

# ПОЛТАВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

## Факультет ветеринарної медицини

### Кафедра інфекційної патології, гігієни, санітарії та біобезпеки

Освітньо-професійна програма Ветеринарна медицина

Спеціальність 211 Ветеринарна медицина

Ступінь вищої освіти магістр

**ДОПУСКАЄТЬСЯ ДО ЗАХИСТУ**

Завідувач кафедри

Сергій ПЕРЕДЕРА

« \_\_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2022 р.

## КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

тема: «Заходи профілактики та оздоровлення великої рогатої худоби від лейкозу в Полтавській області».

ВИКОНАВ ЗДОБУВАЧ ВИЩОЇ ОСВІТИ

**Зерко Поліна Олександрівна**

Керівник кваліфікаційної роботи кандидат ветеринарних наук, доцент

Олена Тітаренко

Полтава – 2022 року

**ПОЛТАВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

**Факультет ветеринарної медицини**

**Кафедра інфекційної патології, гігієни, санітарії та біобезпеки**

**Пояснювальна записка**  
**до кваліфікаційної роботи**  
**на здобуття ступеня вищої освіти магістр**

**на тему «Заходи профілактики та оздоровлення великої рогатої худоби**  
**від лейкозу в Полтавській області».**

Виконав: здобувач вищої освіти  
за освітньо-професійною програмою  
Ветеринарна медицина  
спеціальності 211 Ветеринарна медицина  
ступеня вищої освіти магістр  
групи 2

Поліна Олександрівна Зерко

Керівник: Олена Тітаренко

Рецензент: Сергій Кравченко

Полтава – 2022 року

**ПОЛТАВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**  
**Факультет ветеринарної медицини**  
**Кафедра інфекційної патології, гігієни, санітарії та біобезпеки**

Освітньо-професійна програма Ветеринарна медицина  
 Спеціальність 211 Ветеринарна медицина  
 Ступінь вищої освіти магістр

**ЗАТВЕРДЖУЮ**

**Завідувач кафедри, доцент**

\_\_\_\_\_ **Сергій ПЕРЕДЕРА**

“ \_\_\_\_\_ ” \_\_\_\_\_ 2021 року

**З А В Д А Н Н Я**  
**НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА ВИЩОЇ ОСВІТИ**

Зерко Поліни Олександрівни

1. Тема роботи: «Заходи профілактики та оздоровлення великої рогатої худоби від лейкозу в Полтавській області»,

керівник роботи кандидат ветеринарних наук, доцент Тітаренко О.В.,  
 затвержені наказом ПДАУ від « \_\_\_\_\_ » « \_\_\_\_\_ » 20 \_\_\_\_\_ року № « \_\_\_\_\_ »

2. Строк подання здобувачем вищої освіти роботи « \_\_\_\_\_ » « \_\_\_\_\_ » 2022 року

3. Вихідні дані до роботи: поголів'я великої рогатої худоби господарств Полтавської області. Дослідження: епізоотологічні, лабораторні (імуноферментний аналіз, реакція імунодифузії), статистичні.

4. Перелік питань, які потрібно вирішити:

Розділ 1. Проаналізувати дані спеціальної літератури щодо характеристики збудника лейкозу великої рогатої худоби, патогенезу, клінічних ознак, патоморфології хвороби, її діагностики, профілактики та оздоровлення. Зробити висновок з огляду літератури.

Розділ 2. Розкрити питання матеріалу та методів дослідження, описати місце та умови проведення досліджень. Проаналізувати поширення лейкозу серед великої рогатої худоби. Дослідити лабораторно проби сироваток крові від великої рогатої худоби із застосуванням методу імуноферментного аналізу та в реакції імунодифузії. Проаналізувати ефективність ветеринарних заходів щодо профілактики та оздоровлення поголів'я великої рогатої худоби господарств Полтавської області. Розрахувати економічну ефективність ветеринарних заходів. Провести обговорення результатів власних досліджень.

Розділ 3. Вивчити стан охорони праці у місці виконання кваліфікаційної роботи. Проаналізувати та описати заходи безпеки у можливих надзвичайних ситуаціях на місці виконання роботи. Провести екологічну експертизу за місцем виконання завдань роботи та описати її результати.

5. Перелік графічного матеріалу: рисунки, графіки, діаграми, таблиці.

## 6. Консультанти розділів кваліфікаційної роботи

Розділ	Прізвище, ініціали та посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
Розрахунок економічної ефективності ветеринарних заходів	Олег Кручиненко, професор кафедри паразитології та ветеринарно-санітарної експертизи		
Охорона праці та безпека в надзвичайних ситуаціях	Надія Опара, доцент кафедри безпеки життєдіяльності		
Екологічна експертиза	Павло Писаренко, завідувач кафедри екології, збалансованого природокористування та захисту довкілля		

7. Дата видачі завдання «\_\_\_» «\_\_\_\_\_» 20\_\_ року

## КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапів кваліфікаційної роботи	Строк виконання етапів роботи	Примітка
1	Вибір і затвердження теми роботи	вересень 2021 р.	
2	Складання і затвердження розгорнутого плану та завдання на кваліфікаційну роботу	20 вересня 2021 р.	
3	Опрацювання літературних джерел	вересень 2021 р. – листопад 2021 р.	
4	Збір, вивчення і обробка інформації, необхідної для виконання роботи	вересень 2021 р. – листопад 2021 р.	
5	Виконання теоретичного розділу роботи	жовтень 2021 р. – грудень 2021 р.	
6	Виконання аналітичних розділів роботи	жовтень 2021 р. – січень 2022 р.	
7	Виконання спеціальних розділів	листопад 2021 р. – лютий 2022 р.	
8	Оформлення тексту роботи	березень 2022 р. – квітень 2022 р.	
9	Попередній захист роботи на кафедрі	травень 2022 р.	
10	Нормо-контроль	травень 2022 р.	
11	Доопрацювання роботи з урахуванням зауважень і пропозицій	травень 2022 р.	
12	Захист кваліфікаційної роботи	червень 2022 р.	

Здобувач вищої освіти \_\_\_\_\_ Поліна ЗЕРКО

Керівник роботи \_\_\_\_\_ Олена ТИТАРЕНКО

## ЗМІСТ

РЕФЕРАТ.....	7
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ.....	8
ВСТУП.....	9
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	
1.1. Історична довідка .....	11
1.2. Епізоотологія.....	11
1.3. Поширення.....	12
1.4. Патогенез.....	15
1.5. Симптоми та клінічний перебіг .....	16
1.6. Патологоанатомічні зміни .....	17
1.7. Діагностика.....	19
1.8. Диференційна діагностика.....	21
1.9. Стратегії проти вірусу лейкозу великої рогатої худоби.....	21
1.9.1. Повна заміна стада .....	21
1.9.2. Заміна хворого поголів'я.....	22
1.9.3. Поступове вибракування тварин.....	23
1.9.4. Корекційне управління та ветеринарна практика.....	25
1.9.5. Відбір великої рогатої худоби, стійкої до вірусу лейкозу.....	26
1.10. Ветеринарно-санітарна експертиза .....	28
1.11. Висновок з огляду літератури.....	29
РОЗДІЛ 2. ВЛАСНІ ДОСЛІДЖЕННЯ	
2.1. Матеріал та методи дослідження .....	31
2.2. Характеристика місця виконання роботи .....	35
2.3. Результати власних досліджень	
2.3.1. Діагностика лейкозу великої рогатої худоби в умовах імунологічного відділу Регіональної державної лабораторії Держпродспоживслужби в Полтавській області .....	38

2.3.2. Результати епізоотологічного аналізу.....	42
2.4. Розрахунок економічної ефективності ветеринарних заходів.....	46
2.5. Обговорення результатів власних досліджень.....	48
РОЗДІЛ 3. ОХОРОНА ПРАЦІ ТА БЕЗПЕКА	
В НАДЗВИЧАЙНИХ СИТУАЦІЯХ.....	50
РОЗДІЛ 4. ЕКОЛОГІЧНА ЕКСПЕРТИЗА.....	
ВИСНОВКИ .....	58
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	59
ДОДАТКИ.....	65

## РЕФЕРАТ

Дипломна робота викладена на 65 сторінках комп'ютерного тексту, містить 4 таблиці. Складається зі вступу, огляду літератури, власних досліджень, їх обговорення, розділів з охорони праці та безпеки в надзвичайних ситуаціях та екологічної експертизи, висновків, списку використаних джерел, додатків.

*Тема роботи:* Заходи профілактики та оздоровлення великої рогатої худоби від лейкозу в Полтавській області.

*Характер роботи:* експериментальний.

*Об'єкт досліджень:* поголів'я великої рогатої худоби.

*Мета:* визначення ефективності ветеринарних заходів щодо профілактики та оздоровлення поголів'я великої рогатої худоби у господарствах Полтавської області.

*Методи:* епізоотологічний, імуноферментного аналізу, реакція імунодифузії.

*Результати досліджень:* встановлено, що за період з 2016 по 2021 рік найбільша кількість позитивних випадків захворювання лейкозом великої рогатої худоби в Полтавській області була зареєстрована у 2019 році. Протягом 2019-2021 років в області було виявлено 14 неблагополучних господарств.

З'ясовано, що за два роки усі неблагополучні господарства області були оздоровлені, що свідчить про високу ефективність проведених заходів.

За результатами власних досліджень підтверджено велике значення проведення планової лабораторної діагностики у системі заходів профілактики та оздоровлення великої рогатої худоби від лейкозу.

Також був проведений аналіз з охорони праці та безпеки в надзвичайних ситуаціях і екологічній експертизі. На основі експериментальних даних зроблені висновки. Список використаної літератури містить 64 джерела.

*Галузь використання* – ветеринарна медицина.

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ,  
СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ**

ІФА – імуноферментний аналіз

ПЛР – полімеразна ланцюгова реакція

РІД – реакція імунодифузії

ДНК – дезоксирибонуклеїнова кислота

РНК – рибонуклеїнова кислота

МЕБ – міжнародне епізоотичне бюро

РЗК – реакція зв'язування комплементу

РІФ – реакція імунофлуоресценції

РІП – реакція радіоимунопреципітації

РН – реакція нейтралізації

ДСТУ – державний стандарт України

ДНАОП – державні нормативні акти з охорони праці

## ВСТУП

Лейкоз – 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.

В Україні лейкоз великої рогатої худоби реєструється майже у всіх областях країни, в тому числі й у Полтавській. Ця хвороба з'являється як у приватному секторі, так і у великих фермерських господарствах.

До появи сучасних методів діагностики хвороби та розробки ефективних методів боротьби і профілактики лейкоз великої рогатої худоби був дуже поширений через його вірусну етіологію.

Новітні методи діагностики дозволяють виявити інфікованих тварин на ранніх стадіях розвитку хвороби ще до прояву будь-яких клінічних ознак, що не міг забезпечити раніше гематологічний метод. Це робить більш ефективною боротьбу із цією хворобою. До таких методів відносять РІД, ІФА та ПЛР.

Під час перебігу лейкозу відбувається зміна якісних показників молока та м'яса, а також накопичення в них шкідливих для людей і тварин продуктів обміну, в тому числі і метаболітів триптофану, які мають канцерогенну дію.

Ця хвороба є небезпечною і для людини, особливо для дітей, так як у м'ясі та молоці від серопозитивних тварин є токсини, які, на відміну від самого вірусу лейкозу, не знешкоджуються термічною обробкою. Тому тема захворюваності тварин на лейкоз великої рогатої худоби буде актуальна до того часу, поки вірус буде існувати. На сьогоднішній день захворювання наносить численні збитки власникам корів, бо є невиліковним і усі тварини які є позитивно реагуючими ідуть на забій раніше строку, а молоко таких корів не можна реалізовувати без попереднього знезараження, тому що це сприяє швидкому розповсюдженню даного захворювання.

Тому обрана тема роботи «Заходи профілактики та оздоровлення великої рогатої худоби від лейкозу в Полтавській області» є досить актуальною.

Метою наших досліджень було визначення ефективності проведення ветеринарних заходів щодо профілактики та оздоровлення поголів'я великої рогатої худоби господарств Полтавської області.

Для досягнення зазначених цілей перед нами постали наступні задачі:

1. Вивчити епізоотичну ситуацію у Полтавській області щодо лейкозу великої рогатої худоби;
2. Дослідити лабораторно проби сироваток крові від великої рогатої худоби із застосуванням методу імуноферментного аналізу та в реакції імунодифузії;
3. Проаналізувати ефективність ветеринарних заходів щодо профілактики та оздоровлення поголів'я великої рогатої худоби господарств Полтавської області.

## РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

### 1.1. Історична довідка

Лейкоз (Leucosis) великої рогатої худоби (ензоотичний лейкоз) – хронічна злоякісна вірусна хвороба, що характеризується неопластичною проліферацією кровотворної та лімфоїдної тканини (лімфоцитозом), розвитком патологічних вогнищ кровотворення (мегаплазією) та порушенням процесу дозрівання кров'яних клітин (анаплазією), смертельним результатом. Виявляється у вигляді інфекційного ензоотичного лейкозу великої рогатої худоби та спорадичного лейкозу молодняка [1].

Лейкоз вперше як нову нозологічну одиницю у 1845 р. встановив німецький вчений Рудольф Л.К. у померлої жінки зі значним збільшенням лейкоцитів при дослідженні її крові. У тварин (корів чорно-строкатої породи остфриського походження) лейкоз вперше виявлено у 1876р. у Східній Пруссії. Багаторічні експерименти та аналіз літературних джерел допомогли В.П. Шишкову у 1988 р. виставити вірусно-імуногенетичну теорію етіології та патогенезу лейкозів та захворювань тварин пухлинної етіології, яка дотепер підтверджується багаточисельними дослідженнями вітчизняних та зарубіжних вчених [2].

### 1.2. Епізоотологія

Вірус лейкозу є РНК-геномним та належить до роду Deltaretrovirus, підродини Orthoretrovirinae, родини Retroviridae. Вони репродукуються через ДНК-інтермедіат за допомогою зворотньої транскрипції, з альтернативним диморфним існуванням у вигляді зрілих вірусних частинок (міжклітинна передача інфекції) чи провіруса (ДНК-копії вірусної РНК) в геномах заражених гемопоетичних та інших клітин [3].

Доведено, що вірус чутливий до температурних впливів, руйнується при заморожуваннях, що повторюються, і відтаваннях і при прогріванні при 56°C протягом 15 хв. Пастеризація (74°C протягом 16 с.) руйнує вірус лейкозу. Повна інактивація вірусу в молоці чи інших рідинах (кров, молозиво) встановлена при +50°C протягом 70 с, при +70 ... 74°C - за 17 с [4].

Передача вірусу відбувається різними шляхами, а саме: при безпосередньому контакті здорової та хворої тварин, через медичний інвентар, через комах (кліщів, сліпнів, комарів), через сперму бугаїв, трансплацентарно [5, 6].

### **1.3. Поширення**

За даними МЕБ, у деяких країнах Європи станом на 2014 рік захворюваності великої рогатої худоби на вірус лейкозу не зареєстровано (див. таблицю 1.1).

Це такі країни як: Австрія, Норвегія, Нідерланди, Великобританія, Чехія, Ірландія, Іспанія, Бельгія, Швеція, Фінляндія, Швейцарія, Данія, Словенія [2].

Такий результат країни досягли завдяки впровадженню методу «виявлення та ліквідація». Такий метод боротьби з лейкозом великої рогатої худоби є достатньо ефективним, але у той же час - жорстким і радикальним. Застосування такої програми оздоровлення потребує від держави політики компенсації збитків [7].

Багато країн надає інформацію про виявлення на їхній території інфікованих тварин у певних областях та районах. У частині країн (Німеччина, Польща, Боснія та Герцеговина, Хорватія, Естонія, Сербія, Ісландія) при дослідженні великої рогатої худоби на наявність вірусу лейкозу є позитивні випадки але клінічні прояви хвороби у таких тварин не реєструють [7].

Поодинокі випадки позитивно-реагуючих тварин також без прояву клінічних ознак є на окремих територіях Латвії, Франції та Італії [2].

А також, реєструються країни із клінічними проявами лейкозу великої рогатої худоби у тварин на певних територіях – Греція, Молдова, Угорщина, Україна, Румунія, Литва [7].

Таблиця 1.1

Епізоотична ситуація щодо лейкозу ВРХ в країнах Європи  
на початок 2014 року (за даними МЕБ)

Країна	Епізоотичний статус	Країна	Епізоотичний статус
Андорра	вільна	Молдова	на окремій території**
Австрія	вільна	Нідерланди	вільна
Азербайджан	вільна	Німеччина	реєструється*
Бельгія	вільна	Норвегія	вільна
Боснія та Герцеговина	реєструється*	Польща	реєструється*
Болгарія	реєструється*	Румунія	на окремій території**
Великобританія	вільна	Сербія	реєструється*
Вірменія	вільна	Словаччина	вільна
Греція	на окремій території**	Словенія	вільна
Грузія	вільна	Угорщина	реєструється*
Данія	вільна	Україна	реєструється**
Іспанія	вільна	Хорватія	реєструється*
Ісландія	вільна	Фінляндія	вільна
Ірландія	вільна	Франція	на окремій території*
Італія	на окремій території*	Чехія	вільна
Кіпр	вільна	Чорногорія	вільна
Латвія	на окремій території*	Швейцарія	вільна
Литва	на окремій території**	Швеція	вільна
Ліхтенштейн	вільна	Естонія	реєструється*
Люксембург	вільна	Мальта	реєструється*

Примітки: \* – без клінічного прояву захворювання; \*\* – з клінічним проявом захворювання.

Кожного року в Україну імпортують велику кількість високопродуктивної великої рогатої худоби із різних країн, що забезпечує розвиток агропромислової галузі нашої держави. Тварин завозять із багатьох країн Європи, а також з Америки [2].

Значну кількість саме племінних тварин імпортують із США та Канади, а також Чехії, Франції та Угорщини. В усіх вищезазначених країнах окрім Чехії реєструються тварини хворі на лейкоз за інформацією МЕБ. До того ж, це не тільки серологічно-позитивні а й тварини з клінічними проявами хвороби [2].

Країни, з яких відбувається імпорт чистопородних та високопродуктивних тварин, та їх кількість наведені у таблиці 1.2.

Таблиця 1.2

Імпорт великої рогатої худоби в Україну  
впродовж 2013 р. (за даними Держкомстату)

Країна	Імпортовано ВРХ, голів		
	Всього	Племінних тварин	Інших
Азербайджан	52	-	52
Естонія	148	148	-
Нідерланд	9	-	9
Німеччина	45	38	7
Польща	305	303	2
Словаччина	4	-	4
Угорщина	638	561	77
Франція	476	471	5
Чехія	661	631	30
США	376	376	-
Канада	376	376	-

Зараз небезпеку становить загроза повернення епізоотії лейкозу на території господарств, які раніше вже були оздоровлені в Україні. Поштовхом до рецидиву може стати неповноцінне проведення заходів по оздоровленню та заключних результатів по ним. В таких випадках у стаді можуть залишитися тварини-вірусоносії, що може призвести до поновлення інфекційного процесу та знову його розповсюдження серед тварин, сприйнятливих до даного захворювання [8].

В той же час, загрозу можуть становити тварини, завезені із іншої країни чи внутрішньо-переміщені з іншого господарства зі скритим перебігом хвороби на момент карантину і які не підлягли серологічній діагностиці. Оскільки Україна та інші країни-імпортери мають досить різний епізоотичний статус щодо даного захворювання великої рогатої худоби [7].

В окремих випадках інкубаційний період може бути досить тривалим і може бути першопричиною для повторного спалаху епізоотії захворювання [9].

#### **1.4. Патогенез**

При лейкозі великої рогатої худоби патогенез пов'язаний із монотропізмом вірусу до тканин органів кровотворення та імуногенетичним станом макроорганізму. Взаємодія мікро- та макроорганізмів при лейкозах проявляється у вигляді інапарантної інфекції, або гематологічних змін білої крові, або утворення пухлин кровотворних органів. Злоякісна трансформація клітин кровотворних органів характеризується складним процесом, який обумовлюється як вірусними, і клітинними генами і ферментними системами. Вірус лейкозу, перебуваючи в клітині, не викликає її загибелі, як це спостерігається практично при всіх вірусних хворобах, а сприяє порушенню процесів нормального дозрівання та диференціації клітин кровотворних органів, що призводить до злоякісного їх переродження [10, 11].

Перебуваючи у клітині, вірус лейкозу тривалий час може залишатися латентним, не провокуючи хворобу. Основним у патогенезі лейкозу є порушення нормального процесу проліферації та диференціації клітин кровотворної тканини. Найчастіше уражаються лейкобластичні клітини, що призводить до інтенсивної проліферації різних типів лейкоцитів у кровотворних органах. Неконтрольовано клітини крові, що розмножуються, поширюються по організму і потрапляють у різні органи та тканини, утворюють пухлини, що спричиняють зміни структури та функції уражених

органів внаслідок атрофії специфічних клітин. Порушення виявляються на молекулярному, клітинному та органному рівнях, що призводить до розладу кровотворення, збільшення числа лімфоцитів [12].

У хворих на лейкоз тварин виявляють зміни структури лімфоїдних клітин, рибонуклеопротеїдних комплексів, що ведуть до зміцнення зв'язку між РНК та білками. У геномі бласттрансформовані клітинні зміни розглядаються як фактори, дії яких впливають на диференціювання клітини. У деяких, найчастіше дорослих тварин, що несуть спадкову схильність, при додаткових молекулярно-біологічних та імунно-біологічних перебудовах у клітині хвороба проявляється гематологічними та рідше пухлинними змінами в органах кровотворення [13].

### **1.5. Симптоми та клінічний перебіг**

Корова-вірусоносій, не виявляючи жодних симптомів захворювання, може бути продуктивною та давати великі надії молока. У заражених лейкозом корів найчастіше народжуються здорові телята, які згодом можуть заразитися хворобою від тварин-вірусоносіїв [14].

Лейкоз великої рогатої худоби характеризується тривалим інкубаційним періодом. Найчастіше хворіють тварини старше чотирьох років. Захворювання протікає у дві стадії. На першому - гематологічному етапі лейкоз діагностують за показаннями аналізу крові. Спостерігають лейкоцитоз, головним чином за рахунок лімфоцитів - поява у периферійній крові незрілих функціонально клітин [15].

На стадії онкології стають помітними характерні клінічні ознаки. Такі явні симптоми лейкозу як: збільшені лімфатичні вузли, пухлини, зниження імунітету, виснаження, збільшена селезінка, низька продуктивність [16].

Найчастіше мають справу з ензоотичною формою лейкозу корів, що діагностується за результатами серологічних та гематологічних досліджень

крові. Його проводять навесні, а також восени у тварин, що досягли півроку [17].

У великої рогатої худоби інколи проявляється шкірна форма хвороби. По тілу корів з'являються специфічні припухлості які схожі на вузлики діаметром у межах 2,5 см. Вони добре помітні на спині, крижах, шиї та стегнах. Через декілька тижнів можна спостерігати алопеції у цих місцях, поверхня вкривається струпом, що має у складі з епітелій та ексудат. Потім скоринки відпадають, а ділянки, що облісіли, через певний час покриваються шерстю. Однак через кілька місяців після видужання відбувається рецидив з появою ідентичних ознак хвороби. Відбувається ураження вісцеральних органів з інфільтрацією і тварина гине [18].

#### **1.6. Патологоанатомічні зміни**

При неопластичній проліферації лімфоїдної тканини завжди слід підозрювати інфекцію лейкозу великої рогатої худоби при наявності солідних лімфом у кількох ділянках або дифузної інфільтрації органів. До них належать периферичні та вісцеральні лімфатичні вузли, матка, сичуг, серце (особливо праве передсердя), печінка, селезінка та нирки. Лімфоми селезінки можуть призвести до розриву і раптової смерті. Лімфоми зазвичай м'які, сіро-білі і можуть включати ділянки некрозу. Найбільш типовим клінічним проявом є збільшення лімфатичних вузлів, які можна про пальпувати [19].

Лімфоми великої рогатої худоби оцінюють за допомогою методів, розроблених для неходжкінських лімфом людини, і ця класифікаційна схема була легкою у застосуванні до гістологічної класифікації лімфом великої рогатої худоби. Переважаючий тип клітин лімфоми був дифузним типом великих розщеплених клітин, які зустрічалися у 38% ензоотичних лімфом проти 14% у спорадичних лімфомах. Мітотичні індекси ензоотичних лімфом були значно вищими, ніж мітотичні індекси у спорадичних лімфомах [20].

Гістологічне дослідження може підтвердити діагноз злоякісної лімфоми, але не може розрізнити спорадичні лімфоми та лімфоми, спричинені вірусом лейкозу великої рогатої худоби [18].

При розтині тварин, загиблих від захворювання на лейкоз великої рогатої худоби, можна спостерігати численні патологічні розростання лімфоїдної та кровотворної тканин. У більшості випадків патологічний пухлинний ріст захоплює лімфатичні вузли, ступінь ураження яких може сягати 98% [4].

При ураженні лімфатичні вузли зберігають свою форму, найчастіше залишаються м'якими та не мають підвищеної місцевої температури але значно збільшуються у розмірах, рідко мають тверду консистенцію. Мають напружену капсулу, що не дає пухлині зрощуватися із прилеглими тканинами. При розрізі такого лімфатичного вузла може витікати густа білувата рідина, поверхня даного розрізу буде мати сірувато-білий або жовтий відтінок, подекуди з крапковими крововиливами, що нагадує мозаїчний малюнок [4].

Характерними є зміни селезінки при лейкозі – орган збільшується у 7-10 разів, капсула стає напруженою. Однією з можливих причин раптової загибелі тварини при даному захворюванні є розрив селезінки, через надмірне її збільшення, та виникнення внутрішньої кровотечі. Зовні капсула може бути нерівномірно потовщена, через розростання пухлинної тканини, або не мати змін. При розрізі поверхня гладенька, пульпа насиченого малинового кольору, рихлої консистенції, іноді можна побачити зрощені лейкозні вузлики пухлинного походження. Через хворобу можна спостерігати сильну інфільтрацію пульпи, трабекул та капсули селезінки лімфоїдними клітинами.

Вірус має негативний вплив і на кістковий мозок, викликаючи в губчастій речовині розростання лейкомічної тканини. Тоді на розрізі можна спостерігати чергування нормальної тканини червоного а темно-червоного кольору з пухлинними тканинами біло-сірого кольору іноді з жовтим відтінком [13].

Патологічні зміни в серці носять дифузний, рідше вогнищевий характер. Дифузне ураження серця характеризується потовщенням стінки через

розростання вузлів лейкозної тканини різних за величиною зазвичай сірувато-білого кольору. Часто зустрічаються утворення у вигляді грон або поліпів у порожнині передсердь. Вогнищеве ураження серця характеризується появою вогнищевих уражень мозаїчної структури без видимих чітких меж. Волокна атрофовані [21].

Печінка теж може бути збільшеною в наслідок патологічного процесу. Її краї стають заокруглені, консистенція щільна, колір може наближуватися до глинистого, на розрізі може простежуватись мускатний малюнок [21].

У корів часто спостерігають ураження матки та яєчників, що супроводжується потовщенням стінок рогів, тіла та шийки матки, а також патологічним розрощенням тканини у яєчниках, яка нагадує саркому [22].

### **1.7. Діагностика**

Діагностичні дослідження на лейкоз проводять серологічним, молекулярно-біологічним, клінічним, гематологічним, патоморфологічним методами та методом біопроби. Клінічні ознаки виявляються, як правило, у заключній стадії розвитку хвороби, у діагностиці захворювання вони мають лише допоміжне значення. Основу прижиттєвої діагностики лейкозу великого рогатої худоби становить серологічний метод дослідження – реакція імунодифузії в агаровому гелі (РІД) та імуноферментний аналіз (ІФА) [23].

Серологічний метод діагностики заснований на виявленні у сироватці крові тварин за допомогою РІД антитіл до антигену ВЛКРС. Специфічні антитіла з'являються в крові великої рогатої худоби через 2 місяці після зараження, тобто значно раніше, ніж гематологічні зміни і зберігаються довічно [23].

З-поміж позитивно реагуючих у РІД та ІФА тварин (інфікованих ВЛ ВРХ) за допомогою гематологічного методу виявляють хворих (гематологічно хворих) лейкозом. Негативні результати в РІД повинні бути перевірені ще раз у

скринінговому ІФА (с-ІФА). Тварин, що негативно реагують, визнаються вільними від ВЛ ВРХ (здоровими) [4].

Крім того, для діагностики лейкозу застосовують інші реакції: зв'язування комплементу (РЗК); імунофлуоресценції (РІФ); радіоімунопреципітації (РІП); нейтралізації (РН). Ці методи спрямовані на виявлення антитіл до одного з двох структурних білків ВЛКРС - gp24 і p51 [24, 25].

Полімеразна ланцюгова реакція, або ПЛР – максимально чутливий з усіх відомих методів діагностики на сьогоднішній день. Дозволяє виявити наявність вірусу в організмі вже через 1-2 тижні після зараження. Великою перевагою цього методу є можливість дослідження поголів'я з 15-денного віку [23].

В Україні основним методом прижиттєвої діагностики лейкозу є реакція імунодифузії (далі - РІД) та імуноферментний аналіз (далі - ІФА). Крім того, ІФА застосовують у благополучних стадах для дослідження об'єднаної проби молока від групи тварин. Для дослідження особливо цінних тварин та для арбітражних висновків застосовується полімеразно-ланцюгова реакція (далі - ПЛР) [23].

Клініко-гематологічний, патолого-анатомічний та гістологічний методи застосовують для визначення стадії розвитку хвороби, морфологічної природи лейкозу в серопозитивних тварин [23].

Гематологічний метод дослідження полягає у виявленні в периферичній крові підвищеного числа лейкоцитів, в основному лімфоїдного ряду, та слабодиференційованих клітин (пролімфоцитів, лімфобластів), а також поліморфних, атипових клітин кровотворних органів [23].

Підрахунок лейкоцитів проводять за допомогою електронного лічильника або в камері Горяєва, а відсоткове співвідношення окремих форм лейкоцитів крові - в пофарбованому мазку під мікроскопом [18].

Діагноз на лейкоз вважають установленим за наявності одного з таких позитивних результатів: при серологічному дослідженні в РІД; при дослідженні за допомогою ІФА та ПЛР [23].

При виявленні в благополучному господарстві в окремих тварин клініко-гематологічних, патолого-анатомічних або гістологічних змін діагноз уточнюють за допомогою РІД, ІФА або ПЛР [23].

У разі виникнення суперечок щодо висновків лабораторної діагностики лейкозу ВРХ на вимогу власника тварини Інститут з лабораторної діагностики проводить арбітражне дослідження, але не пізніше ніж через 15 діб після першого взяття крові. Відбір проб крові в таких випадках проводиться комісійно за участю спеціалістів ветеринарної медицини. Результати арбітражних досліджень є остаточними [23].

## **1.8. Диференційна діагностика**

Варто брати до уваги низку хронічних інфекційних хвороб великої рогатої худоби (актиномікоз, туберкульоз, паратуберкульоз, бруцельоз), а також деякі незаразні захворювання (гепатити, цирози, амілоїдну дистрофію та інші захворювання печінки, мастити, пневмонії, ретикуло-перикардити, нефрити), що супроводжуються лейкозоподібними змінами гематологічних показників, які називають лейкемоїдними реакціями [26].

## **1.9. Стратегії проти вірусу лейкозу великої рогатої худоби**

### **1.9.1. Повна заміна стада**

Якщо захворюваність тварин у господарстві дуже висока (становить більше 30%), то можлива повна його ліквідація та заміна його на здорових тварин із інших благополучних ферм та районів [23].

При такій стратегії оздоровлення після забою останньої тварини господарство повинно пройти повну дезінфекцію засобами, зазначеними у

методичних документах – 2-х% розчини їдкого натрію, хлорного вапна, формаліну, 5% р-н кальцинованої соди та інші дезінфікуючі засоби, зареєстровані в Україні. Тільки після цього можуть бути завезені тварини із благополучного господарства [23].

Цей метод є дуже ефективним але у той же час потребує значних економічних витрат. Не кожне господарство спроможне виділити велику суму грошей за короткий проміжок часу [27, 28].

### **1.9.2 Заміна хворого поголів'я**

Стратегія полягає у виявленні та усуненні вірус-інфікованої великої рогатої худоби. Цей підхід вимагає ідентифікації позитивних тварин за допомогою гематологічних, геномних або серологічних методів, негайного видалення позитивних тварин із стада та здача їх на забій не пізніше як через 15 діб після встановлення діагнозу [23].

В залежності від методу, яким проводиться тестування, заходи по оздоровленню можуть бути такими:

1. Якщо діагностика спирається на реакцію імунодифузії, то дослідженню підлягають тварини віком від 6 місяців кожні 10-30 днів до отримання по стаду негативного результату. Далі термін подовжується і перевірку роблять кожні 30-45 діб до отримання поспіль двох негативних результатів. Ще два роки досліджують планово щокварталу.
2. Якщо діагностика спирається на імуноферментний аналіз, то тварини, що досягли 6-ти місяців мають проходити дослідження на лейкоз кожні 30-45 діб до отримання двох послідовних негативних результатів. Надалі, протягом терміну у два роки проводять планове дослідження поголів'я кожні півроку [23].

Ця методологія допомогла досягти статусу вільного від вірусу лейкозу великої рогатої худоби у стадному та регіональному масштабах протягом

відносно короткого періоду часу в порівнянні з іншими альтернативами. Доказом ефективності цієї стратегії є успішне викорінення хвороби в кількох країнах Західної Європи [18].

Хоча цей підхід був ефективним, його здійсненність зустрічається з деякими важливими обмеженнями. Ключовим обмеженням є те, що початковий рівень поширеності інфекції не повинен бути високим через досить високу економічну вартість. Таким чином, ця стратегія може бути особливо виправданою для племінних порід з високим генетичним потенціалом, а також для експорту в країни, вільні від цієї хвороби. Тим не менш, навіть коли рівень зараження низький, метод є обтяжливим через діагностику, передчасне вибракування та заміну реакторів. Необхідно також враховувати втрату генетичного та репродуктивного потенціалу [18, 29].

Насправді ця стратегія вимагає, щоб державна політика економічної компенсації була успішною. Якщо місцева влада не вживає офіційних заходів щодо субсидування, витрати на реалізацію такої стратегії швидко перевищують потенційні вигоди [4].

### **1.9.3. Поступове вибракування тварин**

Інший підхід спрямований на зменшення частини витрат шляхом відокремлення замість вибракування інфікованих тварин. Програми контролю, засновані на сегрегації, вимагають виявлення серопозитивних тварин і утримання інфікованих і серонегативних стад у строго відокремлених приміщеннях. Було запропоновано, щоб мінімальна відстань у 200 метрів мала розділяти два стада, щоб уникнути передачі інфекції. Альтернативний варіант – утримувати тварин на одній фермі та вести їх окремо. Для досягнення оптимальних результатів з будь-яким із цих варіантів слід застосовувати окреме обладнання або принаймні ретельну дезінфекцію та гігієну одноразового обладнання [18].

Основною перевагою цього підходу є зниження дорогих втрат через примусове передчасне вибракування та заміну лейкоз-позитивних тварин. Незважаючи на те, що цей тип програми досить вимогливий, він був корисним для зниження поширеності або навіть досягнення ліквідації захворювання. Недоліком є те, що існує постійний ризик реінтродукції інфікованих тварин, і, отже, це може бути повільніше, ніж варіант «тестувати та ліквідувати» [13].

Підходи до видалення/сегрегації вимагають точної та регулярної ідентифікації інфікованих тварин. Дискримінація вірус-інфікованих тварин із стада спочатку проводилася шляхом гематологічного скринінгу на основі кількості лейкоцитів. Згодом більш чутливі та специфічні методики (наприклад, імунодифузійний тест на агаровому гелі та імуноферментний аналіз) стали рутинними методами діагностики. Ці серологічні аналізи, проведені на сироватці або молоці, широко використовувалися і стали офіційними тестами, рекомендованими для міжнародної торгівлі [13].

Однак ці тести можуть ввести в оману, оскільки наявність антитіл проти вірусу лейкозу великої рогатої худоби не обов'язково означає, що тварини інфіковані і навпаки. Справді, між інфекцією та сероконверсією є «латентний» період у кілька тижнів. Крім того, телята можуть мати антитіла до вірусу лейкозу через материнські антитіла з молозива або після пологів. Значна частина цих телят залишиться неінфікованою, хоча вони несуть антитіла [4].

Тому більш точним способом моніторингу інфекції є ПЛР. Лейкоз-інфіковану велику рогату худобу можна також класифікувати відповідно до їх провірусного навантаження. Фактично, провірусне навантаження в периферичній крові є прогностичним маркером ризику передачі. Таким чином, цю класифікацію можна використовувати як критерій для дискримінації та усунення/сегрегації високоінфікованих корів. Крім технічних проблем (забруднення), недоліками ПЛР-діагностики є вищі витрати та потреба у більш складному обладнанні [13].

Також за кордоном впроваджують інші методи оздоровлення господарств від вірусу лейкозу великої рогатої худоби: корекційне управління та ветеринарна практика і відбір великої рогатої худоби, стійкої до вірусу лейкозу.

#### **1.9.4. Корекційне управління та ветеринарна практика**

Цей тип підходу спрямований на обмеження передачі інфікованих вірусом лейкозу клітин, присутніх у крові, молоці, виділеннях, шприцах або хірургічних інструментах [4].

Серед різноманітних заходів контролю, які можуть бути запроваджені в плані попереджувального або коригувального управлінського контролю, найважливішими практиками є наступні:

- (I) використання індивідуальних, одноразових голок і шприців під час вакцинації або терапевтичних маніпуляцій;
- (II) використання індивідуальних одноразових акушерських рукавів (або принаймні заміна між дослідженнями серопозитивних і неінфікованих тварин);
- (III) використання одноразового обладнання (або принаймні очищення, дезінфекція або стерилізація багаторазових матеріалів та хірургічних інструментів) у таких процедурах, як видалення рогів, татування, імплантація, припікання, кастрація або маркування вух;
- (IV) використання електричних або газових спалюючих пристроїв, а не обладнання для різання під час видалення рогу;
- (V) годування телят молозивом або незбираним молоком від неінфікованих маток, пастеризованим молозивом від вірус-інфікованих корів або заміником молока;
- (VI) знищення комах, особливо в густонаселених районах ферм (доїльні райони, вільні стійла, амбари) з метою мінімізації потенційної передачі між тваринами через переносників членистоногих;

- (VII) природне та/або штучне запліднення та перенесення ембріонів за допомогою самок і биків вільних від вірусу лейкозу великої рогатої худоби.

Інші потенційно корисні заходи контролю можуть включати: (I) запобігання введенню інфікованих тварин у стадо шляхом тестування та карантину/ізоляції новоприбулих; (II) розділяти тварин за віком, щоб зменшити контакти (III) мінімізувати переміщення тварин між групами доїння/годування; (IV) використовувати індивідуальні будки для новонароджених телят; та (V) обмежити доступ сторонніх відвідувачів [18].

У порівнянні зі стратегіями тестування та усунення/сегрегації, підхід «коригувального менеджменту та ветеринарних практик» очевидно більш рентабельний. Не потрібні ні інвестиції в приміщення, ні вивезення інфікованої худоби, ні постійний нагляд за серологічним статусом стада. Недоліки підходу до корекційного управління полягають у тому, що практика є інтенсивно трудомісткою та вразливою до змін навколишнього середовища та людини. У зв'язку з цим необхідно розглянути ретельну оцінку зусиль, необхідних перед зарахуванням до плану коригувального управління [30].

Необхідно суворе дотримання заходів, а також необхідна довгострокова взаємодія з програмою, доки не буде виявлено плідну користь від цієї стратегії. Крім того, можна розглянути відповідну підготовку персоналу та працівників ферми щодо запобігання інфікуванню та поширенню вірусу лейкозу великої рогатої худоби та методів біозахисту. Ефективність стратегії «коригувального менеджменту та ветеринарної практики», заснованої виключно на суворих санітарних заходах, все ще викликає суперечки [21].

#### **1.9.5. Відбір великої рогатої худоби, стійкої до вірусу лейкозу**

Програми тваринництва використовують вибір генетичних ознак, сприятливих для виробництва (наприклад, удій, ріст, відтворення). В принципі, можна було б вибрати породи, менш сприйнятливі або навіть стійкі до даної

інфекції. На імунну реакцію та спадкову резистентність або сприйнятливість до інфекції впливає головний комплекс гістосумісності господаря. Антиген бичачих лімфоцитів (BoLA) відноситься до основного комплексу гістосумісності у видів великої рогатої худоби (*Bos taurus* і *Bos indicus*). Припускається, що генетичні фактори господаря визначають сприйнятливість великої рогатої худоби до вірусу лейкозу [18].

Ранні дослідження спочатку приписували зв'язок між резистентністю або сприйнятливістю великої рогатої худоби до розвитку субклінічної і серологічно визначеними алелями класу I BoLA-A. Однак частоти алелей BoLA-A суттєво розходяться між породами і асоціація не була підтверджена на рівні популяції. Більш чутливі аналізи показали, що розвиток хвороби, більш тісно пов'язаний з генами DRB2 класу II. Подальша характеристика генів у локусі BoLA класу II засвідчила, що найсильніша асоціація зі стійкістю або чутливістю до вірусу відповідала поліморфізму гена DRB3 класу II, єдиного, що активно транскрибується серед трьох генів DRB [4].

Відбір тварин, стійких до вірусу лейкозу великої рогатої худоби на основі генетичних ознак, стикається з низкою обмежень. По-перше, релевантність та статистичну значущість ідентифікованих маркерів необхідно проаналізувати на рівні популяції. Для оцінки ефективності та наслідків селекції на основі цих маркерів необхідні масштабні дослідження різних порід. Ймовірно, що для досягнення надійного та ефективного відбору знадобиться ідентифікація інших поліморфізмів BoLA або генів резистентності. Генетична стійкість до інфекції, здається, є складним механізмом під контролем кількох генів, кожен з яких незначно впливає на фенотип [31].

Погана відповідність між специфічними алелями однозначно вказує на те, що інші вірусні або генетичні, епігенетичні та/або екологічні фактори сприяють наслідку інфекції. У цьому сценарії може стати важко визначити пріоритет одного алеля над іншим як абсолютним генетичним маркером відбору для відбору стійкої до лейкозу великої рогатої худоби [32].

Друге обмеження полягає в тому, що відбір тварин, стійких до вірусу, стикається з великим ризиком через звуження генетичного фонду популяції великої рогатої худоби. Ця втрата біорізноманіття особливо важлива для стійкості до інших патогенів. З іншого боку, відбір на стійкість до лейкозу також може мати несприятливий вплив на корисні властивості продуктивності. У цьому сенсі слід зазначити, що гуморальна імунна відповідь на інші економічно важливі вірусні захворювання (наприклад, ящур, вірус герпесу великої рогатої худоби 1 типу та вірус вірусної діареї великої рогатої худоби) не зазнала негативного впливу у великій рогатій худобі, яка несуть алель DRB3.2\*0902. Можливо, більш важливою проблемою є те, що відбір на основі стійкості до хвороб також може мати несприятливий вплив на показники продуктивності [18].

Через ці обмеження переваги програм відбору на стійкість до вірусу лейкозу великої рогатої худоби можуть не досягти позитивного співвідношення переваги та вартості [18].

В Україні всі заходи щодо лейкозу проводять згідно «Інструкції з профілактики та оздоровлення великої рогатої худоби від лейкозу» [23].

### **1.10. Ветеринарно-санітарна експертиза**

При дослідженні туш великої рогатої худоби на пунктах ветеринарно-санітарної експертизи та виявленні лейкозних уражень 80 і більше відсотків лімфатичних вузлів, паренхіматозних органів, не звертаючи уваги на вгодованість туші, її утилізують разом із усіма внутрішніми органами та іншими продуктами забою, інколи залишають шкуру [33].

У разі виявлення ураження лише деяких окремих лімфатичних вузлів чи органів, але за відсутності ознак ураження у скелетних м'язах, вражені органи піддаються утилізації, а туша та інші органи можуть бути використані далі вже у залежності від мікробіологічного дослідження [23].

Якщо у туші відсутні патологічні зміни, викликані захворюванням на лейкоз, але до цього є позитивний результат у гематологічному та серологічних дослідженнях, таке м'ясо відправляють на переробку для виготовлення варених ковбас або м'ясних консервів [33, 34].

Шкури використовують після дезінфекції, якщо була виявлена шкірна форма лейкозу великої рогатої худоби, шкури утилізуються [23].

Від позитивно-реагуючих корів, які знаходяться в ізоляції від здорових тварин, забороняється використовувати молоко, яке не пройшло попередньої обробки та знезараження. Таке молоко повинно пройти пастеризацію не менше як при 80°C на цьому ж господарстві і потім може бути використаним для вигодовування телят або для здачі на молокозавод [35,36].

Молоко від корів, у яких спостерігаються клінічні прояви цієї хвороби, використовувати категорично забороняється. Перед утилізацією його знезаражують шляхом додавання розчинів креоліну, формальдегіду чи іншого дезінфікуючого засобу [23].

Якщо позитивно-реагуючі тварини знаходяться окремо від негативно-реагуючих, то молоко від здорового стада дозволяється використовувати без обмежень [33, 37].

### **1.11. Висновок з огляду літератури**

Сьогодні в Україні налічується багато фермерських господарств із різною кількістю поголів'я великої рогатої худоби. У різних областях країни зараз неоднакова епізоотична ситуація щодо захворюваності на лейкоз.

Лейкоз – 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 лімфної тканин, утворенням у різних органах пухлин.

Лейкоз завдає великих економічних збитків через вимушений достроковий забій, загибель тварин, значне зниження продуктивності стада (часто на лейкоз хворіє високопродуктивна велика рогата худоба), виділення окремих будівель для лейкоз-позитивних тварин, закупівля для них окремого інвентарю або додаткову кількість дезінфікуючих засобів.

Зараз небезпеку становить загроза повернення епізоотії лейкозу на території господарств, які раніше вже були оздоровлені в Україні. Поштовхом до рецидиву може стати неповноцінне проведення заходів по оздоровленню та заключних результатів по ним. В таких випадках у стаді можуть залишитися тварини-вірусоносії, що може призвести до поновлення інфекційного процесу та знову його розповсюдження серед тварин, сприйнятливих до даного захворювання.

В Україні всі заходи щодо лейкозу проводять згідно «Інструкції з профілактики та оздоровлення великої рогатої худоби від лейкозу».

В Україні основним методом прижиттєвої діагностики лейкозу є реакція імунодифузії (РІД) та імуноферментний аналіз (ІФА). Крім того, ІФА застосовують у благополучних стадах для дослідження об'єднаної проби молока від групи тварин. Для дослідження особливо цінних тварин та для арбітражних висновків застосовується полімеразно-ланцюгова реакція (ПЛР).

Діагноз на лейкоз вважають установленим за наявності одного з таких позитивних результатів: при серологічному дослідженні в РІД; при дослідженні за допомогою ІФА та ПЛР.

## РОЗДІЛ 2. ВЛАСНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

### 2.1. Матеріал та методи досліджень

Робота була виконана на базі імунологічного та епізоотологічного відділів Регіональної державної лабораторії Держпродспоживслужби в Полтавській області та на кафедрі інфекційної патології, гігієни, санітарії та біобезпеки Полтавського державного аграрного університету.

Об'єктами для дослідження були:

- 1) тваринницькі господарства Полтавської області;
- 2) поголів'я великої рогатої худоби, що підлягало дослідженню.

Матеріалом для дослідження були:

- 1) проби сироваток крові великої рогатої худоби;
- 2) дані досліджень, проведених у лабораторії;
- 3) матеріали звітності за останні 6 років (у період з 2016 по 2021 рік) щодо проведення планових імунологічних досліджень;
- 4) плани по заходам боротьби та профілактики лейкозу великої рогатої худоби в Полтавській області.

Для проведення досліджень були використані такі методи [38]:

- 1) епізоотологічний аналіз;
- 2) серологічний;
- 3) метод імуноферментного аналізу;
- 4) статистичний.

Був проведений збір звітних даних про проведення планових лабораторних досліджень у імунологічному відділі Регіональної державної лабораторії Держпродспоживслужби в Полтавській області за останні 6 років.

Проведений глибокий аналіз зібраного матеріалу щодо поліпшення чи погіршення ситуації у окремих районах Полтавської області та ефективності заходів профілактики та боротьби із хворобою.

Проводилася постановка серологічних реакцій на виявлення антитіл до вірусу лейкозу великої рогатої худоби у реакції імунодифузії (РІД) та шляхом імуноферментного аналізу (ІФА). Усі дослідження були проведені згідно інструкцій. Відбір крові, приготування сироватки та доставка матеріалу була проведена спеціалістами районних лікарень ветеринарної медицини або ветеринарними лікарями господарств згідно з чинною інструкцією та методичними вказівками.

Дослідження щодо виявлення антитіл до вірусу лейкозу великої рогатої худоби проводили методом імуноферментного аналізу за допомогою тест-системи ID Screen BLV Competition. Дослідження проводили згідно з інструкцією та з використанням відповідного обладнання [39].

ID Screen BLV Competition – конкурентний імуноферментний аналіз для виявлення антитіл проти BLV gP51 в сироватці чи плазмі крові великої рогатої худоби (окремі зразки або пулів до 10).

Тест-система призначена для виявлення антитіл проти глікопротеїну gP51 вірусу лейкозу в індивідуальних зразках сироватки крові, а також у пулі із 10 сироваток крові великої рогатої худоби конкурентним методом імуноферментного аналізу (ELISA).

Лунки мікропланшета адсорбовані очищеним глікопротеїном gP51 вірусу лейкозу.

При внесенні у лунки мікропланшета дослідних та контрольних зразків сироваток, антитіла, анти-gP51, якщо вони були присутні, утворювався комплекс антиген-антитіло, який маскує епітопи gP51.

Після етапу промивання в лунки вносили кон'югат анти-gP51, помічений пероксидазою, який зв'язується з вільними епітопами вірусу, утворюючи комплекси антиген – кон'югат-HPR. Після промивання мікропланшета в лунки

додавали субстратний розчин (ТМБ). Реакцію зупиняли, додаючи стоп-реагент (див. додаток В).

Зафарбування розчину в лунках свідчило про відсутність чи наявність в досліджуваних зразках антитіл проти вірусу лейкозу:

- При відсутності антитіл розчин забарвлювався в синій колір, який ставав жовтим після додавання стоп-реагенту;
- При наявності антитіл розчин не забарвлювався.

Оптичну щільність розчину вимірювали за допомогою фотометра при довжині хвилі 450 нм (див. додаток В).

Компоненти: мікропланшет з адсорбованим у лунках очищеним антигеном вірусу лейкозу, концентрат кон'югау (10 х), позитивний контрольний зразок, негативний контрольний зразок, буферний розчин 2, концентрат промивного розчину (20 х), субстратний розчин, стоп-реагент (0,5 М).

1. Кон'югат, контрольні сироватки та субстратний розчин зберігали при температурі +5°C ( $\pm 3^\circ\text{C}$ ).
2. Інші реактиви зберігали при температурі +2°C та +26°C.
3. Усі компоненти, які мають однакові назви (розчин для промивання, розчинники) використовували до всієї гамми продукції IDvet.

Додаткові матеріали та обладнання:

1. Дозатори одноканальні та 8-канальні, відкалібровані до об'ємів 10  $\mu\text{l}$ , 100  $\mu\text{l}$ , 200  $\mu\text{l}$ .
2. Одноразові наконечники для дозаторів.
3. Фотометр оптичної щільності для 96-лункового мікропланшета.
4. Дистильована та деіонізована вода.
5. Ручна чи автоматична установка для промивання мікропланшетів.

При підготовці зразків для запобігання різниці в часі інкубації зразків заздалегідь вносили всі дослідні та контрольні зразки в окремий 96-лунковий мікропланшет, потім переносили багатоканальним дозатором на робочий мікропланшет (див. додаток В).

При підготовці розчину для промивання доводили концентрат розчину для промивання (20х) до кімнатної температури перед розведенням. При наявності кристалів розчин ретельно перемішували.

Для приготування розчину для промивання (1х) розводили концентрат розчину (20х) у співвідношенні 1:20 у дистильованій/деіонізованій воді (див. додаток В).

Дослідження сироваток крові великої рогатої худоби щодо лейкозу в реакції імунодифузії на агаровому гелі проводили згідно інструкції тест-системи РІД «Набір компонентів рідких стабілізованих для серологічної діагностики лейкозу великої рогатої худоби в реакції імунодифузії (РІД)» ТОВ «НДП «Ветеринарна медицина» м. Харків, РП № ВВ-00555-06-13 [40].

Склад тест-системи РІД (див. додаток Г):

- Антиген вірусу лейкозу великої рогатої худоби рідкий стабілізований – густа рідина світло-жовтого або темно-жовтого кольору, інколи з рожево-оранжевим відтінком. Випускається у флаконах по 1-30 мл (20 – 600 доз, одна доза – 0,05 мл).
- Агаро-сольова суміш – суха аморфна маса білого кольору. Випускається у поліетиленових пакетах або стерильних флаконах масою нетто від 10 г до 150 г.
- Штамп «Харківського зразку» для вирізання лунок в агаровому гелі в чашках Петрі, прямокутний або шестикутний (додається до Набору за попередньою заявою споживача).

Одноіменні специфічні антиген та антитіло, розташовані на визначеній відстані один від одного в агаровому гелі, дифундують та утворюють при зустрічі преципітат у вигляді білих ліній. У випадку невідповідності антигену та антитіл лінії преципітації не утворюються.

Суть реакції - виявлення в сироватці крові великої рогатої худоби специфічних преципітуючих антитіл до антигенів вірусу лейкозу великої рогатої худоби.

При постановці реакції агаро-сольову суміш відважували у потрібній кількості, переносили до вимірювальної колби, доливали дистильованою водою до кількості, що зазначена на етикетці, перемішували до отримання однорідної суспензії. Колбу з суспензією поміщали у киплячу водяну баню, та, перемішуючи, витримували 50-60 хвилин до утворення прозорого однорідного агару-гелю.

Чашки Петрі розміщували на строго горизонтальній поверхні. Розплавлений агар-гель розливали у чашки Петрі по 15,0 мл за допомогою вимірювальної піпетки. Після витримання чашок Петрі при кімнатній температурі 15-20 хвилин за допомогою прямокутного або шестикутного штампів вирізали лунки, та за допомогою вакуумного насоса видаляли агаро-гелеві диски. Підготовлені чашки Петрі розміщували на підставці стерилізатора або в іншій герметичній камері, на денці якої налито шар води 1-2 см, але так, щоб вода не доторкувалась до чашок Петрі (див. додаток Г).

Також ми провели розрахунок економічної ефективності заходів, проведених за останні роки.

## **2.2. Характеристика місця виконання роботи**

Регіональна державна лабораторія Держпродспоживслужби в Полтавській області знаходиться за адресою вул. Миру, 2, с. Горбанівка Полтавського району, Полтавської області.

Лабораторія у своїй роботі керується «Законом України про ветеринарну медицину» та здійснює різні види діагностичних досліджень. Діяльність лабораторії виконується таким чином, щоб відповідати вимогам стандарту ДСТУ EN ISO/IEC 17025:2019 «Загальні вимоги до компетентності випробувальних та калібрувальних лабораторій», вимогам замовника, регуляторних органів та організацій, що надають визнання.

Всі роботи з прийому зразків та проведення випробувань проводяться на основній території лабораторії [17].

У лабораторії регулярно проводиться інструктаж з техніки безпеки з наступною реєстрацією в журналі.

Регіональна державна лабораторія Держпродспоживслужби в Полтавській області уповноважена для державного контролю за видами (напрямами) лабораторних досліджень (випробувань): проведення органолептичних, мікробіологічних, молекулярно-генетичних, імуноферментних, хіміко-токсикологічних, фізико-хімічних, біохімічних, радіологічних, патологоанатомічних та гістологічних випробувань зразків харчової продукції, сировини тваринного, рослинного, біотехнологічного походження, кормів, води та біологічних матеріалів; визначення показників будь-яких речовин (у тому числі з довкілля), які пов'язані з виробництвом та/або обігом харчових продуктів та кормів, здоров'ям та благополуччям тварин [17].

До складу лабораторії входять такі відділи: епізоотологічний, бактеріологічний, відбору та реєстрації зразків продукції, ветеринарно-санітарної експертизи, вірусологічний, імунологічний, патоморфологічний, радіологічний, хіміко-токсикологічний, паразитологічний, загальновиробничий. Також є віварій для тварин.

Приміщення та умови довкілля придатні для здійснення діяльності лабораторією та негативно не впливають на достовірність результатів. Умови, що можуть негативно вплинути на достовірність результатів, можуть включати, але не обмежуються, такими як мікробіологічне забруднення, пил, електромагнітні завади, радіація, вологість, електропостачання, температуру, рівень шуму та вібрація.

Вимоги до лабораторних приміщень та умов проведення випробувань задокументовані (встановлені) в: ДНАОП 2.1.20-1.03-99; методиках проведення

випробувань; відповідних нормативно-правових документах; експлуатаційних документах на обладнання; відповідних робочих інструкціях лабораторії.

У приміщеннях відділів регулярно проводиться дезінфекція та кварцювання. Вимоги до порядку та чистоти робочих приміщень визначаються у робочих інструкціях в залежності від видів випробувань, що проводяться в даному приміщенні, з урахуванням ДНАОП 2.1.20-1.03-99.

На території лабораторії розміщена утилізаційна установка УТ-100:

- Країна виробник – Україна.
- Максимальне завантаження камери 100 кг;
- Об'єм камери 0,18 м<sup>3</sup>,
- Зовнішні розміри камери: ширина – 66 см, висота – 81 см, довжина – 107 см, дверний просвіт 460x510 мм, висота із трубою 4000 мм;
- Вага 630 кг;
- Димар – нержавіюча сталь; електропідключення – 220 В, 50 Гц, 10 А; операційна температура до 1300; в наявності терморегулятор.

В установці утилізується увесь патологічний матеріал, що надходить до лабораторії та усі розхідні матеріали, що були використані під час лабораторних досліджень.

Полтавська область – адміністративно-територіальна одиниця України з центром у місті Полтава, складається з 4 районів. Розташована у середній частині Лівобережної України. Більша частина області лежить у межах Придніпровської низовини та Полтавської рівнини. Площа області – 28748 км<sup>2</sup>, населення – 1466786 осіб.

Полтавська область межує з Харківською, Київською, Дніпропетровською, Черкаською, Кіровоградською, Чернігівською та Сумською областями України.

Полтавська область розташована у лісостеповій та степовій природних зонах.

На території зустрічається більше 240 видів наземних хребетних тварин, у тому числі 180 видів птахів, 42 – ссавців та 10 земноводних. 64 види тварин (27 %) є рідкісними, із них до Європейського Червоного списку занесені 6 видів, Червоної книги України – 17, регіонального списку – 48. Вони репрезентують водно-болотний (25), лісовий (24) та лучно-степовий (25) фауністичні комплекси.

Екологічні коридори водно-болотних угідь великих, середніх та малих річок області, острови, водосховища та інші акваторальні екосистеми є міграційними шляхами численних перелітних видів птахів.

### **2.3. Результати власних досліджень**

#### **2.3.1. Діагностика лейкозу великої рогатої худоби в умовах імунологічного відділу Регіональної державної лабораторії Держпродспоживслужби в Полтавській області.**

В усіх господарствах Полтавської області здійснюють планові дослідження сироваток крові від поголів'я великої рогатої худоби методом імуноферментного аналізу, що є більш чутливим у порівнянні з реакцією імунодифузії в агаровому гелі, та дозволяє виявити інфікованих тварин раніше і тим самим зменшити час їх перебування серед сприйнятливих тварин.

Планові дослідження на лейкоз великої рогатої худоби приватного сектора проводили лише за допомогою реакції імунодифузії в агаровому гелі.

На вимогу власника тварини лабораторія проводить дослідження сироватки крові корови методом ІФА за кошти замовника.

Планові дослідження поголів'я починали проводити навесні у другому кварталі календарного року.

Всього було проведено досліджень за 2016 рік - 225098; 2017 - 211982; 2018 - 204714; 2019 - 195026; 2020 - 169368; у 2021 році – 106149 (див. додаток Б).

Дослідження щодо виявлення антитіл до вірусу лейкозу великої рогатої худоби проводили методом імуноферментного аналізу за допомогою тест-системи ID Screen BLV Competition. Дослідження проводили згідно з інструкцією та з використанням відповідного обладнання (див. додаток В).

При проведенні процедури аналізу всі реагенти набору перед використанням були кімнатної температури ( $21 \pm 5$ )°C та перемішані.

Коротка інкубація (індивідуальні зразки сироватки крові та пул сироваток):

1. Вносили:

- 80 мкл Буферного розчину 2 в кожен лунку мікропланшета;
- 20 мкл Позитивного контролю в лунки А1 та В1;
- 20 мкл Негативного контролю в лунки С1 та D1;
- 20 мкл кожного зразка в усі інші лунки.

2. Інкубували 45 хвилин  $\pm 4$  хвилини при температурі  $+21^\circ\text{C}$  ( $\pm 5^\circ\text{C}$ ).

Нічна інкубація (індивідуальні зразки сироватки крові та пул сироваток):

1. Вносили:

- 190 мкл Буферного розчину 2 в кожен лунку;
- 10 мкл Позитивного контролю в лунки А1 та В1;
- 10 мкл Негативного контролю в лунки С1 та D1;
- 10 мкл кожного зразка в усі інші лунки.

2. Інкубували від 16 до 20 годин при температурі  $+4^\circ\text{C}$  ( $\pm 2^\circ\text{C}$ )

Далі всі маніпуляції були однакові для короткої та для нічної інкубації.

3. Підготували Кон'югат (1х) шляхом розведення концентрату кон'югата (10х) у співвідношенні 1:10 у Буферному розчині 2.

4. Промивали мікропланшет тричі Розчином для промивання, вносячи 300 мкл в кожен лунку. Уникали висихання лунок між етапами промивання.

5. Вносили 100 мкл Кон'югату (1х) в кожен лунку.

6. Інкубували 30 хвилин  $\pm 3$  хвилини при температурі  $+21^{\circ}\text{C}$  ( $\pm 5^{\circ}\text{C}$ ).
7. Промивали мікропланшет тричі Розчином для промивання, вносячи 300 мкл в кожну лунку. Уникали висихання лунок між етапами промивання.
8. Вносили 100 мкл Субстратного розчину в кожну лунку.
9. Інкубували 15 хвилин  $\pm 2$  хвилини при температурі  $+21^{\circ}\text{C}$  ( $\pm 5^{\circ}\text{C}$ ) у темноті.
10. Вносили 100 мкл Стоп-реагенту в кожну лунку для зупинки реакції.
11. Вимірювали оптичну щільність (ОП) при довжині хвилі 450 нм.

Враховували те, що якість промивання мікропланшету може впливати на результат аналізу. Для підвищення точності рекомендовано використовувати 5 циклів промивання замість 3-х після внесення Кон'югату.

При валідації результати тесту вважали достовірними, якщо середнє значення оптичної щільності негативного контролю (ОПк-) було більше 0,7:

$$\text{ОПк-} > 0,7$$

Відношення між середніми значеннями ОП позитивного контролю (ОПк+) та негативного контролю (ОПк-) менше, ніж 0,3:  $\text{ОПк+}/\text{ОПк-} < 0,3$

Для інтерпретації результатів для кожного зразка розраховували значення S/N%:

$$\frac{S}{N} \% = \frac{\text{ОПзразка}}{\text{ОПк-}} \times 100\%$$

Для індивідуальних зразків сироватки крові, а також пулу з 10 сироваток крові нічної та денної інкубації (див. таблицю 2.1):

Таблиця 2.1

Значення S/N% для інтерпретації результатів

Значення	Імунний статус
$S/N \% \leq 50\%$	Позитивний
$50\% < S/N \% < 60\%$	Сумнівний
$S/N \% \geq 60\%$	Негативний

Облік та інтерпретацію результатів РІД проводили через 48 годин:

Досліджувану сироватку вважали позитивною, якщо вона утворювала з антигеном специфічні, чіткі лінії преципітації, ідентичні до контрольної позитивної сироватки.

Інколи були утворення подвійної лінії преципітації, що свідчило про наявність двох антитіл до глікопротеїну р 24 та протеїну gP51 вірусу лейкозу.

Досліджувану сироватку вважали слабопозитивною, якщо вона утворювала вигин з контрольною позитивною сироваткою у напрямку лунки з антигеном без формування видимої лінії преципітації з цим антигеном.

Досліджувані сироватки вважали негативними, якщо вони не утворювали специфічної лінії преципітації з антигеном а також у випадках, коли контрольна позитивна сироватка не утворює вигин в напрямку лунки з антигеном.

Позитивна реакція імунодифузії з утворенням одинарних або подвійних специфічних чітких ліній преципітації в агаровому гелі свідчила про інфікованість тестуємих тварин вірусом лейкозу. Негативна реакція про відсутності специфічних ліній преципітації свідчила, що тестуємі тварини серонегативні до антигену вірусу лейкозу.

Реакцію імунодифузії вважали сумнівною, якщо її не можна вважати ні позитивною, ні негативною, керуючись вище вказаними критеріями оцінки.

Реакцію імунодифузії вважали нечитабельною (недійсною), якщо контролі не давали очікуваних результатів.

Тварини, від яких була одержана сироватка крові з сумнівними результатами імунодифузії, або охарактеризована як слабопозитивна, підлягали обов'язковому повторному дослідженню через 2-3 тижні.

Неспецифічні лінії преципітації були характерні тим, що не зливались (поглинались) або ж відхилялись від ліній, що утворювалися контрольною позитивною сироваткою.

### 2.3.2. Результати епізоотологічного аналізу

Результати епізоотологічного аналізу свідчать про те, що Полтавська область є неблагополучною щодо лейкозу великої рогатої худоби.

Результати лабораторних досліджень щодо лейкозу великої рогатої худоби у Полтавській області за період 2016-2021 років відображені у таблиці 2.2.

Результати планових лабораторних досліджень щодо лейкозу великої рогатої худоби у Полтавській області за період 2016-2021 років.

Таблиця 2.2

Рік	Всього досліджено, голів	Позитивно реагуючих, голів
2016	225098	152
2017	211982	243
2018	204714	792
2019	195026	2167
2020	169368	799
2021	106149	231

Із даної таблиці видно, що кількість планових досліджень поголів'я великої рогатої худоби зменшувалась, а кількість позитивних випадків спочатку зростала (пік у 2019 році – 2167 позитивних випадків), а потім знов спадала, але не досягла показників 2016 року.

У відсотковому вираженні кількість позитивно реагуючих тварин у 2016 році складало лише 3% від загальної кількості за 6 років досліджень, у 2017 році – 6%, у 2018 році – 18%, а у 2019 році ця цифра сягнула вже 49%, далі, у 2020 році знизилася до 18%, а у 2021 році показник склав 5%.

Результат аналізу позитивної динаміки епізоотії свідчить про те, що у 2019 році було переглянуто систему нагляду та контролю за дотриманням планів по ліквідації вірусу лейкозу великої рогатої худоби на території області.

Але, враховуючи дуже велику різницю у кількості дослідженого поголів'я у 2016 та 2021 роках, ми порівняли дані показники для повноцінної оцінки епізоотичного стану господарств станом на 2016 та 2021 роки.

Для цього ми вирахували відсоткове співвідношення позитивно реагуючих тварин до негативно реагуючих за 2021 рік:

$$\frac{100}{106149} \times 231 = 0,22\%$$

Далі ми прирівняли отриманий результат до дослідженого поголів'я у 2016 році:

$$\frac{0,22}{100} \times 225098 \approx 495$$

Таким чином, ми отримали показник позитивних випадків близько 495 у 2021 році, якби кількість досліджених зразків була такою ж як у 2016 році.

Але, якщо порівнювати спалах у 2019 році, коли кількість лейкоз-позитивних тварин перевищила 2 тисячі голів, то у минулому році, завдяки активним заходам боротьби із лейкозом та дії програми часткової грошової компенсації власникам вимушено забитих тварин у зв'язку із хворобою протягом 2-3 років кількість позитивних випадків значно зменшилась, що свідчить про високу ефективність обраних заходів оздоровлення у господарствах.

В результаті аналізу звітності Головного управління Держпродспоживслужби в Полтавській області у 2019 році ми з'ясували, що відповідно до чинної інструкції та за результатами лабораторних досліджень було виявлено 14 господарств неблагополучних щодо лейкозу великої рогатої худоби у Полтавській області, зокрема у таких районах: Гадяцькому – 2, Глобинському – 2, Зіньківському – 2, Лохвицькому – 1, Лубенському – 1, Оржицькому – 1, Хорольському – 4, Чорнухинському - 1.

Господарства цих районів за рішеннями ДНПІК при РДА в установленому порядку були оголошені неблагополучними по лейкозу та затверджені плани заходів по їх оздоровленню згідно дотримання чинної «Інструкції з профілактики та оздоровлення великої рогатої худоби від лейкозу», затвердженої наказом Державного комітету ветеринарної медицини України №21 від 21.12.2007 (див. додаток А).

У зв'язку з цим було здійснено наступні заходи оздоровлення у господарствах:

- 1) господарства були об'явлені неблагополучним щодо лейкозу великої рогатої худоби;
- 2) розроблені плани основних заходів щодо оздоровлення великої рогатої худоби від лейкозу, проведені епізоотологічні обстеження господарств щодо встановлення шляхів потрапляння збудника лейкозу великої рогатої худоби, проведений чіткий облік, ідентифікація та реєстрація тварин;
- 3) поголів'я великої рогатої худоби господарств досліджували методом ІФА, починаючи з 6-ти місячного віку в Регіональній державній лабораторії Держпродспоживслужби в Полтавській області;
- 4) протягом 2-х років після оздоровлення проводили серологічний контроль по ІФА;
- 5) при виявленні тварин, позитивно реагуючих по ІФА, здійснювали їх негайну здачу на забій;
- 6) була накладена заборона на використання молока від тварин, які позитивно реагували, без попереднього знезараження для громадського харчування, згодовування тваринам та реалізації його на ринках;
- 7) здійснювали формування окремих груп позитивно реагуючих тварин з відокремленням їх від поголів'я, які прореагували негативно;
- 8) після кожного дослідження та ізоляції хворих тварин проводили дезінфекцію приміщень і обладнання. Для дезінфекції застосовували 2-х%

розчини їдкого натрію, хлорного вапна, формаліну, 5% р-н кальцинованої соди та інші дезінфікуючі засоби, зареєстровані в Україні;

9) хворих тварин забивали на бійнях та м'ясопереробних підприємствах після проведення попереднього огляду з видачею відповідних супровідних документів;

10) здійснювали повну інвентаризацію всього наявного поголів'я та проводили інвентаризацію всіх тварин, починаючи з 7 денного віку.

Завдяки проведенню заходів, прописаних у чинній інструкції, у відносно короткий термін було оздоровлено 11 господарств Полтавської області.

Станом на 01.01.2020 р. у трьох неблагополучних господарствах Глобинського, Оржицького та Чорнухинського районів області оздоровчі заходи тривали.

Станом на 01.01.2021 р. в області було зареєстровано один неблагополучний пункт по лейкозу ВРХ у Оржицькому районі.

В решті господарств, де мали місце виявлення поодиноких випадків хвороби, проводили оздоровчі заходи згідно чинної інструкції.

При цьому, позитивно реагуючих по ІФА тварин здавали на забій, а в тваринницьких приміщеннях проводили дезінфекцію.

В одному з господарств Оржицького району, що було неблагополучним по лейкозу ВРХ, оздоровлення було розпочато в лютому 2019 року.

За 2020 рік досліджено методом ІФА 6640 проб сироваток, із них позитивно виявлено 37 проб. Всі 37 хворих тварин здано на забій.

Заходи по оздоровленню поголів'я ВРХ тривали згідно плану.

Станом на 01.01.2022 р. усі господарства області були оздоровлені та з них зняті карантинні обмеження.

За період першого кварталу 2022 року на жодне господарство не було накладено карантинних обмежень у зв'язку із лейкозом великої рогатої худоби. Планові дослідження тривають.

## 2.4. Розрахунок економічної ефективності ветеринарних заходів

Впровадження програми по оздоровленню стада вимагає певних економічних затрат, як і при будь-якому захворюванні тварин.

Розмір збитків буде напряму залежати від кількості інфікованих тварин, кількості тварин з клінічними проявами хвороби, наявності чи відсутності додаткових приміщень, обладнання та інвентарю.

Хвороба на різних стадіях може спричинити падіж серед стада, необхідність вимушеного забою тварин, зниження продуктивності, особливо це помітно у високопродуктивних корів, втрата живої маси, відставання у розвитку і рості.

Так, коефіцієнт захворюваності на даній фермі ми розраховували за допомогою формули [41]:

$$K31 = M_{зг} : M_{сг}, \text{ де:}$$

$M_{зг}$  – число захворілих тварин в окремому господарстві, гол.;

$M_{сг}$  – загальне поголів'я сприйнятливих тварин в окремому господарстві, гол.;

За отриманими даними можна легко оцінити епізоотичну ситуацію у конкретному господарстві чи районі, що дає змогу розробити найбільш ефективний план по оздоровленню господарства та привести його в дію у відносно короткі терміни.

Скориставшись такою ж формулою, ми підраховали коефіцієнт захворюваності у Полтавській області станом на 2021 рік.

$$231 \div 106149 = 0,0022$$

Як ми бачимо, відносний коефіцієнт захворюваності на всю область невеликий, що говорить про успіхи у впровадженні програм по ліквідації та профілактиці лейкозу великої рогатої худоби в даній місцевості.

Ми порахували економічні збитки господарства, яке провело вимушений забій тварин [41, 42, 43].

Для цього скористалися формулою:

$$З1 = М \times Ж \times Ц - Вф, \text{ де:}$$

М – кількість загиблих, вимушено забитих, знищених тварин, гол.;

Ж – середня жива маса однієї тварини, кг;

Ц – закупівельна ціна одиниці продукції, грн;

Вф – виручка від реалізації продуктів забою, трупної сировини, грн.

$$5 \times 524 \times 43,7 - 52924 = 61570$$

Якщо припустити, що господарство вимушено забило 5 корів молочного напрямку середньої вгодованості, то із розрахунків ми бачимо що збитки є більшими за виручені кошти від вимушеного забою.

Також ми порахували втрати від зниження продуктивності хворих на лейкоз тварин за рахунок порівняння з продуктивністю здорових тварин [44, 45, 46]:

$$З3 = М \times (Вз - Вхв) \times Т \times Ц, \text{ де:}$$

М – кількість захворілих тварин (ялових маток), гол.;

Вз і Вхв – середньодобова кількість продукції (молока, м'яса) одержана відповідно від здорових та хворих тварин в розрахунку на одну голову, кг;

Т – тривалість спостереження за зміною продуктивності тварин (період карантину, неблагополуччя, перехворювання), днів;

Ц – закупівельна ціна одиниці продукції, грн.

$$5 \times (14,7 - 11,4) \times 15 \times 10,86 = 2687,85$$

Згідно вищезазначеної формули, за 15 днів (максимальний термін утримання тварин на фермі до вимушеного забою) господарство недоотримує з удоїв п'яти хворих корів 2687,85грн.

## 2.5. Обговорення результатів власних досліджень

Результати епізоотологічного аналізу за період 2016-2021 років свідчать про те, що Полтавська область є неблагополучною щодо лейкозу великої рогатої худоби.

Завдяки використанню більш сучасних методів лабораторної діагностики, зокрема ІФА, є змога виявляти інфікованих тварин на ранніх стадіях, чим забезпечується успішне проведення заходів по боротьбі із даною хворобою.

Кількість планових досліджень поголів'я великої рогатої худоби протягом 2016-2021 років зменшувалась, а кількість позитивних випадків спочатку зростала (пік у 2019 році – 2167 позитивних випадків), а потім знов спадала, але не досягла показників 2016 року.

В результаті аналізу звітності Головного управління Держпродспоживслужби в Полтавській області у 2019 році ми з'ясували, що відповідно до чинної інструкції та за результатами лабораторних досліджень було виявлено 14 господарств неблагополучних щодо лейкозу великої рогатої худоби.

Господарства цих районів за рішеннями ДНПІК при РДА в установленому порядку були оголошені неблагополучними по лейкозу та затверджені плани заходів по їх оздоровленню згідно дотримання чинної «Інструкції з профілактики та оздоровлення великої рогатої худоби від лейкозу», затвердженої наказом Державного комітету ветеринарної медицини України №21 від 21.12.2007.

Завдяки проведенню заходів, прописаних у чинній інструкції, у відносно короткий термін було оздоровлено 11 господарств Полтавської області.

Результат аналізу позитивної динаміки епізоотії свідчить про те, що у 2019 році було переглянуто систему нагляду та контролю за дотриманням планів по ліквідації вірусу лейкозу великої рогатої худоби на території області.

За 2020 рік досліджено методом ІФА 6640 проб сироваток, із них позитивно виявлено 37 проб. Всі 37 хворих тварин здано на забій.

Заходи по оздоровленню поголів'я ВРХ тривали згідно плану.

Станом на 01.01.2022 р. усі господарства області були оздоровлені та з них зняті карантинні обмеження.

За період першого кварталу 2022 року на жодне господарство не було накладено карантинних обмежень у зв'язку із лейкозом великої рогатої худоби.

Розроблені програми дають змогу повністю оздоровлювати стада всього протягом 2-3 років за умов постійної планової діагностики та дотримання карантинних обмежень.

Також є необхідність більш детального вивчення питання про програми відшкодування державою збитків від вимушено забитих тварин. Це дозволить господарствам із низьким відсотком захворюваності поголів'я (до 5%) вводити метод оздоровлення типу «тестування та ліквідація», тобто швидкий забій хворих тварин із частковою заміною стада.

Тож в умовах сьогоднішньої економічної ситуації в країні фермерам вигідніше впроваджувати програми типу «тестування та сегрегація», тому що цей метод є менш затратним, особливо для господарств, де захворюваність на порядок вища (5-30%).

За 15 днів максимального терміну утримання тварин на фермі до вимушеного забою господарство недоотримує з удоїв п'яти хворих корів 2687,85 грн.

З метою профілактики лейкозу і надалі необхідно здійснювати:

- 1) подальше проведення планових досліджень поголів'я у господарствах за допомогою імуноферментного аналізу;
- 2) поступове впровадження імуноферментного аналізу для діагностики тварин із приватного сектора;
- 3) дотримання карантинних норм при закупівлі тварин з інших господарств, особливо закордонних;
- 4) посилення контролю дотримання заходів по оздоровленню господарств згідно чинної інструкції.

## РОЗДІЛ 3. ОХОРОНА ПРАЦІ ТА БЕЗПЕКА В НАДЗВИЧАЙНИХ СИТУАЦІЯХ

Лабораторія — це установа, що забезпечує контрольовані умови, в яких можуть проводитися наукові або технологічні дослідження, експерименти та вимірювання [47].

Працівник лабораторії - це будь-який, хто здійснює діяльність у лабораторії. А також особи, які проводять дослідження тощо, це включає роботу з технічного обслуговування та прибирання [48, 49].

### Загальні правила гігієни на робочому місці

До всіх лабораторій слід застосовувати такі правила, щоб запобігти перехресному зараженню потенційно небезпечними речовинами [50]:

- У лабораторіях заборонено їсти, пити чи жувати жуйку;
- Не слід наносити косметику, в тому числі бальзам для губ за робочим місцем;
- Не вдягайте у приміщенні контактні лінзи (за винятком екстрених випадків);
- Перед виходом з лабораторії ретельно вимийте руки;
- Довге волосся потрібно зав'язати назад;
- Слід уникати вільного одягу (наприклад, рукава) та звисаючих ювелірних виробів;
- Не носіть відкрите взуття (шльопанці, сандалі);
- Прикривайте порізи та рани, наприклад пластиром;
- Не слід користуватися мобільними телефонами;

Усі працівники лабораторії несуть відповідальність за утримання свого робочого місця в чистоті та порядку:

- Ставте та використовуйте лише обладнання/хімічні речовини тощо, які необхідні для поточної робочої діяльності;
- Зберігайте невикористане обладнання/хімічні речовини належним чином і у відведених для цього місцях;
- Утилізуйте сміття негайно та у відповідні контейнери для сміття – предмети не повинні залишатися на лавках/підлозі;
- Тримайте пішохідні доріжки/аварійні виходи чистими – хімікати тощо не слід зберігати на підлозі;
- Негайно прибирайте розливи;
- Після завершення приберіть робочу зону та залиште її в безпечному стані [51, 52].

#### Засоби індивідуального захисту

Працівники лабораторії повинні:

- Що відноситься до засобів індивідуального захисту – гумові рукавички, бахали, шапочки, халати, лабораторні костюми, бахали, маски, окуляри;
- Одягати відповідні засоби індивідуального захисту (ЗІЗ), коли потрібно;
- Зберігати ЗІЗ належним чином, коли вони не використовуються;
- Не надягайте потенційно забруднені рукавички, викиньте їх після зняття;
- Замініть ЗІЗ, якщо вони пошкоджені/несправні [48, 53, 54];
- 

#### Робоче обладнання

Перевірка робочого обладнання перед початком роботи:

- Переконайтеся, що робоче обладнання в справному робочому стані та якісно відремонтовані;
- Переконайтеся, що робоче обладнання використовується відповідно до інструкцій з експлуатації / виробника;

- Перед використанням переконайтеся, що робоче обладнання безпечно для використання та в хорошому стані, наприклад, що електричні проводи не пошкоджені;
- Переконайтеся, що електрообладнання знаходиться подалі від легкозаймистих матеріалів та води;
- Знати, як безпечно вимкнути обладнання в разі аварійної ситуації
- Перед використанням перевірте скляний посуд на наявність тріщин, подряпин та гострих країв. Викиньте, якщо посуд не придатний для використання [51,55].

-

#### Вимоги газової безпеки

- Використання газових балонів зведено до мінімуму в лабораторії для контролю ризику пожежі/задушення – невикористані балони слід негайно повертати у зовнішні газові сховища;
- Усі газові балони закріплені окремо і не залишаються на візках;
- Регулятори газових балонів замінюються кожні 5 років відповідно до інструкцій;
- Монітори кисню встановлюють у лабораторіях, де оцінка ризику була визначена потенційною асфіксією. Їх слід розташувати належним чином.
- Користувачі лабораторних газів отримують відповідну інформацію, інструктаж та навчання з безпечного використання газів і переміщення балонів, включаючи те, що робити в надзвичайній ситуації

Працівники лабораторії повинні:

- Користуйтеся газовими балонами відповідно до їх підготовки;
- Будьте обізнані, що робити у разі надзвичайної ситуації, наприклад витік газу, звуки моніторингу кисню;
- Періодично перевіряйте пристрої безпеки, такі як монітори кисню, щоб переконатися, що вони функціонують правильно [47, 56].

-

### Безпечне поводження з криогенними матеріалами

- Використання рідкого азоту/кардису в будівлях зведено до мінімуму та в добре вентильованих приміщеннях, щоб запобігти ризику асфіксії;
- Наповнення Дьюара з контейнерів для безтарного зберігання здійснюється тільки підготовленими користувачами;
- Користувачі криогенних матеріалів отримують відповідну інформацію, інструкції та навчання щодо безпечного використання, включно з тим, що робити в надзвичайній ситуації.
- Зберігання криогенних контейнерів здійснюється в добре провітрюваних приміщеннях, морозильні камери/холодильні камери непридатні.

Працівники лабораторії повинні:

- Використовуйте криогенні матеріали відповідно до своєї підготовки;
- Носити відповідні ЗІЗ;
- Використовувати щипці, щоб дістати предмети;
- Витягати повільно – уникайте розбризкування/кип'ятіння;
- Використовувати кришки, що не кріпляться, ніколи не закривайте їх;
- Використовувати лише контейнери, призначені для криогенного використання;
- Періодично перевіряти пристрої безпеки, такі як монітори кисню, щоб переконатися, що вони функціонують правильно [48, 57].

### Забезпечення та дотримання знаків безпеки

- Забезпечте відповідні знаки та сигнали, якщо це визначено оцінкою ризику;
- Переконайтеся, що знаки та сигнали чисті та розбірливі та залишаються такими;
- Це стосується форм операційної інструкції для нічних експериментів і експериментів без нагляду;
- Дотримуйтесь знаків і сигналів і дотримуйтесь попереджень/інструкцій, поданих на знаку.

Запобіжні заходи при проведенні лабораторних досліджень методом імуноферментного аналізу:

1. Не піпетувати розчини ротом;
2. Субстратний розчин може викликати роздратування на шкірі у випадку контакту з нею;
3. Стоп-реагент (0,5 М) може бути небезпечним при ковтанні. Уникати контакту зі шкірою (S24-37). При контакті зі шкірою можлива гіперчутливість (R22-43);
4. Не залишати субстратний розчин під дією прямих сонячних променів та не допускати його окиснення;
5. Дезактивувати усі розчини перед утилізацією.

Спеціальні застереження для осіб і обслуговуючого персоналу при постановці реакції імунодифузії:

1) відкриття флаконів та робота з компонентами здійснюється в умовах спеціалізованих приміщень;

2) при роботі з антигеном та сироватками уникати попадання їх на шкіру та слизові оболонки;

3) Інфіковані вірусом проби знешкоджують автоклавуванням під тиском 2 кг/см<sup>2</sup> за температури 130°C протягом 45 хвилин.

Недотримання елементарної техніки безпеки на робочому місці може призвести до різних по тяжкості надзвичайних ситуацій, в першу чергу, правил, розроблених для збереження життя і здоров'я кожного працівника установи [58, 59].

## РОЗДІЛ 4. ЕКОЛОГІЧНА ЕКСПЕРТИЗА

Екологічна експертиза – особливий науково-практичний вид діяльності, який базується на дослідженні, оцінці та аналізі екологічних міжгалузевих зв'язків об'єктів на різних етапах їх будувannya і пов'язаних із цим поточних або майбутніх впливів на навколишнє середовище, спричинених їх роботою [60].

В нашій країні дані питання врегульовуються Законом України «Про оцінку впливу на довкілля» [61] а також Законом «Про охорону навколишнього природного середовища» [62].

Після проведення даної експертизи видається відповідний висновок, щодо поточної або майбутньої діяльності об'єкта у межах вимог екологічного законодавства. В залежності від результату (позитивного або негативного) проводяться подальші корекції у роботі підприємств з можливістю повторного проведення екологічної експертизи після виправлення недоліків, які були виявлені напередодні [60].

Законом України прописано, що експлуатація об'єктів чи подальше проведення певних видів діяльності, які становлять високу екологічну небезпеку заборонено без наявності позитивного висновку комісії по державній екологічній експертизі. Адміністративна відповідальність передбачається для осіб, які порушують встановлені норми [62, 63].

Існують різні види екологічних експертиз, в тому числі державна та громадська. Кожен новий об'єкт підлягає проходженню експертизи та отримання відповідного заключного висновку на підставі законів України [61].

Так, проходженню експертизи підлягають:

- усі проекти по розміщенню нових продуктивних потужностей у галузі господарства;
- схеми розвитку населених пунктів, районів та будь-яка перед проектна документація;

- проекти по реконструкції об'єктів, будівництва нових підприємств у будь-якій формі власності, які в подальшому можуть завдати негативного впливу на оточуюче середовище;
- нові речовини, технічне обладнання, матеріали та документи на них та ін.

Територія Регіональної державної лабораторії Держпродспоживслужби в Полтавській області, яка знаходиться за адресою вул. Миру, 2, с. Горбанівка Полтавського району, Полтавської області, обнесена високим цільним парканом, має чотири окремі будівлі:

1. Будівля, у якій знаходяться дві приймальні (для патологічного матеріалу і для відбору та реєстрації зразків продукції), а також різні відділи для досліджень матеріалу (патоморфологічний, хіміко-токсикологічний, вірусологічний, бактеріологічний, паразитологічний, імунологічний);
2. Будівля, у якій розташовано радіологічний відділ та епізоотологічний відділ;
3. Будівля для виведення та утримання піддослідних тварин;
4. Будівля із бухгалтерією та іншими приміщеннями.

Усі входи до відділів, де проводять дослідження закриті, двері відмикаються індивідуальними ключами-картами. При вході обов'язково знаходиться дезкилим, який мінімум два рази на день обробляється разом із проведенням дезінфекції у відділах розчином «Велідез» [64]. Після завершення кожного робочого дня проводиться дезінфекція приміщень з використанням ультрафіолетових ламп.

У кожного співробітника є декілька індивідуальних комплектів спецодягу, які проходять дезінфекцію 1-2 рази на тиждень у автоклаві, а також комплекти одноразового одягу, які утилізуються після зняття.

Усі речовини, використані під час проведення досліджень, одноразові інструменти, а також дослідний біоматеріал, в тому числі і трупи тварин, обов'язково утилізуються в крематорії (утилізаційній печі).

Кожен відділ забезпечений мийками із централізованим водопостачанням, оснащений бойлерами. Воду після миття нею багаторазового посуду, знезаражують і тільки потім вона потрапляє у загальну каналізаційну систему.

У відділах є холодильні та морозильні камери, окремі для зберігання патологічного матеріалу для дослідження і для діагностиків за відповідних до інструкцій температур. У деяких відділах є спеціальні витяжки та ламінарні шафи.

Балони із різними газами постійно проходять планові перевірки на спеціальних заводах, у кімнатах їх зберігання розміщені спеціальні датчики кисню та інших газів.

Висновок: в умовах Регіональної державної лабораторії Держпродспоживслужби в Полтавській області здійснюють всі заходи для того, щоб максимально забезпечити безпеку навколишнього природного середовища.

## ВИСНОВКИ

1. За період з 2016 по 2021 рік найбільша кількість позитивних випадків захворювання лейкозом великої рогатої худоби в Полтавській області була зареєстрована у 2019 році - 2167 тварин.
2. В період із 2019 року по 2021 рік було виявлено 14 неблагополучних щодо лейкозу великої рогатої худоби господарств на території Полтавської області.
3. За 2 роки усі неблагополучні господарства були оздоровлені, що доводить високу ефективність заходів ліквідації лейкозу в Україні, зокрема в Полтавській області.
4. Станом на 01.01.2022 року в Полтавській області не зареєстровано жодного господарства, на яке було б накладено карантинні обмеження з приводу захворювання поголів'я великої рогатої худоби на лейкоз.
5. За період першого кварталу 2022 року на жодне господарство області не було накладено карантинних обмежень у зв'язку із лейкозом.
6. Підтверджено велике значення проведення планової лабораторної діагностики лейкозу у системі заходів профілактики та оздоровлення великої рогатої худоби від хвороби.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Макаров В.В. Лейкоз крупного рогатого скота. РВЖ №2(6). 2020. С. 18- 26.
2. Корольов А.Г. Історія лабораторії вивчення лейкозів в національному науковому центрі «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини». Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини». 2013. С. 37 - 44.
3. Лейкоз крупного рогатого скота [Електронний ресурс]. Режим доступу: <http://z-ferma.by/article/> (звернення: 10.04.2020)
4. Enzootic bovine leukosis EFSA Panel on Animal Health and Welfare (АНАВ) / Charlotte Berg et al. SCIENTIFIC OPINION. 2015. 63 p.
5. Напрямки запобігання рецидиву епізоотії лейкозу великої рогатої худоби. Горбатенко С.К., Шаповалова О.В., Корнейков О.М., Зданевич П.П., Ветеринарна медицина, випуск №98. 2014. С. 84 – 87.
6. Лейкоз великої рогатої худоби [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://consumerhm.gov.ua/viddil-bezpechnosti-kharchovykh-produktiv>
7. Закономірності поширення лейкозу великої рогатої худоби в Україні та фактори, що його обумовлюють. Мандигра С.С., Ничик С.А., Бусол В.О., Любар Н.В., Ветеринарна біотехнологія №28. 2016. С. 173 – 181.
8. Епізоотична ситуація в Україні станом на жовтень 2015 року [Електронний ресурс] – <http://www.ait-magazine.com.ua/news/epizootichna-situaciya-v-ukrayini-stanom-na-zhovten-2015-roku>
9. Лейкоз великої рогатої худоби [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://www.hrytsivrada.gov.ua/leykoz-velykoi-rohatoi-khudoby/>
10. Bovine leukemia virus gene segment detected in human breast tissue. M. Giovanna et al. Open J Med Microbiol. 2013. P. 84–90.
11. Вплив лейкозної інфекції на резистентність великої рогатої худоби та якість продукції в Україні. Башенко М.І., Горбатенко С.К., Корнейков О.М., Вісний аграрної науки. 2015. С. 5 – 10.

12. The descriptive epidemiology of female breast cancer: an international comparison of screening, incidence, survival and mortality. D.R. Youlten et al. *Cancer Epidemiol.* 2012. P. 237–248.
13. Epidemiology and genetic diversity of bovine leukemia virus [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://virologyj.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12985-017-0876-4>
14. Вживання молочної продукції від лейкозних корів може призвести до розвитку лейкозу в організмі людини [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://kulykivska-gromada.gov.ua/news/1562774723/> (звернення: 09.07.2019)
15. Bovine Leukaemia Virus: Current Epidemiological Circumstance and Future Prospective / Marawan A. et al. *Viruses*. 2021.
16. Deep sequencing reveals abundant noncanonical retroviral microRNAs in B-cell leukemia / N. Rosewick et al. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013. P. 2306–2311.
17. Регіональна державна лабораторія Держпродспоживслужби в Полтавській області [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://clarity-project.info/edr/00703173>
18. Preventive and Therapeutic Strategies for Bovine Leukemia Virus: Lessons for HTLV / Sabrina M. Rodríguez et al. *Viruses*, 2011.
19. Современные аспекты лейкоза крупного рогатого скота / Стегний Б.Т., Шаповалова О.В., Горбатенко С.К. и др. *Ветеринарна медицина*. 2013. С. 242 – 255.
20. Chapter. Enzootic Bovine Leukosis OIE Terrestrial Manual. P. 12, 2012.
21. The recent prevalence of bovine leukemia virus (BLV) infection among Japanese cattle / Murakami K et al. *Vet Microbiol.* 2011. P. 84 – 88.
22. Molecular characterization of the env gene from Brazilian field isolates of Bovine leukemia virus / Camargos M.F. et al. *Virus Genes*. 2007.

23. Інструкція з профілактики та оздоровлення великої рогатої худоби від лейкозу. 2007. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0012-08#Text>
24. Серологічні методи діагностики лейкозу великої рогатої худоби. Кісера Я.В., Науковий вісник ЛНУВМБТ ім. С.З.Гжицького. 2012. 338 с.
25. Імобілізація антигену ретровірусу лейкозу великої рогатої худоби на поверхні імуного біосенсора. Пирогова Л.В., Стародуб М.Ф., Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України. Київ. 2008. С. 52 – 58.
26. Options for the control of bovine leukemia virus in dairy cattl / Bartlett P.C. et al. JAVMA, 2014. P. 914–922.
27. Лейкоз на селі. Особливості боротьби з лейкозом в особистих господарствах [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://propozitsiya.com/ua/leykoz-na-seli-osoblivosti-borotbi-z-leykozom-v-osobistih-gospodarstvah> (звернення: 11.06.2012)
28. Инфекционные болезни животных. Бессарабов Б. Ф., Вашутин А. А., Воронин Е. С. и др.; Под ред. Сидорчука А. А.. М.: Колос, 2007. 671 с.
29. Профілактичні заходи з запобігання лейкозу великої рогатої худоби. Головне управління Держпродспоживслужби в Дніпропетровській області, 2021. Режим доступу: <https://dp.dpss.gov.ua/news/profilaktichni-zahodi>
30. Jimba M. BLV-CoCoMo-qPCR: Quantitation of bovine leukemia virus proviral load using the CoCoMo algorithm, 2010. 19 p.
31. Valproate activates bovine leukemia virus gene expression, triggers apoptosis, and induces leukemia/lymphoma regression in vivo / Achachi A. et al. Proc Natl Acad Sci U S A, 2005. P. 10309 – 10314.
32. OIE World Animal Health InformationDatabase (WAHID Interface) [Електронний ресурс]. Режим доступу: [http://web.oie.int/wahis/public.php?page=disease\\_status\\_detail](http://web.oie.int/wahis/public.php?page=disease_status_detail) (accessed on 27 April 2011)

33. Напрацювання нових методів профілактики та ліквідації небезпечних інфекційних хвороб тварин [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://consumer-cv.gov.ua/blog/2018/01/22/na-chasi-napratsyuvannya-novyh-metodiv-profilaktyky-ta-likvidatsiyi-nebezpechnyh-infektsijnyh-hvorob-tvaryn-dnpg/> (звернення: 22.12.2018)
34. Наказ про затвердження «Правил перед забійного ветеринарного огляду тварин і ветеринарно-санітарної експертизи м'яса та м'ясних продуктів» № 28 від 07.06 2002 р.
35. Evermann J. Cause for Concern: Bovine Leukemia Virus. Ag animal health Veterinary Medicine Extension. Washington State University. 2014. 5 p.
36. Лейкоз великої рогатої худоби. Здобутки та перспективи. Горбатенко С.К., Шаповалова О.В., Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини». м. Харків. 2013. С. 169 – 172.
37. Walsh R.B. et al. Evaluation of enzyme-linked immunosorbent assays performed on milk and serum samples for detection of neosporosis and leukosis in lactating dairy cows. Can Vet J. 2013. P. 347-352.
38. Загальнонаукові методи дослідження і їх застосування в економічних і фінансових дослідженнях [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://elearn.nubip.edu.ua/mod/book/tool/print/index.php?id=151271>
39. Інструкція до тест-системи ID Screen BLV Competition. IDvet. 310, rue Louis Pasteur – Grabels – FRANCE
40. Інструкція до «Набір компонентів рідких стабілізованих для серологічної діагностики лейкозу великої рогатої худоби в реакції імунодифузії (РІД)» ТОВ «НДП «Ветеринарна медицина» м. Харків. РП № ВВ-00555-06-13
41. Організація та економіка ветеринарної справи: підручник. Євтушенко А. Ф., Радіонов М. Т. [для студентів вищих навчальних закладів]. Київ: Арістей. 2004. 284 с.

42. Постанова про затвердження «Порядку і правил проведення обов'язкового страхування тварин на випадок загибелі, знищення, вимушеного забою, від хвороб, стихійних лих та нещасних випадків» №509 від 23 квітня 2003 р.
43. Аналітичні дослідження цінових тенденцій у сфері закупівлі великої рогатої худоби, свиней і молока в Україні та країнах ЄС / Демчак І. М., Митченко О. О., Солошонок А. Л. та ін. К.: НДІ «Укragenпромпродуктивність». 2019. 36 с.
44. Кручиненко О. В., Вітязь М. В. Методичні рекомендації по визначенню економічної ефективності ветеринарних заходів для семінарських занять та самостійної роботи студентів. Полтава, 2010. 20 с.
45. Породи молочного напрямку продуктивності [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://buklib.net/books/34160/>
46. Ціни на молоко в Україні, грн/т, без ПДВ (за даними МінАПП) [Електронний ресурс]. Режим доступу: <http://milkua.info/uk/ukr-milk-prices>
47. Основи цивільного захисту: навчальний посібник / Бикова О. В. та ін. Київ. 2008. 223 с.
48. Захист населення і територій від надзвичайних ситуацій. За заг. ред. Могильниченка В.В. Київ: КІМ, 2010. Т.5. Небезпечні хімічні речовини та заходи захисту від них: методичний посібник. 442 с.
49. Федоров М. І., Дрожжана О. У. Охорона праці в галузі. Полтава: РВВ ПДАА. 2014. 240 с.
50. Захист населення і територій від надзвичайних ситуацій. За заг. ред. Могильниченка В. В. Київ: КІМ; 2008. Т. 3. Інженерно-технічні заходи цивільного захисту та містобудування: методичний посібник. 152 с.
51. Захист населення і територій від надзвичайних ситуацій. За заг. ред. Могильниченка В.В. Київ: КІМ, 2008. Т.4. Евакуація населення в надзвичайних ситуаціях: методичний посібник. 288 с.
52. Кодекс цивільного захисту України від 02.10.2012 No 5403-VI.

53. Бегас В. Л. Організація та економіка ветеринарної справи: практикум [для студентів вищих навчальних закладів]. Житомир: Полісся. 2017. 128 с.
54. Ветеринарне законодавство України. Збірник нормативно-правових актів. Книга перша «Загальна частина» / Яценко І. В. та ін. Харків: Стиль Издат, 2012. 286 с.
55. Сусло С. Т. Цивільний захист. Київ : Арістей, 2007. 386 с.
56. Ветеринарне законодавство України. Збірник нормативно-правових актів. Книга перша «Особлива частина». Яценко І. В. та ін. Харків: ХДЗВА. 2012. 326 с.
57. Русаловський А. В. Цивільний захист. Київ: АМУ. 2008. 250 с.
58. Захист населення і територій від надзвичайних ситуацій. За заг. ред. Могильниченка В.В. Київ: КІМ. 2010. Т.6. Захисні споруди цивільного захисту: методичний посібник. 560 с.
59. Захист населення і територій від надзвичайних ситуацій. За заг. ред. Могильниченка В.В. Київ: КІМ, 2010. Т.6. Захисні споруди цивільного захисту: методичний посібник. 560 с.
60. Оцінка впливу на довкілля [Електронний ресурс]. Режим доступу: [https://eco.kiev.ua/poslugy/ocinka\\_vplivu\\_na\\_dovkillya/](https://eco.kiev.ua/poslugy/ocinka_vplivu_na_dovkillya/)
61. Закон України «Про охорону навколишнього природного середовища» від 1 липня 1991 року.
62. Закон України «Про оцінку впливу на довкілля» від 18 грудня 2017 року.
63. Лабораторія оцінки впливу на навколишнє середовище та екологічної експертизи [Електронний ресурс]. Режим доступу: <http://www.niep.kharkov.ua/node/177>
64. Засіб дезінфекційний «ВЕЛІДЕЗ» [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://www.dzo.com.ua/tenders/catalog/products/2445-DANA-9902737921300->

## ДОДАТКИ