Інструкція з профілактики лейкозу є обов’язковою для виконання у всіх господарствах незалежно від форми власності і відомчого підпорядкування, фізичними особами – суб’єктами підприємницької діяльності, діяльність яких здійснюється у галузі тваринництва. ВЛВРХ розмножується в культурах клітин ВРХ, овець, мавп та інших тварин, а також у культурах клітин людини. Паразитує в лімфоцитах і взаємодіє з клітиною на рівні її генетичного апарату - ДНК. Вірус нестійкий у

зовнішньому середовищі, гине при температурі 80 град.С протягом 1 хвилини. В інфікованих ВЛВРХ тварин особливо в клінічній стадії змінюються обмінні, біохімічні процеси і, як наслідок, відбуваються зміни якісних характеристик молока і м'яса та накопичення в них шкідливих для організму тварин і людей продуктів обміну, зокрема метаболітів триптофану, які мають канцерогенну дію.

Джерелом збудника є заражені вірусом лейкозу тварини на всіх стадіях інфекційного процесу. Вірус виділяється з організму заражених тварин з кров'ю, молоком, слиною, іншими секретами й екскретами, що містять лімфоцити, які є активними факторами його передачі. Шляхи зараження тварин: парентеральний, ентеральний.

Збудник лейкозу передається горизонтальним шляхом - при порушенні правил асептики та антисептики під час нумерації тварин, ветеринарних маніпуляціях, осіменінні спермою, яка містить клітини крові, контактним шляхом, доїнні інфікованих та здорових тварин одним доїльним апаратом тощо. Не виключена можливість перезараження тварин певними кровососними комахами та вертикальним шляхом (внутріутробно).

Основна причина зараження при лейкозі ВРХ – зневажливе ставлення до поголів'я, відсутність знезараження приміщень, ігнорування заходів профілактики. Антисанітарія в корівнику. При безпосередньому контакті між тваринами через біологічні рідини – кров, молоко, сперму. Телята вже народжуються зараженими або набувають захворювання через материнське молоко. У стаді можуть заражатися навіть при відсутності бика-запліднювач. Тварини встрибують один на одного, пошкоджуючи шкірні покриви. Якщо одна тварина заражене, то може передати вірус через пошкодження. Через укуси комах. Небезпечні будь-які, що харчуються кров'ю методів боротьби не знайдено. Через нестерильні ветеринарні інструменти при масових оглядах, вакцинації. Симптоми хвороби проявляються не відразу. За цей час велика частина стада може виявитися інфікованою [12].

Основними заходами ефективного забезпечення благополуччя тваринництва щодо лейкозу є:

- своєчасна діагностика хвороби;
- чітке знання епізоотичної ситуації в кожному стаді;
- негайне виведення зі стад (ферм) інфікованих вірусом лейкозу
- тварин та їх ізоляція з наступним забоєм;
- проведення чіткого обліку, нумерації та ідентифікації тварин;
- дотримання ветеринарно-санітарних правил на фермах;
- дотримання асептики і антисептики при масових обробках тварин (нумерація, взяття крові, вакцинація, алергічні дослідження, лікування тощо);
- проведення ретельної дезінфекції тваринницьких приміщень та обладнання після кожного дослідження тварин і ізоляції вірусоносіїв.

Господарство, ферму, стадо, присадибне господарство, у яких лейкоз установлено методами, перерахованими вище, оголошують неблагополучними щодо лейкозу і встановлюють карантинні обмеження.

У неблагополучному господарстві розробляється план організаційно-господарських, ветеринарно-санітарних і спеціальних заходів з ліквідації лейкозу, у якому вказують терміни оздоровлення, призначають відповідальних осіб, який затверджується головним державним інспектором ветеринарної медицини району (міста), та додається до рішення державної надзвичайної протиепізоотичної комісії при райдержадміністрації чи міській раді щодо введення карантинних обмежень.

У разі встановлення в окремих тварин тільки клініко гематологічних, патолого-анатомічних або гістологічних змін, характерних для хвороби, проводять двократне серологічне дослідження тварин стада старше шестимісячного віку з інтервалом 30-45 днів. Якщо при цьому не виявлені антитіла до вірусу лейкозу, господарство вважається благополучним.

Виявлених при дослідженні хворих тварин таврують літерою «Л» на лівому масетері або мітять іншим способом, ізолюють в окремі приміщення.

У неблагополучному щодо лейкозу стаді, фермі, присадибному господарстві забороняється:

1) використовувати молоко без попереднього знезараження для громадського харчування і згодовування тваринам, реалізовувати його переробним підприємствам та на ринках;

2) молоко корів неблагополучних на лейкоз присадибних господарств громадян використовується лише після знезараження в межах цього господарства;

3) випасати хворих на лейкоз тварин разом із здоровими в загальних стадах;

4) реалізовувати тварин з племінною та користувальною метою;

5) проводити повторні дослідження хворих тварин;

6) використовувати бугаїв-плідників для парування корів і телиць;

7) використовувати сперму інфікованих ВЛВРХ бугаїв-плідників (запаси сперми, отримані від таких бугаїв за 6 місяців до встановлення діагнозу на лейкоз, підлягають знищенню);

8) перегруповувати тварин без відома спеціалістів державних установ ветеринарної медицини;

9) заготовляти кров і молозиво для виготовлення ветеринарних і медичних лікувально-профілактичних препаратів, проводити гемотерапію;

10) вивозити велику рогату худобу з гематологічними та клінічними ознаками лейкозу за межі господарства для відтворення чи відгодівлі;

11) використовувати нестерильні інструменти, прилади, апарати при проведенні лікувально-профілактичних, зоотехнічних і технологічних заходів;

12) доїти одними доїльними апаратами корів, заражених та вільних від ВЛВРХ;

13) використовувати одне родильне приміщення для хворих на лейкоз та здорових корів;

14) використовувати молозиво хворих на лейкоз корів для напування телят, отриманих від здорових корів;

15) використовувати хворих на лейкоз телиць для відтворення стада.

Оздоровлення неблагополучних щодо лейкозу стад (ферм) проводять:

Шляхом одночасної повної заміни неблагополучного стада, при його інфікуванні більше 30 відсотків, тваринами з благополучних щодо лейкозу господарств. Шляхом проведення систематичних досліджень з виділенням із стада хворих тварин. Серопозитивних тварин досліджують клініко-гематологічно протягом 15 днів після розділення стада, а надалі один раз на рік. Тварин з гематологічними або клініко-гематологічними ознаками лейкозу не пізніше ніж через 15 днів після їх виявлення здають на забій.

4 ОХОРОНА ПРАЦІ

Експериментальна робота проводилась в лабораторії з чітким дотриманням всіх вимог з охороні праці.

Оптимальні умови роботи створювалися завдяки підтримці санітарно-гігієнічного режиму в лабораторії. Так, параметри температури, вологості, освітленості, швидкості переміщення повітря майже протягом усього експерименту, відповідали вимогам ДСТу 12.1.005-88.

Лабораторія обладнана системою природної і приточної вентиляції. Приточні системи забезпечують поновлення повітря, що видаляється системою вентиляції, місцеві системи забезпечують технологічні потреби. Попередження застою повітря досягалося шляхом відчиняння вікон лабораторії ще до початку експерименту.

Для дезінфекції приміщень використовувались бактерицидні лампи. Лампи встановлені на висоті 1,5 – 2 м від підлоги з розрахунку одна лампа на 1м^2 приміщення. Стерилізацію здійснюють протягом 2 годин.

Загальні правила роботи з реактивами відповідали ДСТу.

Протягом усього експерименту я працювала у халаті, гумових рукавичках, захисних окулярах та у масці, щоб уникнути потрапляння на шкіру та слизові оболонки крові або реактивів.

Всі працівники лабораторії мають знати безпечні прийоми роботи з кров’ю на своєму робочому місці і обов’язково виконувати, відносячись до крові як до потенційно зараженої.

При роботі з кров’ю, можливе її потрапляння на шкіру, одяг, слизові оболонки. Перед тим як приступити до роботи, необхідно всі пошкодження шкіри на руках закрити лейкопластирем або напальчником. У разі попадання під час роботи біоматеріалу на одяг: одяг зняти і замочити в одному з дезрозчинів (0,5 % дезактин, 0,5 % сульфохлорантин, 3 %

хлорамін, 6 % розчин перекису водню); шкіру рук та інших ділянок тіла при їх забрудненні через одяг протерти 70 % спиртом, а потім промити водою з милом і повторно протерти спиртом; забруднене взуття дворазово протерти ганчіркою, змоченою у розчині одного з дозволених для використання дезінфікуючих засобів. У випадку забруднення біоматеріалом без ушкодження шкіри: 1) обробити місце забруднення одним із дезінфектантів (70 % спирт, 3 % перекис водню) ; 2) промити водою з милом і вдруге обробити спиртом.

При контакті з біоматеріалом, що супроводжується порушенням цілісності шкіри (укол, поріз) потерпілий повинен: 1) зняти рукавички робочою поверхнею усередину; 2) видавити кров із рани; 3) ушкоджене місце обробити одним із дезінфектантів (70 % спирт, 5 % настойка йоду при порізах,3 % перекис водню); 4) ретельно вимити руки з милом під проточною водою, а потім протерти їх 70 % спиртом; 5) на рану накласти пластир, надіти напальчник; 6) припинити роботу з кров`ю; 7) повідомити завідувача відділом.

У разі потрапляння біоматеріалу на слизові оболонки:

– отові порожнини- прополоскати 70 % спиртом;

– порожнини носа – закапати 30 % р-ном альбуциду;

– очі – промити водою, закапати 30 % р-ном альбуциду.

Різні види робіт вимагають різного підходу в організації перерв. Для робіт, що використовуються з великим навантаженням рекомендується 10-15 хв. перерв через кожні 2 години.

Усі роботи в лабораторії проводилися при справному стані електроприладів, електропроводок та захисного заземлення.

На випадок ліквідації наслідків аварії в лабораторії є аптечка.

ВИСНОВКИ

1. Серед обстежених зразків периферичної крові великої рогатої худоби чотирьох господарств Запорізького району найбільш часте виявлення лейкозу тварин зафіксовано у БАЛТІМЕД (6,51%), менша кількість випадків захворювання ВРХ – у Росія/Сінергія органік (3,68%); найбільш благополучними є господарства Лисогірський, АФ Ніва та ФГ Марія.

2. Протягом останніх чотирьох років у господарствах Лисогірський, АФ Ніва та ФГ Марія випадків діагностування лейкозу великої рогатої худоби не було; у господарстві БАЛТІМЕД з 2022 року випадків захворювання тварин не виявлено; найбільш неблагополучним господарством є Росія/Синергія органік, у яких частота захворюваності тварин носить хвилеподібний характер, що може свідчити про неповне дотримання профілактичних заходів (у 2023 році захворюваність тварин склала 1,09%).

3. В цілому по Запорізькому району за 2020-2023 р.р. серед проаналізованих господарств спостерігається чітке зниження захворюваності на лейкоз великої рогатої худоби. Частота виявлення лейкозу тварин по Запорізькому району на 2023 рік складає 0,38% (за останні 4 роки − 2,04%).

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Імуноферментний метод діагностування лейкозу у зразках периферичної крові є сучасним та інформативним методом виявлення захворювання тварин.

2. Система оздоровчих заходів у господарствах щодо лейкозу великої рогатої худоби залежить від діагностичних засобів та проведення профілактичних заходів.

А) Діагностичні засоби оздоровчих заходів у господарствах щодо лейкозу великої рогатої худоби. Спеціалісти державної служби ветеринарної медицини відповідають за організацію своєчасної діагностики хвороби і розробку та контроль протилейкозних заходів.

Оздоровчі заходи на основі РІД. Дослідження тварин старше 6-місячного віку проводять з інтервалом 10-30 діб до отримання негативного результату по стаду. Наступні дослідження проводять через 30-45 діб до отримання двох поспіль негативних результатів. У разі виконання усіх заходів, передбачених цією Інструкцією, господарство оголошують благополучним. Протягом двох років після оздоровлення серологічний контроль проводять щокварталу.

Оздоровчі заходи на основі ІФА. Дослідження тварин старше 6-місячного віку проводять через 30-45 діб до отримання підряд двох негативних результатів. За умови виконання інших заходів, передбачених цією Інструкцією, господарство оголошують благополучним. Протягом двох років після оздоровлення серологічний контроль проводять через кожні 6 місяців.

Оздоровчі заходи із застосуванням РІД та ІФА. Хворих тварин у всіх господарствах незалежно від форм власності та підпорядкування, як виняток, утримують і експлуатують в окремому приміщенні, стаді, фермі не довше двох років. Молодняк, отриманий від таких тварин, можна

використовувати для ремонту стада за умови негативного двократного результату з інтервалом 30-45 діб.

Проводять дослідження тварин старше 6-місячного віку в РІД. Після ізоляції РІД позитивних тварин - у термін до 10 діб, РІД негативних тварин досліджують в ІФА.

Б) Профілактичні заходи оздоровчих заходів у господарствах щодо лейкозу великої рогатої худоби.

Молоко від серопозитивних тварин, яких утримують ізольовано від серонегативного стада, пастеризують у господарстві при температурі не нижче 80 град. С (тільки при такому режимі можна контролювати якість пастеризації за допомогою реакції на пероксидазу), після чого його можна використовувати для згодовування телятам або здавати на молокозавод. Молоко від корів серонегативного стада можна реалізовувати переробним підприємствам без попередньої пастеризації.

У разі, коли серопозитивні на лейкоз тварини не відділені від загального стада, молоко від усього поголів’я ферми підлягає пастеризації в зазначених режимах.

В окремих випадках допускається з письмового дозволу головного державного інспектора ветеринарної медицини областей, Києва, районів, міст тимчасового вивезення сирого молока окремим транспортом на молокозавод для технологічної пастеризації і подальшої переробки за наявності на молокопереробному підприємстві окремої лінії для приймання такого молока.

Молоко від серопозитивних тварин, яких утримують ізольовано від серонегативного стада, може піддаватися сепарації в господарстві. При цьому на молокопереробне підприємство вивозять тільки пастеризовані вершки, відвійки кип’ятять і згодовують тваринам.

Молоко від корів з клініко-гематологічними ознаками лейкозу забороняється використовувати з харчовою метою та згодовувати тваринам.

Таке молоко знешкоджують додаванням до нього 5-процентного формальдегіду або іншої дезінфекційної речовини.

У неблагополучних щодо лейкозу господарствах телят до 7-денного віку випоюють материнським молозивом (молоком), а надалі – пастеризованим молоком оздоровленого стада або серонегативних корів неблагополучного стада. При виявленні хворих тварин у племінних господарствах або фермах такі господарства оголошуються неблагополучними. Після кожного дослідження та ізоляції хворих тварин проводять дезінфекцію приміщень і обладнання. Для дезінфекції застосовують 2% розчин їдкого натрію, 2% розчин хлорного вапна та хлорвмісних препаратів, 5% розчин кальцинованої соди, 2% розчин формаліну, інші дезінфекційні засоби, зареєстровані в Україні [35].

Хворих тварин забороняється забивати в господарствах, їх забій проводиться на бойнях та м'ясопереробних підприємствах під контролем офіційних лікарів.

Приміщення та обладнання після забою хворих тварин підлягають старанному прибиранню та дезінфекції.

Усі випадки виявлення лейкозу, а також пухлин різного походження при здійсненні ветеринарно-санітарної експертизи реєструються у відповідних журналах та подаються у звітах (форми N 5-вет, 6-вет, які затверджені наказом Мінагрополітики України від 30.12.2005 N 775 «Про затвердження форм звітності з питань ветеринарної медицини»).

Про виявлення у забитих тварин патолого-анатомічних змін, характерних для лейкозу, повідомляють їх власника та головного державного інспектора ветмедицини району, де знаходиться господарство.

Ветеринарно-санітарна оцінка туш, внутрішніх органів та інших продуктів забою хворих на лейкоз тварин здійснюються відповідно до Правил передзабійного ветеринарного огляду тварин і ветеринарно-санітарної експертизи м'яса та м'ясних продуктів, затверджених наказом Державного департаменту ветеринарної медицини

Господарство, ферму, стадо вважають оздоровленими після вивезення усіх хворих тварин та отримання двох поспіль негативних результатів (з інтервалом 30-45 днів) серологічного дослідження худоби старше 6-місячного віку. У перший рік після оздоровлення серологічні дослідження проводять щокварталу.

ПЕРЕЛІК ПОСИЛАНЬ

1. Імунологія: підручник /Л.В.Кузнецова, В.Д.Бабаджан, Н.В.Харченко та ін.; за ред. Л.В.Кузнецова, В.Д.Бабаджан, Н.В.Харченко. Вінниця: ТОВ «Меркьюрі Поділля», 2013.

2. Клінічна імунологія та алергологія. Харків: Гриф, 2011. 268 с.

3. Бессарабов Б.Ф., Вашутин А.А., Воронин Е.С. Діагностика та профілактика лейкозу великої рогатої худоби. К, 2003. 311 с.

4. Каришева А.Ф. Спеціальна епізоотологія. Київ: Вища освіта. 2002. 703 с.

5. Імунологічні методи: метод. вказівки до проведення лаб. занять з курсу «Імунологія» / Т. О. Філіпова та ін. Одеса: Одес. нац. ун-т ім. І. І. Мечникова, 2018. 393 с.

6. Мандигра М. С., Куртяк Б. М., Сімонов Р. П. Науково-практичні основи багаторічного досвіду боротьби з лейкозом великої рогатої худоби у господарствах Львівської області. *Ветеринарна медицина України*. 1999. №6. С. 10–11.

7. Мандигра М. С. Епізоотологічний моніторинг, профілактика та системи ліквідації лейкозу великої рогатої худоби в Україні. Автореф. … доктора вет. наук. Харків, 2000. 37 с.

8. Нагаєва Л. І., Аранчій С. В. Діагностика та профілактика лейкозу великої рогатої худоби. К.: Медицина, 2003. 65 с.

9. Внутрішні хвороби тварин /В.І. Левченко, І.П. Кондрахін, В.В. Влізло та ін.; За ред. В.І. Левченка. Біла Церква, 2001. Ч. 2. 544 с .

10. Горбань М. І. Епізоотологія з мікробіологією. К., 1978. 147 с.

11. Горбань М. І. Специфічна профілактика інфекційних хвороб тварин. К, 1973. 84 с.

12. Інфекційні хвороби великої рогатої худоби: Посібник / Р. Кравцов, Я. Зинкевич, Б. Корш, І. Олексюк. Львів, 2002. 390 с.

13. Лукашов І. І. Загальна і спеціальна епізоотологія. К., 1963. 276 с.

14. Практикум із загальної епізоотології / за ред. Б. М. Ярчука. Біла Церква, 1999. 261 с.

15. Бабкін А.Ф. Вивчення деяких властивостей онкорнавірусних антигенів великої рогатої худоби. *Ветеринарія: Республіканський міжвідомчий тематичний науковий збірник*. К.: Урожай, 1982. Вип.56. С.64–67.

16. Бінерт Б., Міщук В., Соколов Р. З лейкозом треба боротись. *Ветеринарна медицина України*. 1997. №11. С. 6.

17. Бусол В.О., Власенко В.М., Паска М.М. Вивчення стану природної резистенції молодняку великої рогатої худоби, інфікованого вірусом лейкозу. *Тези доповід. наук. практ. конф. «Вчені Білоцерківського державного сільськогосподарського інституту – виробництву»*. Біла Церква, 1994. С. 61–62.

18. Бусол В.А., Коновалов В.Н. Методические и технологические подходы к изготовлению диагностикума лейкоза крупного рогатого скота. *Розвиток ветеринарної науки в Україні: здобутки та проблеми*: Збірник матеріалів міжнародної науковопрактичної конференції. Харків, 1997. С.112–113.

19. Бусол В.О., Мягких Н.В., Зданевич П.П. Захисні властивості імунопрофілактичних протилейкозних препаратів у овець. *Розвиток ветеринарної науки в Україні: здобутки та проблеми*: Збірник матеріалів міжнародної науковопрактичної конференції.–Харків, 1997.–С.190–191.

20. Бусол В.О., Шваюн І.В. М. Н. Доронін – засновник української наукової школи ветеринарної лейкозології. *Ветеринарна медицина України*. 2002. №5. С. 37.

21. Бялецький С.А., Мандигра М.С. Інфекційні властивості крові заражених вірусом лейкозу тварин і частота серологічних досліджень. *Матеріали конференції молодих вчених і спеціалістів України «Проблеми*

ветеринарної медицини по обслуговуванню тваринництва колективних та фермерських господарств». Харків, 1992. С. 6.

22. Бялецький С.А. Особливості протиепізоотичних заходів у господарствах, розташованих на території, зараженій радіонуклідами. *Розвиток ветеринарної науки в Україні: здобутки та проблеми*: Збірник матеріалів міжнародної науково-практичної конференції. Харків, 1997. С.89.

23. Вивчення вірулентних властивостей вірусу лейкозу великої рогатої худоби / В.О. Бусол, П.Г. Шульга, Д.І Бондаренко та ін. *Вісник Білоцерків. держ. аграр. унту.* Біла Церква, 1997. Вип.3. Ч.1. С. 26–28.

24. Горальський Л.П. Морфологічна та морфометрична характеристика органів імуногенезу великої рогатої худоби на ранній стадії лімфоїдного лейкозу. *Вісник аграрної науки БДАУ*. 1999. № 6. С. 42–46.

25. Горбатенко С. Лейкоз – минуле, сьогодення, перспективи викоренення. *Ветеринарна медицина України*. 2002. №9. С. 28–29.

26. Експериментальні дослідження по вивченню можливості імунопрофілактики лейкозу / В.О. Бусол та ін. *Ветеринария*. 1991. Вип. 66. С. 76–78.

27. Внутрішні хвороби тварин / за ред. В.І. Левченка. Біла Церква, 1999. Ч. 1. 376 с.

28. Епізоотологічний моніторинг: Лейкоз великої рогатої худоби / В.О. Бусол та ін. *Ветеринарна медицина України*. 2002. №2. С.10–14.

29. Етіологічний зв’язок між лейкозами рогатої худоби, собак і людей / В.О. Бусол та ін. *Розвиток ветеринарної науки в Україні: здобутки та проблеми:* Збірник матеріалів міжнародної науковопрактичної конференції. Харків, 1997. С.186.

30. Імунохімічний аналіз лейкозних преципітуючих антигенів, одержаних з онкорнапродукуючих культур клітин / Н.В.Кленіна, В.С.Антонов, В.І.Тертишнік і ін. *Ветеринарія*: Республіканський міжвідомчий тематичний науковий збірник. К.: Урожай, 1982. Вип. 56. С. 68–70 .

31. Інфекційні хвороби великої рогатої худоби: Посібник / Р. Кравцов, Я. Зинке- вич, Б. Корш, І. Олексюк. Львів, 2002.

32. Результати комісійного випробовування імуногенних властивостей інактивованої протилейкозної вакцини ІЕКВМ / С.К.Горбатенко, В.І.Цимбал, П.П.Зданевич і ін. *Ветеринарна медицина*: Міжвідомчий тематичний науковий збірник. Харків,2001. Вип.79(1). С. 96–103.

33. Результати експериментального вивчення інкубаційного періоду лейкозу великої рогатої худоби/ М.С. Мандигра, Б.М.Куртяк, Р.П.Сімонов і ін. *Вісник Білоцерківського державного аграрного університету*: Зб. наук. праць. Біла Церква, 2001. Вип.16. С.126–129 .

34. Хронічні інфекційні хвороби (методичні рекомендації для студентів факультету ветеринарної медицини) / Л.Є.Корнієнко, О.Б.Домбровський, Б.М.Ярчук і ін. Біла Церква, 2002. 108 с.

35. Інструкція з профілактики та оздоровлення великої рогатої худоби від лейкозу / Затвердж. наказом Держ. Комітету вет. мед. України 21.12.2007 №21. Зареєстровано в Міністерстві юстиції України 11.01.2008 р. За №12/14703.

36. Ярчук Б.М., Тирсін Р.В., Довгаль О.В. Сучасні аспекти діагностики та заходів боротьби з лейкозом великої рогатої худоби. *Вет. мед. України*. 2006. №9. С. 21–23.

37. Сучасний метод лабораторної діагностики лейкозу великої рогатої худоби / Л. Абрамова, Ю. Собко, І. Собко, В. Прискока. *Вет. мед. України*. 2003. №9. С. 39–41.

38. Ярчук Б.М., Тирсін Р.В., Довгаль О.В. Імуноферментний метод у системі оздоровчих протилейкозних заходів. *Вісник БДАУ*. Біла Церква, 2006. С. 182–186.

39. Burny A. Enzootic Bovine Leukosis OIE Terrestrial Manual. New York, 2012. 11 p.

40. Науково-технічний бюлетень. Інститут біології тварин і ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок. Львів, 2009. Вип. 10. №4. С. 332–336.

41. Ковалюк Н.В., Дробот Е.В. Молекулярно-биологические методы для оздоровлення стад крупного рогатого скота от лейкоза. *Ветеринария*. 2008. №2. С. 22–26.

42. До вивчення епізоотичної ситуації з лейкозу ВРХ та генетичних особливостей збудника в різних географічних зонах України / С.К. Горбатенко, А.П. Герілович, О.В.Шаповалова [та ін.]. *Ветеринарна медицина*. 2013. Вип. 97. С. 167–169.

43. Мандигра М.С. Просторово-часова динаміка інтенсивності епізоотичного процесу лейкозу великої рогатої худоби в Україні. *Вісник Білоцерків. держ. аграр. ун-ту*: Зб. наук. праць. Біла Церква. 1999. Вип. 9. С. 114–120.

44. Напрямки запобігання рецидиву епізоотії лейкозу великої рогатої худоби / С.К. Горбатенко та ін. *Ветеринарна медицина*. 2014. Вип. 98. С. 84–87.

45. Горжеєв В.М. Сучасний епізоотичний стан як заключний етап ерадикації лейкозу великої рогатої худоби в Україні. *Ветеринарна медицина*. 2013. Вип. 97. С. 164–166.

46. A nucleotide deletion causing a translational stop in the protease reading frame of bovine leukaemia virus (BLV) results in modified protein expression and loss of infectivity./ Blankenstein P, Bondzio A, Fechner H, Beier D, Marquardt O, Looman AC, Ebner D. *J. Vet. Med. B Infect Dis Vet Public Health*. 2000. Vol. 47, №5. P. 36171.

47. Bovine leucaemia facts and hypothetes derived from the study of an infections concern / A. Burny, Y. Cleuter, R. Kettmann et al. *Veter. Microbiol*. 1998. Vol. 17, № 3. P. 197 – 218.

48. Bovine leukemia virusinduced lymphocytosis and increased cell syrvival mainly involve the CD11b+ Blymphocyte subset in sheep./ N.Chevallier, M.Berthelemy, D.le Rhum et. Al. *J. Virol*. 1998. Vol.72, №5. P. 4413–4420.

49. Detection of IgG antibody to bovine leukaemia virus in urine and serum by two enzyme immunoassays / K.T. Carli , A. Sen , H. Batmaz , E .Kennerman *Lett Appl Microbiol*. 1999. Vol.28, №6. P. 4168-4172.

50. Ellermann V., Bang O. Experimentalle leukemia bei Huhnern. *Zbl. Bact*. 1908. V. 46. P. 595.

51. Horma T. Bovine leukemia virus infection in Japan: antibody and virus detection in cattle. *Japan G. Veter. Sc*. 1980. Vol. 42, №1. P. 5–8.

52. Higgins S. Bovine leukosis and its significance. The Holstein Frisian G. 1980. Vol. 43. №5. P. 27.

53. Enzootic bovine leucosis. Disease timelines. Disease information. World Organisation for Animal Health (OIE) URL: http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/Diseasetimelines. (дата звеpенення: 23.09.2024 р.).

54. Evermann J. Cause for Concern: Bovine Leukemia Virus. Ag animal health Veterinary Medicine Extension. Washington State University. 2014. 115 p.

53. Державна ветеринарна та фітосанітарна служба України URL: http://www.vet.gov.ua (дата звеpенення: 21.06.2024 р.)

54. Епізоотична ситуація в Україні станом на жовтень 2015 року URL: http://www.vet.gov.ua/node/4321. (дата звеpенення: 23.09.2024 р.)