

лабораторная медицина / Д. Майнер. – 2007. 4 Интерпретация и диагностика. Пер. с англ. – Москва : Софион, 2007. – 456 с. 5. Польшковский, М. Д. Анаэробная дизентерия ягнят / М. Д. Польшковский // Болезни овец и коз. - 3 изд. - Москва, 1973.

УДК619: 616.34-008.314.4

## **СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СЕРОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЙ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ АНТИТЕЛ К ВИРУСУ ВИРУСНОЙ ДИАРЕИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА**

**Михайлова В.В., Лобова Т.П., Шишкина М.С., Скворцова А.Н.**

ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»),  
г. Москва, Российская Федерация

*Вирусная диарея крупного рогатого скота широко распространена в странах с развитым животноводством. Экономические потери при данном заболевании складываются из недополучения молодняка при инфицировании не иммунных к вирусу тёлочек, а также затрат на лабораторную диагностику, лечение и специфическую профилактику. Возбудитель болезни не имеет патогномоничных симптомов, поэтому для установления окончательного диагноза необходимы комплексные знания о эпизоотической ситуации по данной инфекции в конкретном регионе, патологоанатомических изменениях и результатах лабораторной диагностики. Наиболее широко в диагностических лабораториях применяют иммуноферментный анализ, который является более технологичным и стандартизированным, в сравнении с реакцией нейтрализации, однако разнообразие представленных на рынке тест-систем делает необходимым проведение сравнительных испытаний с эталонными методами. **Ключевые слова:** вирусная диарея, крупный рогатый скот, иммуноферментный анализ, реакция нейтрализации, Flaviviridae.*

## **COMPARISON OF SEROLOGICAL STUDY METHODS FOR THE DETECTION OF ANTIBODIES TO THE VIRUS CATTLE DIARRHEA VIRUS**

**Mikhailova V.V., Lobova T.P., Shishkina M.S., Skvortsova A.N.**

Federal Centre for Animal Health (FGBU «ARRIAH»), Moscow, Russian Federation

*Viral diarrhea of cattle is widespread in countries with developed animal husbandry. Economic losses in this disease consist of a shortage of young animals when infected with heifers that are not immune to the virus, as well as the cost of laboratory diagnostics, treatment and specific prevention. The causative agent of the disease does not have pathognomonic symptoms, therefore, to establish the final diagnosis, complex knowledge about the epizootic situation for this infection in a particular region, pathological changes and laboratory diagnostics results is required. The most widely used in diagnostic laboratories is enzyme immunoassay, which is more technologically advanced and standardized in comparison with the neutralization reaction, however, the variety of test systems on the market makes it necessary to*

*conduct comparative tests with reference methods. Keywords: viral diarrhea, cattle, enzyme immunoassay, neutralization reaction, Flaviviridae.*

**Введение.** В настоящее время вирус вирусной диареи крупного рогатого скота (далее – ВД КРС) по причине отсутствия программ борьбы является эндемичным для большинства стран, где ведётся животноводство, в том числе на территории Российской Федерации [1]. Данное заболевание наносит значительные экономические убытки продуктивному животноводству из-за снижения качества семенного материала, продукции молочного и мясного происхождения. Кроме того, материальный ущерб приносит рождение нежизнеспособного персистентно инфицированного (далее – ПИ) потомства, увеличения количества абортос и бесплодия. Наличие иммуносупрессии у ПИ особей ведёт к росту числа сопутствующих заболеваний бактериальной и вирусной этиологии, что приводит к увеличению финансовых затрат на лечение и специфическую профилактику [2]. Для постановки окончательного диагноза ветеринарный специалист должен при наличии симптомов болезни инфекционной этиологии иметь сведения об эпизоотологической ситуации в регионе, изучить и проанализировать клинические признаки, патологоанатомические изменения, результаты комплексных лабораторных исследований [5]. В практической лабораторной деятельности для диагностики вируса ВД КРС используются следующие методы: вирусыведение, серологические и молекулярно-генетические исследования, которые позволяют определить иммунный статус животного, выявить и провести идентификацию возбудителя. В настоящее время ветеринарные лаборатории России имеют возможность самостоятельно выбирать тест-системы и диагностикумы, отвечающие высоким требованиям, предъявляемым к их качеству [6].

Цель работы – оценка достоверности серологических методов для выявления антител к возбудителю ВД КРС по показателям воспроизводимости, чувствительности и специфичности.

**Материалы и методы исследований.** Данная работа проводилась в отделе вирусологии на базе Испытательной Центральной научно-методической ветеринарной лаборатории ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных». При проведении сравнительного испытания применяли два метода - иммуноферментный анализ (далее – ИФА) и реакция нейтрализации (далее – РН), являющаяся «золотым стандартом». Для выявления антител к вирусу ВД КРС использовали две тест-системы зарубежного производства. ИФА выполняли согласно требованиям инструкции, разработанной производителями наборов. При постановке РН руководствовались «Методическими рекомендациями по постановке реакции нейтрализации микрометодом в перевиваемых культурах клеток ПТ-80, КСТ для обнаружения антител к вирусу вирусной диареи-болезни слизистых оболочек крупного рогатого скота», утв. 11 декабря 2021 года (далее – МР). В качестве контрольного образца использовали эталонный штамм вируса вирусной диареи «Орегон 24», а также биологическую систему - перевиваемую культуру клеток почки телят (далее - ПТ-80), полученную из специализированной Российской коллекции перевиваемых соматических клеточных культур сельскохозяйственных и промысловых животных, а также референтные сыворотки крови производства фирмы IDVET с заведомо известными характеристиками.

**Результаты исследований.** При выполнении данной работы в качестве эталонного метода использовали реакцию нейтрализации в сравнении с иммуноферментным методом. Результаты представлены в таблице 1.

**Таблица 1 - Результаты постановки контролей ИФА и РН**

Контроли	Наименование тест-системы ИФА или метода		
	ID Screen® BVD p80 Antibody Competition, Франция.	IDEXX BVDV Total Ab Test, США.	Реакция нейтрализации
Среднее значение К+	0,299	1,151	300 ТЦД <sub>50</sub> /0,05мл
Среднее значение К-	1,433	0,263	ЦПД не обнаружено

*Примечания: «К-» - отрицательный контроль; «К+» - положительный контроль; «ЦПД» - цитопатическое действие.*

Как видно из таблицы 1, при проведении испытаний методом ИФА, в контрольных образцах (К- и К+) получены результаты в пределах допустимых значений, что соответствует «Сертификату анализа», рекомендованного производителями. Контрольные показатели для РН, отвечают значениям, рекомендованным МР.

Для оценки разбросов результатов испытаний были определены среднеквадратичное отклонение и коэффициент вариации с использованием стандартных образцов, поставленных в 10 повторах (таблица 2), которые рассчитаны согласно *OIE Quality Standard & Guidelines for Veterinary laboratories: Infectious Diseases [4]*. Данные показатели служат характеристикой случайных погрешностей, и используется для оценки воспроизводимости измерений. Чем ниже коэффициент вариации, тем выше воспроизводимость [3].

**Таблица 2 - Результаты расчетов стандартного отклонения и коэффициента вариации**

Исследуемые стандартные образцы (n=10)	Наименование тест-системы ИФА или метода		
	ID Screen® BVD p80 Antibody Competition, Франция.	IDEXX BVDV Total Ab Test, США.	Реакция нейтрализации
Среднее значение оптической плотности/титра	0,448*	1,372*	49,45*
	1,732**	0,366**	отрицательно**
Стандартное отклонение	0,016*	0,052*	16,71*
	0,029**	0,010**	отрицательно**
Коэффициент вариации	3,678*	3,815*	33,79*
	1,681**	2,826**	отрицательно**

*Примечания: \* - положительная сыворотка, содержащая антитела к вирусу ВД (Idvet);*

*\*\* - отрицательная сыворотка, не содержащая антитела к вирусу ВД (Idvet).*

С целью определения диагностической эффективности метода наиболее часто измеряется диагностическая чувствительность (далее – ДЧ) - процентное

выражение частоты истинно отрицательных результатов и диагностическая специфичность (далее – ДС) - процентное выражение частоты истинно положительных результатов. Данные показатели определяют коэффициент вероятности положительного или отрицательного результата и были рассчитаны согласно *OIE Quality Standard & Guidelines for Veterinary laboratories: Infectious Diseases [4]*.

В таблице 3 представлены результаты серологических исследований 120 референтных образцов сыворотки крови КРС с заведомо известными характеристиками, заложенными производителем. Испытания выполнялись с использованием ИФА и РН.

**Таблица 3 - Результаты определения диагностической чувствительности и специфичности**

Показатели	ID Screen® BVD p80 Antibody Competition, Франция.	IDEXX BVDV Total Ab Test, США.	Реакция нейтрализации
Диагностическая специфичность	$(59/(1+59))*100=98,3\%$	$(58/(2+58))*100=96,7\%$	$(56/(4+56))*100=93,3\%$
Диагностическая чувствительность	$(60/(0+60))*100=100,0\%$	$(3/(3+57))*100=95,0\%$	$(55/(5+55))*100=91,6\%$

Для практического применения оптимально, когда соотношение диагностической чувствительности и специфичности метода более 80 % [3]. Как видно из таблицы 3, ДС иммуноферментным методом составила от 96,7 % до 98,3 %. В тоже время показатель ДС для реакции нейтрализации имеет значение 93,3 %. ДЧ для ИФА определено в пределах от 95,0 % до 100 %, в РН – 91,6 %.

Таким образом, можно сделать вывод, что обе испытываемые тест-системы при сравнении с эталонным методом (РН), отвечают критериям воспроизводимости, диагностической чувствительности и специфичности.

**Заключение.** Результаты проведенных исследований подтверждают, что метод ИФА является стандартизированным и технологичным методом, что подтверждается незначительными отклонениями коэффициента вариации и, следовательно, высокой воспроизводимостью результата. Результаты ДЧ и ДС для ИФА и РН составили более 80 %, что считается приемлемым при использовании данных методов в лабораторной практике. Реакция нейтрализации является в лабораторной практике «золотым стандартом» для определения уровня проективных антител, однако имеет множество факторов, влияющих на конечный результат: от качества используемых материалов, до высокой вероятности допущения оператором технических ошибок. Однако при внедрении коммерческих тест-систем в лабораторную практику обязательным этапом является проведение сравнительных испытаний в отношении классическим методам с целью подтверждения их соответствия требованиям, предъявляемым к лабораторным методам диагностики, для получения достоверных результатов

исследований, унифицирования применяемых методов и оптимизации деятельности государственной ветеринарной службы.

**Литература.** 1. Проблема вирусных инфекций у верблюдов / А. В. Мищенко [и др.] // Труды Кубанского государственного аграрного университета. – 2013. – №1 (43). – С. 255–257. 2. Global knowledge gaps in the prevention and control of bovine viral diarrhoea (BVD) virus. / С. А. Evans [et. al.] // Transbound Emerg Dis. – 2019. – № 66 (2). – P. 640-652. doi: 10.1111/tbed.13068. 3. Костюк, С. А. Валидация молекулярно - биологических методов лабораторной диагностики / С. А. Костюк // Медицинские новости. – 2012. – № 4. – С. 16-19. 4. OIE Quality Standard & Guidelines for Veterinary laboratories: Infectious Diseases. - 2008. - № 2. –31 p. ISBN 978-92-9044-706-1. 5. Анализ результатов эпизоотического мониторинга вирусной диареи - болезни слизистых крупного рогатого скота в Российской Федерации по данным отчетности 4-вет за 2020 год / В. В. Михайлова [и др.] // Аграрная наука. – 2021. – № 11–12. – С. 36–39. 6. Вирусная диарея - болезнь слизистых оболочек крупного рогатого скота / В. В. Евстифеев [и др.] // Ветеринария. – 2019. – № 10. – С. 19-25. – DOI 10.30896/0042-4846.2019.22.10.19-26. – EDN UKPBAT.

УДК 636: 616.993

## ЭПИЗОТОЛОГИЯ ПРОТОЗООЗОВ У ТЕЛЯТ

**Муллаярова И.Р.**

ФГБОУ ВО «Башкирский государственный аграрный университет»,  
г. Уфа, Российская Федерация

*В работе представлены данные по распространенности криптоспоридиоза (45,7 %), эймериоза (29,6 %) и смешанной инвазии (24,7 %) у телят. Определена степень инвазирования криптоспоридиями и эймериями и их зависимость от возраста: у 3-30-дневных телят преобладал криптоспоридиоз (29,3 %), у 45-60-дневного молодняка эймериоз (23,2 %) и смешанное течение криптоспоридиоза и эймериоза – у 61-90-дневных (8,9 %). При спонтанном смешанном течении эффективность бровитакокцида при эймериозе составила 100 %, при криптоспоридиозе – 85,7 %. Эффективность препарата «Ампролев-плюс» при криптоспоридиозе составила 100 %, при эймериозе - 96,9 %. **Ключевые слова:** криптоспоридиоз, эймериоз, экстенсивность инвазии, телята.*

## EPIZOOTOLOGY OF PROTOZOOSIS IN CALVES

**Mullayarova I.R.**

Bashkir State Agrarian University, Ufa, Russian Federation

*The paper presents data on the prevalence of cryptosporidiosis (45,7 %), eimeriosis (29,6 %) and mixed invasion (24,7 %) in calves. The degree of invasion by cryptosporidia and eimeria and their dependence on age was determined: cryptosporidiosis prevailed in 3-30 day-old calves (29,3 %), eimeriosis prevailed in 45-*