

ОЦІНКА ПРИЖИТТЄВОЇ ДІАГНОСТИКИ ЛЕЙКОЗУ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ

М. С. Мандигра, Н. В. Любар, В. М. Удяк

Інститут епізоотології НААН

У статті показано, що для прижиттєвої діагностики лейкозу великої рогатої худоби застосовують різні методи, зокрема серологічний, гематологічний, молекулярно-генетичний. Результати наших досліджень свідчать, що для масових досліджень на лейкоз найбільш зручним і економічно обґрунтованим методом є реакція імунодифузії (РІД). У дослідженнях встановлено, що імуноферментний аналіз (ІФА) дозволяє виявити на 0,4-1,9% більше хворих тварин, ніж РІД. Полімеразну ланцюгову реакцію (ПЛР) слід застосовувати для дослідження високопродуктивних тварин і в науковій роботі.

Забезпечення ефективного захисту від інфекційної патології є основним напрямленням фундаментальних та прикладних досліджень з метою гарантованого благополуччя тваринництва, виробництва продуктів харчування високої санітарної якості [1]. Серед інфекційної патології лейкоз великої рогатої худоби в багатьох країнах світу займає провідне значення. Так, за даними М. І. Гулюкіна та співавторів [2] ця патологія у Російській Федерації сягає 60 % від усіх інших інфекційних захворювань.

Лейкоз великої рогатої худоби завдає значних економічних збитків, має соціальне значення. При цьому більшість вчених вважає що вірус лейкозу великої рогатої худоби не викликає патологій у людей, та ніхто не заперечує, що молочні продукти хворих на лейкоз корів містять шкідливі метаболіти триптофану, які мають лейкозогенну дію [3, 5].

Успішне вирішення питань профілактики і викорінення лейкозу в Україні багато в чому залежить від наявності і використанні методів ранньої діагностики хвороби. Комплексний підхід до реалізації заходів боротьби із знанням епізоотичної ситуації, своєчасною діагностикою та видаленням джерела збудника інфекції дає позитивний результат [2–9].

Матеріали і методи. Основними методами прижиттєвої діагностики є: серологічний — реакція імунодифузії (РІД) та імуноферментний аналіз (ІФА); гематологічний — підрахунок кількості, а при необхідності і якості лейкоцитів; 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 завою 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 [6].

РІД проводили 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 імуноферментну тест-систему для детекції анти-grp51 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.

Результати й обговорення. Провели комплексне дослідження на 210 сироватках крові серологічним методом РІД з використанням різних штампів, з різними розмірами між лунками та самих лунок на чашках Петрі і на предметних скельцях. При порівнянні способів постановки РІД проби завжди показували однакові результати.

Аналіз епізоотичного стану щодо лейкозу в Україні в 2007–2010 роках показаний у таблиці 1. Із неї видно, що в кінці 2007 року налічувалось 207 неблагополучних пунктів (н/п), в яких утримували 33 тисячі 743 хворих на лейкоз тварин. В 2008 році оздоровлено 179 неблагополучних пунктів, залишалось на кінець року 80 неблагополучних пунктів (14467 хворих лейкозом тварин). Протягом 2009 року оздоровлено 47 неблагополучних пунктів, стільки ж неблагополучних пунктів залишилось на кінець року. За 2010 рік було виявлено 8 нових неблагополучних пунктів. Після проведення оздоровчих заходів станом на перше липня 2010 року в Україні залишається 48 неблагополучних пунктів (7541 тварина хвора на лейкоз).

Таблиця 1

Поширення лейкозу великої рогатої худоби в Україні в 2007-2010 роках

Роки	Було н/п на початок року		Виявлено за звітний період		Оздоровлено н/п	Залишилось на кінець року	
	н/п	хворих тварин (гол.)	н/п	хворих тварин (гол.)		н/п	хворих тварин (гол.)
2007	360	60229	134	44001	287	207	33743
2008	207	33743	52	22390	179	80	14467
2009	80	14467	14	8629	47	47	8117
на 1.07 2010	47	8117	8	2245	7	48	7541

Для вивчення епізоотологічної ефективності прижиттєвої діагностики нами проведенні результати серологічних досліджень в РІД та ІФА груп тварин, різного віку і статі в деяких господарствах Житомирської, Рівненської, Одеської, Харківської, Донецької, Запорізької областей. У кожній області дослідження проводили в 1–4 господарствах (табл.2).

Таблиця 2

Результати серологічних досліджень на лейкоз (2010 рік)

Області	Число господарств	Досліджено		Виділено	
		РІД	ІФА	РІД	ІФА
Рівненська	4	2342	26	642	0
Одеська	1	456	456	0	0
Харківська	1	551	551	21	25
Донецька	1	9050	9050	249	290
Запорізька	2	6011	6011	338	79
Житомирська	1	2472	2472	0	0
Всього	10	20882	18566	1250	794

Із таблиці видно, що за результатами РІД виявлено 1250 позитивно реагуючих, що становить 5,9 %, а за результатами ІФА — 794 або 4,2 %. За цими даними не можна давати порівняльної характеристики, оскільки досліджені різні тварини.

У таблиці 3 наведені дані співвідношення результатів РІД та ІФА. Як показує аналіз серологічних методів діагностики ІФА є більш чутливим і ефективним методом, у порівнянні з РІД. У середньому за результатами ІФА виявляє на 0,4–1,9 % більше хворих тварин, ніж РІД. Проте цей недолік можна усунути 3-разовим дослідженням в РІД з інтервалом в 10–15 діб і з подальшою ізоляцією виділених хворих тварин.

Таблиця 3

Аналіз досліджень лейкозу ВРХ в Україні в РІД та ІФА за 2008-2010 рр.

Рік	Досліджено	Виділено		Інфікованість, %	
		РІД	ІФА	РІД	ІФА
2008	14676	945	1214	6,4	8,3
2009	17339	647	716	3,7	4,1
2010	18734	768	954	4,1	5,0

Майже всі позитивні результати дослідження, отримані від РІД і ІФА, були підтвердженні у вибіркового проведенні ПЛР. Однак, як видно з рисунку, одна позитивна проба в реакції

імунодифузії дала від'ємний результат за ПЛР. За даними деяких досліджень у РІД позитивних тварин ПЛР дає від'ємний результат [4, 7].

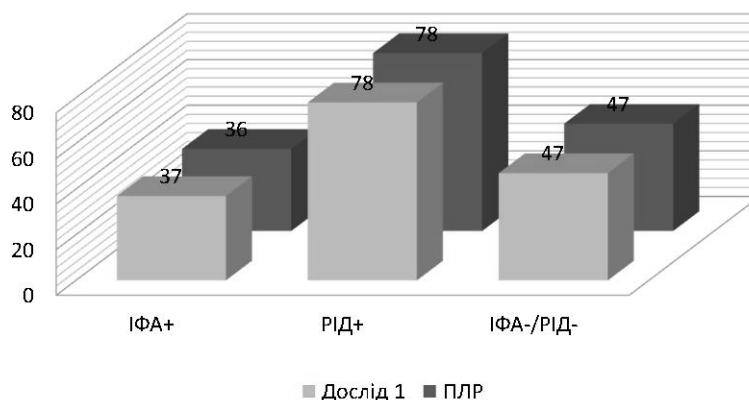


Рис. Оцінка ефективності різних методів діагностики лейкозної інфекції

Вважаємо, що при оздоровленні неблагополучних господарств основним методом залишається РІД. З допомогою ІФА доцільно досліджувати РІД-негативних тварин неблагополучного стада. ПЛР слід застосовувати під час дослідження телят у період циркуляції колостральних антитіл, при експорті-імпорті тощо. Для дослідження особливо цінних тварин і в науковій роботі можна використовувати всі три методи.

У сучасних умовах гематологічний метод діагностики застосовується для досліджень виділених серопозитивних тварин. Гематологічно хворих тварин протягом 15 діб здають на забій.

У 2010 році ми гематологічно дослідили та проаналізували два господарства, в яких ізолювано утримувались лейкозні тварини (по 336 і 148 голів), серед яких виявлено 16,8 та 19,0 % відповідно, гематологічно хворих тварин, які були здані на забій.

Важливим є синхронізація підходів до боротьби з лейкозом тварин різних форм власності, здача всіх серопозитивних тварин на забій. Однак для цього потрібна національна програма і виділення великих коштів для компенсації затрат.

ВИСНОВКИ

1. В Україні на липень 2010 року залишилось 48 неблагополучних пунктів, в яких утримуються 7541 тварина хвора на лейкоз.

2. Результати наших досліджень свідчать, що для масових досліджень на лейкоз найбільш зручним і економічно обґрунтованим методом є РІД. При дослідженні методом ІФА в середньому виявлено на 0,4–1,9 % більше хворих тварин, ніж в РІД.

3. Серопозитивні дослідження дають позитивні результати в ПЛР, які слід застосовувати для дослідження високопродуктивних тварин і в науковій роботі.

4. Клініко-гематологічний методи застосовують для визначення стадії розвитку хвороби, морфологічної природи лейкозу в серопозитивних тварин.

Перспективи подальших досліджень. Будуть продовжені дослідження епізоотичного процесу лейкозу ВРХ з метою удосконалення заходів профілактики, системи діагностики лейкозу великої рогатої худоби.

ESTIMATION OF LIFE DIAGNOSTICS METHODS OF LEUCOSIS OF CATTLE

M. Mandygra, N. Liubar, V. Udyak

Epizootology Institute of NAAS
SUMMARY

It was showed in the article, that for life diagnostics of leucosis of cattle apply different methods, in particular serum, haematological, molecular-genetic. The results of our researches testify that for mass

researches on a leucosis the most comfortable and economic grounded method is the reaction immune-diffusion (RID). In the studies had been found that the enzyme immunoassay (ELISA) enables to detect at 0,4–1,9 % more sick animals than RID. Polymerase chain reaction (PCR) should be used for research of high-productive animals and in scientific work.

ОЦЕНКА ПРИЖИЗНЕННЫХ МЕТОДОВ ДИАГНОСТИКИ ЛЕЙКОЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Н. С. Мандыгра, Н. В. Любарь, В. Н. Удяк

Институт эпизоотологии НААН

А Н Н О Т А Ц И Я

В статье показано, что для прижизненной диагностики лейкоза крупного рогатого скота применяют разные методы, в частности серологический, гематологический, молекулярно-генетический. Результаты наших исследований свидетельствуют, что для массовых исследований на лейкоз наиболее удобным и экономически обоснованным методом является реакция иммунодиффузии (РИД). В исследованиях установлено, что иммуноферментный анализ (ИФА) позволяет обнаружить на 0,4–1,9 % больше больных животных, чем РИД. Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) следует применять для исследования высокопродуктивных животных и в научной работе.

Л І Т Е Р А Т У Р А

1. Гулюкин М. И. Профилактика инфекционных болезней — обеспечение продовольственной и пищевой безопасности России. Тр. ВИЭВ им. Я. Р. Коваленко, М. — Т. 75. — 2009. — С. 28–51.
2. Гулюкин М. И., Тимошина С. В., Бадеева О. Б. Усовершенствованная система борьбы с лейкозом крупного рогатого скота. Тр. ВИЭВ им. Я. Р. Коваленко, М. — Т. 75. — 2009. — С. 199–203.
3. Бусол В. А. Лейкоз сельскохозяйственных животных / Доронин Н. Н., Мандыгра Н. С. и др. — Киев: Урожай, 1988. — 264 с.
4. Двоеглазов И. Г. Оценка эффективности различных методов диагностики инфекции вируса лейкоза крупного рогатого скота // Автореф. дис. на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук. Новосибирск. — 2009. — С. 19.
5. Мандыгра М. С. Епізоотологічний моніторинг, профілактика та система ліквідації лейкозу великої рогатої худоби в країні // Автореф. дис. на здобуття наукового ступеня док. вет. наук. Харків. — 2000. — С. 54.
6. Мандыгра М. С., Куртяк Б. М., Сімонов Р. П. Лейкоз великої рогатої худоби: розробка та впровадження широкомасштабних проти лейкозних заходів в господарствах Львівської області. — Львів-Рівне, 1999. — 34 с.
7. Козырева Н. Г., Ломакина Н. Ф., Иванова Л. А. Применение и сравнение коммерческих тест-систем отечественного производства для обнаружения провируса лейкоза крупного рогатого скота методом ПЦР. Тр. ВИЭВ им. Я. Р. Коваленко, М. — Т. 75. — 2009. — С. 345–351.
8. Gross L. Pathogenic and "vertikal" transmission of the mouse leukemia agent // Proc. Soc. Exp. Biol. — 1951. — V. 78, № 4. — P. 342.
9. Virus-like particles in phytohaemagglutinin simulated lymphocyte cultures with reference to bovine lymphosarcoma / J. M. Miller, L. D. Miller, C. Olson, K. J. Jilotti // J. Natl. Canc. Inst. — 1969. — V. 43. — P. 1297–1305.

Рецензент — доктор ветеринарных наук, профессор А. В. Березовський.