

УДК 619.616.006.441.084

**ПРОФІЛАКТИЧНІ ТА ПРОТИПУХЛИННІ ВЛАСТИВОСТІ ВАКЦИНИ «ЛЕЙКОЗАВ»  
ПРОТИ ЛЕЙКОЗУ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ**

**Завірюха Г.А.**

*ДНУ «Державний центр інноваційних біотехнологій», м. Київ*

Однією з головних проблем ефективної боротьби з лейкозом великої рогатої худоби є відсутність специфічних засобів ранньої діагностики та профілактики. Реакція імунодифузії (РІД) та імуноферментного аналізу (ІФА), які є основними методами ранньої діагностики лейкозу [1], виявляють захворювання тварин у продромальній стадії розвитку хвороби, коли в крові інфікованої тварини накопичується достатня кількість антитіл адекватна чутливості реакції (РІД).

Захворювання на рак крові (лейкоз) у своєму розвитку проходить ще більш ранню стадію свого розвитку – латентну – тварини хворі в латентній стадії лейкозу через відсутність відповідної кількості антитіл адекватної чутливості реакції. Імунізація вакциною худоби в латентній стадії розвитку лейкозу підвищує рівень специфічності реакції, тому після щеплення вакциною реєструється більше інфікованих (РІД+) тварин.

Результати проведених досліджень [1, 2, 3, 4, 5] підтверджують, що на вакцину «Лейкозав» після введення її під шкіру у тварини формується специфічний противірусний імунітет, з титром антитіл 1-4 Ig<sub>2</sub>, який захищає від спонтанного зараження в умовах неблагополучного щодо лейкозу стада.

У даній роботі подаються результати експериментальних досліджень з вивчення вакцини «Лейкозав» як профілактичного засобу та засобу оздоровлення хворих тварин, вражених хворобою на різних стадіях розвитку інфекційного процесу.

**Матеріал та методи досліджень.** Випробування вакцини «Лейкозав» проти лейкозу великої рогатої худоби проводили на телицях з 4-5-місячного віку, нетелях і коровах ТОВ «Нова Україна» Яготинського району Київської області.

Господарство неблагополучне щодо лейкозу з 2005 року. Інфікованість вірусом лейкозу великої рогатої худоби на початку 2009 року була в межах 70 відсотків.

У досліді було 160 голів великої рогатої худоби, зокрема 145 корів і 15 нетелів.

Перед щепленням провели дослідження сироватки крові за допомогою РІД. Визнали інфікованими вірусом лейкозу (РІД+) 70 голів (35,3%), у тому числі 55 корів і 15 нетелів.

У досліді також було 26 гематологічно хворих корів. РІД-позитивних та РІД-негативних тварин щеплювали двічі підшкірно в ділянці верхньої третини шиї з інтервалом 21-30 днів по 2 см<sup>3</sup> за одне введення (2+2 см<sup>3</sup>). Гематологічно хворих щеплювали за такою ж схемою та в дозі 4 см<sup>3</sup> на одне введення (4+4 см<sup>3</sup>). Під час кожного щеплення дотримувались вимог виконання правил асептики і антисептики.

**Результати дослідження.** В технології боротьби з лейкозом великої рогатої худоби та оздоровлення неблагополучних стад (ферм) чинною інструкцією застосовується метод виявлення інфікованих тварин за допомогою серологічних досліджень сироватки крові за РІД, ІФА та ПЛР, ізоляції РІД - позитивних та здачі на забій. Основним методом прижиттєвої діагностики лейкозу є реакція імунодифузії (РІД) та імуноферментний аналіз (ІФА) [6]. Однак (РІД) має свій поріг чутливості, і під час проведення досліджень значна частина тварин залишається за межею діагностичного рівня. Вони є джерелом інфекції для здорових ще не вражених вірусом, дорослих тварин і молодняку. Оздоровлення розтягується на роки та не дає швидких і вагомих результатів.

Найбільш ефективним способом боротьби з інфекційними хворобами є імунізація чутливого поголів'я специфічними вакцинами, але такі вакцини проти лейкозу ВРХ ще не розроблені.

У даній статті ми подаємо результати застосування інактивованої вакцини «Лейкозав» проти лейкозу великої рогатої худоби в неблагополучному стаді, з високою інфікованістю поголів'я вірусом лейкозу.

Із 145 корів, що були в господарстві на дату проведення досліді, 70 – щеплені вакциною, а 75 голів, за об'єктивних причин, залишились невакцинованими. У кінці року 13 корів із числа невакцинованих виявились гематологічно хворими.

Через 8 місяців після щеплення гематологічно хворих тварин лікувальною дозою вакцини (4+4 см<sup>3</sup>) – 7 голів одужали. Кількість лейкоцитів у їх крові відновились до фізіологічної норми.

Групу корів (50 голів) перед щепленням вакциною не досліджували за РІД та ІФА. Тому не має можливості дати оцінку їх стану щодо інфікованості вірусом лейкозу. Усі вони були щеплені профілактичною дозою (2+2 см<sup>3</sup>) вакцини «Лейкозав» проти лейкозу великої рогатої худоби. Через 8 місяців після щеплення було проведено дослідження сироватки їх крові за РІД і виявлено 12 тварин (24,0%) у яких сироватки крові реагували позитивно в РІД. Після проведення досліджень крові цих 12 корів, у трьох виявили зміни захворювання на лейкоз в гематологічній стадії розвитку інфекції (18,6 г/л, 66% - лімфоцитів, 23,0 г/л, 92% лімфоцитів, 26,0 г/л, 82,0% лімфоцитів). У інших корів (9 голів) з цієї групи показники кількості лейкоцитів і відсоток лімфоцитів були в межах фізіологічної норми. Не виключено, що ці тварини були вже хворими на лейкоз до щеплення вакциною. У всіх інших тварин дані показники крові були в межах фізіологічної норми.

Ще більш переконливі показники оздоровлення від лейкозу отримано після щеплення вакциною «Лейкозав» молодняку.

За даними гематологічних досліджень 11 нетелей були хворі в гематологічній стадії розвитку лейкозу.

Вакциною щепили профілактично (2+2 см<sup>3</sup>) 15 нетелів, у т.ч. і гематологічно хворих.

Як показали наступні гематологічні дослідження (проведені двічі з інтервалом у 10 місяців) всі гематологічно хворі нетелі були здоровими. Показники формених елементів їх крові відновились до фізіологічної норми.

Отже, вакцина «Лейкозав» є достатньо імуногенним препаратом для активної профілактики та боротьби з лейкозом великої рогатої худоби.

**Висновки.** 1. Уперше розроблено інактивовану імуногенну вакцину «Лейкозав» проти лейкозу великої рогатої худоби, яка придатна для активної профілактики і боротьби з лейкозом ВРХ.

2. В організмі щеплених тварин вакцина формує специфічний противірусний імунітет з напругою антитіл 1-3 рідше 4 Ig<sub>2</sub>. Імунітет з такою напругою захищає молодняк і дорослих тварин (корів) від спонтанного зараження в умовах неблагополучного стада та під час зараження вірусомісним матеріалом.

3. Вакцина «Лейкозав» проти лейкозу великої рогатої худоби

нешкідлива, нетоксична і володіє хорошими специфічними імуногенними властивостями.

4. Вакцина «Лейкозав» проти лейкозу великої рогатої худоби володіє лікувальними властивостями хворих в продромальній РІД (+) і гематологічній стадії розвитку лейкозу.

5. Вакцина «Лейкозав» проти лейкозу великої рогатої худоби може з успіхом застосовуватись для оздоровлення неблагополучних стад (ферм) від лейкозу ВРХ.

#### Список літератури

1. Завірюха, Г.А. Лікувальні властивості вакцини «Лейкозав» проти лейкозу великої рогатої худоби/ Завірюха Г.А., Дзюба С.М., Завірюха А.І. – Ветеринарна біотехнологія, 2004. – №4. – С. 72-77.
2. Завірюха Г.А. Формування імунітету у корів, щеплених вакциною Лейкозав, в умовах епізоотологічного експерименту та його вплив на оздоровлення від лейкозу/ Завірюха Г.А. – Ветеринарна медицина. – Харків, 2009. – Вип.92. – С. 203-207.
3. Завірюха, Г.А. Профілактична імунізація корів вакциною Лейкозав – основа оздоровлення та активної боротьби з лейкозом великої рогатої худоби/ Завірюха Г.А. – Ветеринарна біотехнологія, 2009. – № 14. – С. 103-111.
4. Завірюха, А.І. Новий ефективний спосіб оздоровлення великої рогатої худоби враженої вірусом лейкозу/ А.І.Завірюха, Г.А. Завірюха. – Науковий вісник ЛНУВМБТ імені С.З. Гжицького. – Львів, 2011. – Т. – 13. – №14. – Ч.1. – С. 141-147.
5. Завірюха, Г.А. Розробка методики стандартизації інактивованих вакцин проти лейкозу великої рогатої худоби/ Завірюха Г.А. – Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини. – Вип. 23. – Ч.2. – Т. – С. 169-171.
6. Інструкція з профілактики та оздоровлення великої рогатої худоби від лейкозу. – Наказ Державного комітету ветеринарної медицини України. - 21.12.2007. - №21. - від 11 січня 2008р. – № 12/147003.

### PREVENTIVE AND ANTICANCER PROPERTIES OF THE VACCINE LEYKOZAV AGAINST THE BOVIN LEUKEMIA

Zaviryukha H.A.

State Centre of Innovation Biotechnologies, Kyiv

To protect the young animals and those who have not been affected yet by the bovine leukemia virus is offered a prophylactic active immunization of females of large cattle with an inactivated vaccine "Leykozav" to which in the body of vaccinated animals antiviral immunity is formed with specific antibody titers 1-4 Ig2, which protects them from spontaneous infection in conditions of unfavorable for leukemia treatment. Experiments were carried out in disadvantaged for leucosis herd with the quantity of infected livestock over 35%.

At the beginning of the experiment in the herd there were 13 infected cows in the hematologic stage of infection. After vaccination with the therapeutic dose of vaccine (4sm<sup>3</sup> 4sm<sup>3</sup>) for seven cows (54.0%), numbers of leukocytes renewed to the physiological norm. The control group of 50 cows in the course of research by RID 12 animals were shown to be RID positive. Among them three cows were in the hematologic stage of infection. In other infected cows numbers of leukocytes were within normal limits.

The vaccine Leykozav against bovine leukemia has preventive and curative properties.

УДК 619:616.98:579.881.11:612.017

### РАЗРАБОТКА И ПРИМЕНЕНИЕ НАБОРОВ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ЛИХОРАДКИ КУ

Иванов А.В., Хисматуллина Н.А., Юсупов Р.Х., Гильмутдинов Р.Я.

ФГБУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности», г. Казань, Российская Федерация

По распространенности в мире в группе зоонозных риккетсиозов лихорадка Ку занимает одно из первых мест [1-4]. В России лихорадка Ку встречается в Саратовской, Волгоградской, Новосибирской, Ярославской областях, а также Алтайском крае [10]. Лихорадка Ку – одна из опасных инфекционных болезней животных и людей, клиника которой характеризуется значительным полиморфизмом, что затрудняет диагностирование на основании клинического симптомокомплекса. В связи с вышеизложенным, а также учитывая бессимптомное течение болезни у сельскохозяйственных животных, важное значение приобретает постановка достоверного диагноза с использованием современных методов исследований. Применяемые в настоящее время средства и методы диагностики лихорадки Ку имеют определенные недостатки: низкую чувствительность и недостаточную специфичность (световая микроскопия), длительность получения результатов экспертиз и трудоемкость (биопроба).

Целью исследований явилась разработка и усовершенствование средств и методов диагностики лихорадки Ку на основе поли- и моноклональных антител с использованием иммуноферментного анализа и метода флуоресцирующих антител, а также комплексное проведение диагностических исследований в очагах этой инфекции.

**Материалы и методы.** В опытах применяли 2 штамма возбудителя лихорадки Ку: итало-греческий, референтный – «Грита», фазы I-II, полученный из НИИЭИМ им. Н.Ф. Гамалеи РАМН и эпизоотический – «Барабинский», выделенный из организма больной коровы профессором Р.Г. Госмановым и др. (1985), I фазы.

В работе использовали животных: овец (10), кроликов (30), морских свинок (50), крыс (30), белых мышей – беспородных (1000) и линии BALB/c (1000). В качестве исследуемого материала использовали паренхиматозные органы 2000 лабораторных животных, экспериментально зараженных возбудителем лихорадки Ку, а также 62 пробы сывороток крови крупного рогатого скота и 423 пробы сывороток крови овец, доставленных из неблагополучных по заболеваемости лихорадкой Ку районов РФ. Отрицательными контролями служили суспензии или мазки – отпечатки селезенки белых мышей, а также иммуноглобулин (Ig) сывороток крови интактных животных; положительными – те же органы, полученные от животных, зараженных возбудителем лихорадки Ку.

Иммунизацию кроликов проводили по Л.А. Зильберу (1979) с нашими модификациями [6]; для получения высокоактивных антирикетсиозных сывороток использовали штаммы «Барабинской» и «Грита» возбудителя лихорадки Ку (I и I-II фазы соответственно). Выделение иммуноглобулинов из сывороток крови овец и кроликов проводили по методике, описанной нами ранее [6]. Активность полученных Ig определяли в РДСК [8]. Для получения гибридом, продуцирующих моноклональные антитела к возбудителю лихорадки Ку, использовали миеломные клетки Sp 2/0-Ag 4.1, и спленоциты белых мышей линии BALB/c, иммунизированных очищенным и концентрированным в градиенте сахарозы антигеном возбудителя лихорадки Ку, штамм «Барабинский» (эпизоотический, I фаза). Иммунизацию мышей проводили четырехкратно с интервалами в 30, 5 и 20 суток антигеном в смеси с полным адьювантом Фрейнда, в сочетании с внутрибрюшным и подкожным введением. Выделение лимфоцитов из селезенки мышей и последующее их слияние с миеломными клетками проводили по Л. Херценбергу (1980) в соотношении 5:1, тестирование гибридных клонов – непрямым методом ИФА с применением гомологичного антигена [5, 7].

**Результаты исследований и обсуждение.** Разработка иммунохимических препаратов и методов диагностики лихорадки Ку на основе поликлональных антител. Сравнительная оценка активности сывороток, полученных в результате иммунизации антигеном кокциелл Бернета различных видов животных – кроликов, морских свинок, овец, показала, что наиболее универсальным продуцентом риккетсиозных сывороток являются кролики. При этом титр комплементсвязывающих антител был максималь-