

ОТБОР ВЫСОКОПОЗИТИВНЫХ ОБРАЗЦОВ СЫВОРОТКИ КРОВИ ОТ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА, ИНФИЦИРОВАННОГО ВИРУСНОЙ ДИАРЕЕЙ

Башенова Э.Е.*^{ORCID}, Нисанова Р.К.^{ORCID}, Жармухаметова А.Ж.^{ORCID}, Акшалова П.Б.^{ORCID}, Сериков М.С.^{ORCID}, Маманова С.Б.^{ORCID}, Кирпиченко В.В.^{ORCID}

ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт», г. Алматы, 050016, Республика Казахстан
eralievna86@mail.ru

АБСТРАКТ

Вирусная диарея является одной из наиболее распространенных и экономически значимых болезней у крупного рогатого скота, вызывая значительные потери в продуктивности и повышенную смертность среди молодняка. Для эффективной диагностики заболевания необходимо использовать стандартизированные сыворотки, которые обеспечивают высокую точность и воспроизводимость результатов лабораторных исследований. Подбор сывороток для получения стандартных сывороток для диагностики вирусной диареи крупного рогатого скота представляет собой ключевую задачу в разработке панели стандартных сывороток. В ходе мониторинга в некоторых регионах Республики Казахстан (Алматинской, Мангистауской, Карагандинской, Туркестанской областей) в личных подсобных хозяйствах были собраны 433 образцов биоматериала от КРС и применен серологический метод исследований. В результате исследования в серологических реакциях специфические антитела вирусной диареи были обнаружены в 369 образцах сывороток крови. Были проведены сравнительные исследования чувствительности и стабильности положительных сывороток с положительной стандартной сывороткой крови из набора (*ID Vet*). При подборе сывороток определены несколько факторов: специфичность и чувствительность используемых сывороток, с учетом особенностей эпизоотической ситуации в регионе. Данная научная работа завершается получением для кандидата положительной сыворотки от полученных полевой природной инфекции, вызванной заболеванием BVDV, и сокращает производственный цикл и экономит затраты.

Ключевые слова: вирус, диарея, крупный рогатый скот, серологическое исследование, стандартные сыворотки, панель сывороток.

ВВЕДЕНИЕ

Инфекция, вызванная вирусом вирусной диареи крупного рогатого скота (BVDV) является широко распространенной, важным возбудителем для молочного скотоводства во всем мире [1]. BVDV является возбудителем врожденных дефектов, диареи, респираторных заболеваний, репродуктивной недостаточности и загрязнения биологических продуктов [2,3]. Вирусная диарея крупного рогатого скота (ВД КРС) достаточно сложное заболевание, ведущее к истощению и значительному снижению продуктивности животного, часто к гибели, вынужденному убою, рождению не жизнеспособного и персистентно инфицированного (PI) потомства [4,5]. В течение первых 40-120 дней беременности заражение беременных коров или телок может привести к рождению телят с устойчивой инфекцией [6]. Эти животные в течение всей своей жизни выделяют значительное количество вируса, они являются основным источником инфекции [7]. Вирус поражает, в основном, крупный рогатый скот, но также и других жвачных животных, таких как овцы и козы [8,9].

Распространенность вируса BVDV у крупного рогатого скота варьирует в разных регионах мира, количество серологически положительных животных достигает 80% [10]. В последние годы вспышки ВД КРС происходили в нескольких регионах Азии, России, Китая, что указывает на высокий риск заноса инфекции в страну [11-13].

За последнее время, по данным мониторинга распространенности возбудителя этого заболевания по стране, а также из официальных источников и научных статей следует, что возбудитель ВД КРС уже циркулирует в некото-

рых регионах Казахстана [14].

Диагностика возбудителя заболеваний является одной из наиболее трудоёмких и важных задач при борьбе инфекцией. Научные и медицинские общества часто разрабатывают национальные стандарты для сывороток крови с целью обеспечения единообразия и качества в процессе анализа биологических образцов [15-18]. Эти стандарты играют важную роль для усиления научных исследований, в обеспечении точности, надежности и сопоставимости результатов лабораторных исследований, а также для контроля качества межлабораторных сравнительных испытаний (МЛСИ), проводимых в различных лабораториях.

На сегодняшний день в Казахстане используют различные методы диагностики ВД КРС, при этом серологический является одним из наиболее популярных, так как в Казахстане практикуется вакцинация против данной инфекции. При этом наборы диагностикомов, поступающих в страну и используемых в последующем для исследований животных не проходят проверку местной панелью стандартных сывороток ввиду того, что ее просто нет. Поэтому разработка собственных стандартов сывороток крови на ВД КРС является актуальной задачей.

В связи с этим сотрудниками ТОО «КазНИВИ» были проведены серологические исследования проб от КРС и проверены на активность и специфичность в ИФА коммерческим набором из различных регионов Казахстана: Алматинской, Карагандинской, Мангистауской, Туркестанской областей. В результате были выделены сильно положительные, слабоположительные и отрицательные образцы для дальнейшего анализа. Далее была сформирована экспериментальная панель стандартных сыворо-

ток «№1 (экспериментальная) BDV/2024», включающая наиболее перспективные образцы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Сбор и подготовка образцов сыворотки крови

Образцы крови были отобраны от КРС в различных регионах Казахстана: Алматинской, Карагандинской, Мангистауской, Туркестанской областей.

Образцы были отобраны от животных с учетом породы, пола и возрастной категории, согласно утвержденному протоколу получения стандартной сыворотки [19,20].

Кровь отбиралась из яремной или подхвостовой вены в вакуумные пробирки объемом 9 мл. Пробирки выдерживались при комнатной температуре или в термостате при 37°C в течение 1-2 часов для образования сгустка. После образования сгустка кровь осторожно отделялась по стенке пробирки иглой или пипеткой и отстаивалась 16-18 часов при температуре 2-4°C. Образовавшаяся прозрачная сыворотка без гемолиза отбиралась пипеткой в стерильные пробирки.

Исследование образцов и категоризация

Отобранные образцы были исследованы коммерческим набором ID -Vet «ID Screen BVD p80 Antibody Competition». Постановку реакции в ИФА с образцами сыворотки крови КРС и учет титра антител проводили согласно инструкции производителя коммерческого набора. Все образцы со значениями оптической плотности (OD), равными или не превышающими 40 были сочтены положительными.

Проведение сличительных испытаний разработанных сывороток с позитивными и негативными контрольными образцами в коммерческих наборах

Для подготовки панельных разведений, полученные образцы сыворотки крови были проверены в ИФА. Таким образом были определены позитивные и негативные образцы. Позитивные образцы были разведены физиологическим раствором (происследовано в титрах от 1/10 до 1/1600) и вновь проверены на активность и специфичность в ИФА, указанным выше коммерческим набором. Все процедуры выполнялись при строгом соблюдении Протокола получения стандартных сывороток, методология проведенных исследований описана в стандартных рекомендациях.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Для получение панели стандартных сывороток из хозяйства Алматинской, Мангистауской, Карагандинской и Туркестанской областей в ТОО «КазНИВИ» были доставлены по мониторингу 399 пробы. Образцы сывороток крови исследовали на наличие антител на вирус диареи КРС с помощью ИФА (Таблица-1).

Как видно в таблице 1, по результатам исследований выявлены 369 серопозитивных образцов, процент серопозитивности составил 92,5 %. В Карагандинской области из 120 образцов, 110 проб оказались положительными. В Туркестанской области из 149 проб, 130 оказались положительными. В одном из хозяйств Алматинской области все 64 исследованных образца были положительными.

На основании того, что серопозитивные образцы были получены от животных, не подвергавшихся вакцинации, был проведен дополнительный контрольный метод, заключающийся в исключении возможной контаминации сывороток вирусом вирусной диареи КРС. По результатам проведенного исследования было установлено, что все образцы, отобранные для дальнейших исследований, оказались отрицательными при использовании ПЦР-РВ.

Для формирования необходимой панели, включающей как позитивные, так и негативные сыворотки, был установлен порог для отобранных образцов. В частности, для позитивных проб минимальный титр сыворотки должен составлять не менее 1:50, в то время как негативные пробы, включая неразведенный образец, должны демонстрировать отрицательный результат.

Верхний порог для титра сыворотки не устанавливается, поскольку цель исследования заключается в выявлении максимального уровня антител у позитивных образцов. Это позволяет получить информацию о диапазоне иммунного ответа у животных, инфицированных вирусом, и более точно подобрать контрольные образцы для дальнейших исследований. Ограничение только нижним порогом обеспечивает минимальный уровень чувствительности теста, в то время как более высокие титры могут варьироваться в зависимости от индивидуальных особенностей иммунного ответа и не должны быть ограничены для полноты картины.

Далее, для приготовления панели стандартных сывороток из хозяйств Алматинской и Карагандинской областей были выбраны серопозитивные пробы сывороток крови с высокой концентрацией антител в ИФА – «strong positive». В качестве контроля служила позитивная сыворотка крови в наборе ID Vet «ID Screen BVD p80 Antibody Competition» (LOT: №75: 2026/1, Франция); для разведения образцов применялся стерильный физиологический раствор с pH 7,2.

Далее, для приготовления панели стандартных сывороток из хозяйств Алматинской и Карагандинской областей были выбраны серопозитивные пробы сывороток крови с высокой концентрацией антител в ИФА – «strong positive». В качестве контроля служила позитивная сыворотка крови в наборе ID Vet «ID Screen BVD p80 Antibody Competition» (LOT: №75: 2026/1, Франция); для разведения образцов применялся стерильный физиологический раствор с pH 7,2.

№	Наименование области	Количество исследуемых проб	Результаты в ИФА (серопозитивные)	%
1	Алматинская	64	64	100
2	Туркестанская	149	130	86,66
3	Мангистауская	89	65	73,03
4	Карагандинская	120	110	84,61
	Всего	433	369	92,5

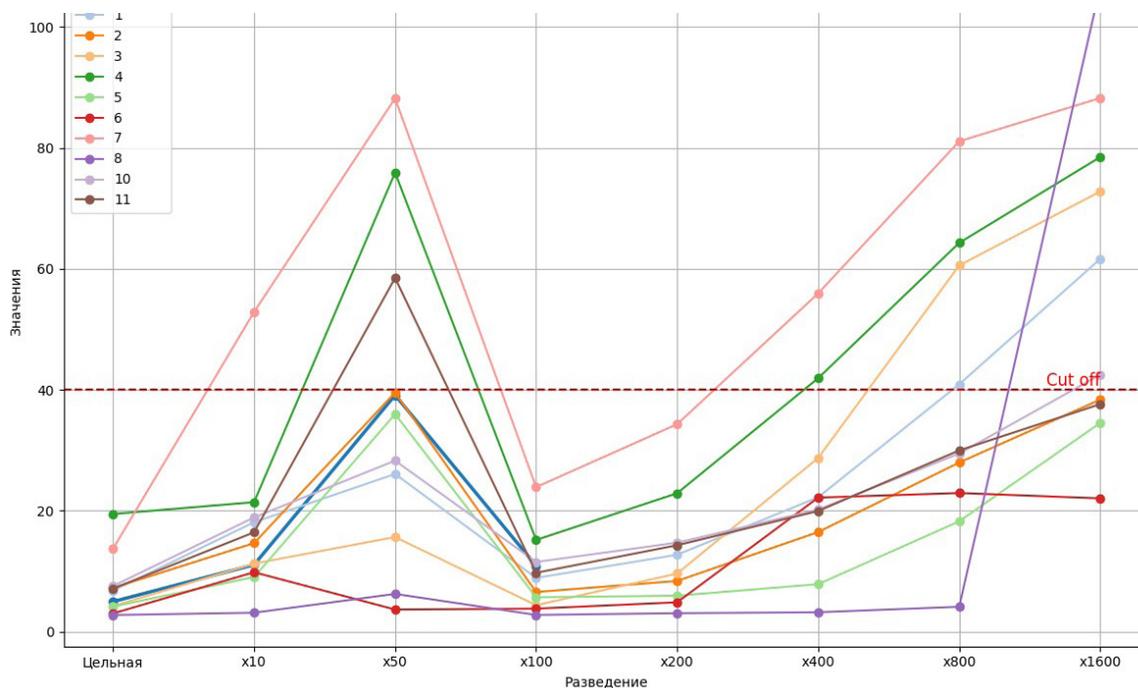


Рисунок 1 - Кривые титрования различных сывороток

Для калибровки стандартной сыворотки в наборе были сделаны различные разведения (от 1/10 до 1/1600) в ИФА, от одиннадцати положительных сывороток: № 1, 2, 3, 4 пробы из Мангистауской области, № 5, 6, 7, 8 пробы из Карагандинской области, № 10, 11 пробы из Туркистанской области. Учет результатов проводили на автоматическом иммуноанализаторе при длине волны 450 нм. Концентрацию антител определяли путем сравнения полученных значений оптической плотности с калибровочной кривой титрования, построенной на основании известных концентрации антител положительных сывороток набора *ID Vet*. Исследованные сыворотки показали корреляцию результатов с положительной сывороткой набора (Рисунок -1).

Как видно из рисунка кроме 4, 3, 11 сывороток показывали высокий титр, из них 4 (№ 2, 5, 6, 11) сыворотки

до 1:1600. Далее от данных особей КРС будет получено большой объем сывороток, до 50 мл и проводиться исследование в референтной лаборатории ВОЗЖ (PiWet, Польша).

Исследования сывороток крови из хозяйств Алматинской области показали, что все 64 пробы выявили наличие антител на вирус ВД КРС в ИФА. Далее из выбранных позитивных сывороток сделали титрование и провели ИФА исследование (рисунок 2)

Рисунок 2 демонстрирует концентрации антител в образцах при разведении до 1:1600. Образец № 2 показывает наиболее выраженную концентрацию антител до 1:400 разведениях, показатели выше, чем у стандартной сыворотки. Образец № 4, 5 также показывает значительную концентрацию антител, однако его показатели немного ниже, чем у Образца №2.

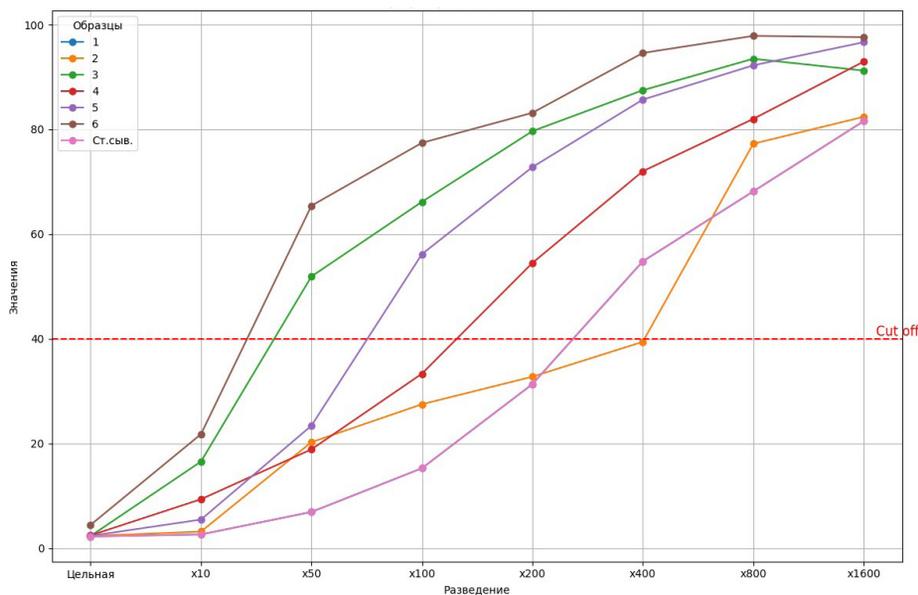


Рисунок 2 – Кривые титрования различных сывороток из Алматинской области.

Статистический анализ. Результаты однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) показали:

Статистика $F = 0.88$

Значение $p = 0.552$

Так как p -значение значительно выше 0.05, мы не можем отвергнуть нулевую гипотезу. Это означает, что нет статистически значимой разницы между средними значениями образцов при разных разведениях.

Кроме того был выполнен корреляционный анализ полученных результатов. Корреляционный анализ показывает степень линейной зависимости между двумя переменными. Значения коэффициентов корреляции варьируют от 0,95 до 1, что наглядно демонстрирует отличную статистическую связь образцов при различных разведениях, указывая на точность постановки реакции.

В рамках данного исследования для анализа однородности и взаимосвязи данных был проведен корреляционный анализ между различными образцами сывороток и стандартной сывороткой. Корреляция позволяет оценить степень линейной зависимости между переменными и выявить, насколько изменения одного показателя соответствуют изменениям другого. Данный метод особенно важен при работе с биологическими образцами, где необходимо установить, насколько схожи данные между разными группами образцов.

Полученные данные демонстрируют значительные различия в иммунной активности различных образцов сыворотки крови. Эти результаты подчеркивают важность выбора соответствующих образцов для проведения дальнейших исследований и разработки диагностических препаратов.

ОБСУЖДЕНИЕ

Разработка диагностических стандартных сывороток имеет решающее значение для обеспечения надежности и гармонизации диагностических тестов в ветеринарии. Эти сыворотки используются для калибровки методов титрования и реагентов, что создает основу для точных аналитических и диагностических показателей. Процесс получения стандартных сывороток включает совместные испытания в нескольких лабораториях, что обеспечивает согласованность и точность результатов.

Сбор образцов крови от крупного рогатого скота был проведен в нескольких регионах Казахстана с учетом породы, пола и возраста животных. Из 399 собранных образцов сыворотки крови были подготовлены панельные разведения, что позволило классифицировать пробы на слабоположительные, сильноположительные и отрицательные по содержанию антител к вирусной диарее КРС.

Результаты проведенных исследований демонстрируют высокий уровень надежности и точности разрабатываемых диагностических стандартных сывороток. Запланированные и проводимые в настоящее время испытания показывают, что использование международных сывороток обеспечивает воспроизводимость и согласованность результатов как в различных лабораториях, так и в пределах одной лаборатории у разных операторов, что является одним из ключевых аспектов в контроле качества ве-

теринарной диагностики.

Международное сотрудничество и получение международных стандартных образцов сыворотки позволят укрепить позиции Казахстана в области ветеринарной диагностики, способствуя развитию национальной биофармацевтической промышленности и снижению зависимости от импортных диагностических средств.

На основании проведенных исследований была сформирована экспериментальная панель стандартных сывороток «№1 (экспериментальная) BDV/2024». Дальнейшие исследования и сличения с международными стандартами помогут подтвердить качество и пригодность этих сывороток для диагностики ВД КРС. Разработка и использование собственных позитивных стандартных сывороток позволит значительно сократить расходы на диагностику ВД КРС и повысить точность и эффективность контроля заболеваний в Казахстане.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследования и разработка панели стандартных сывороток для диагностики ВД КРС являются значительным шагом вперед в борьбе с этим заболеванием и способствуют улучшению эпизоотологической ситуации и повышению экономической эффективности животноводства в Казахстане. Полученные сыворотки крови от невакцинированных животных с высоким титром антител против вирусной диареи после колибровки в сравнении с положительный контрольный сывороткой по ВД КРС, могут быть использованы в качестве стандартной сыворотки при проверке диагностических наборов на специфичность и чувствительность.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследование проводилось при финансовой поддержке в рамках НТП (ИРН BR218004/0223) «Совершенствование мер обеспечения биологической безопасности в Казахстане: противодействие опасным и особо опасным инфекциям» на 2023-2025 годы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Polak M., Antos A., Rola J., Zimudzinski J. Sheddens in a herd vaccinated against infection with bovine viral diarrhoea virus (BVDV) without prior testing for the presence of persistently infected animals. *Journal of Veterinary Research*. – 2016. -Vol. 60 (4). - P 379-384. <https://doi.org/10.1515/jvetres-2016-0056>
2. Fulton R.W., Ridpath J.F., Confer A.W., Saliki J.T., Burge L.J., Payton M.E. Bovine viral diarrhoea virus antigenic diversity: impact on disease and vaccination programmes. *J. Biologicals*. – 2003. - Vol.31. -P. 89–95. DOI: 10.1016/s1045-1056(03)00021-6
3. Lihong L., Hongyan X., Niklas W., Sándor B., Claudia B., Phylogeny, classification and evolutionary insights into pestiviruses. *Virology*. -2009. - Vol.385. - Issue 2. - P 351-357. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2008.12.004>
4. Khodakaram-Tafti A., Farjanikish G.H. Persistent bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infection in cattle herds. *Iran J Vet Res*. - 2017. -Vol. 8(3). -P. 154-163. 10.22099/

ijvr.2017.4190

5. Kenny V. The persistence of bovine viral diarrhea virus. *Biologicals*. -2003. -Vol.31. - Issue 2. -P. 133-135. [https://doi.org/10.1016/S1045-1056\(03\)00029-0](https://doi.org/10.1016/S1045-1056(03)00029-0)

6. Houe H. Survivorship of animals persistently infected with bovine virus diarrhoea virus (BVDV). *Preventive Veterinary Medicine*. – Vol. 15. - Issue 4. – 1993. – P. 275-283. ISSN 0167-5877. [https://doi.org/10.1016/0167-5877\(93\)90099-F](https://doi.org/10.1016/0167-5877(93)90099-F)

7. Walz P.H., Grooms D.L., Passler T., Ridpath J.F., Tremblay R., Step D.L., Callan R.J., Givens M.D. Control of bovine viral diarrhea virus in ruminants. *J Vet Intern Med*. – 2010. -Vol. 24(3). -P. 476-486. DOI: 10.1111/j.1939-1676.2010.0502.x

8. Nelson D.D., Duprau J.L., Wolff P.L., Evermann J.F. Persistent bovine viral diarrhea virus infection in domestic and wildsmall ruminants and camelids including the mountain goat (*Oreamnos americanus*). *Frontiers in microbiology*. – 2016. – Vol.6. –P. 1415. PMID: PMC4703785 DOI: 10.3389/fmicb.2015.01415

9. Diao N.C., Chen Z.Y., Shi J.F., Wang Q., Sheng C.Y., Ma B.Y., Yang Y., Sun Y.H., Shi K., Du R. Prevalence of Bovine Viral Diarrhea Virus in Ovine and Caprine Flocks: A Global Systematic Review and Meta-Analysis. *J Front Vet Sci*. – 2021. – Vol. 8. 19:8:703105. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.703105>

10. Glotov A.G., Glotova T.I., Nefedchenko A.V., Koteneva S.V. Genetic diversity and distribution of bovine pestiviruses (*Flaviviridae: Pestivirus*) in the world and in the Russian Federation. *Problems of Virology*. - 2022. - Vol. 67. - N. 1. - P. 18-26. doi: 10.36233/0507-4088-96

11. Mingliang D., Ning Ch., Christian G., Zhihua Xu., Junjie Z., Lingjie C., Shishan Y., Yanyong S., Lucy M. Prevalence and genetic diversity of bovine viral diarrhea virus in dairy herds of China. *Veterinary Microbiology*. – 2020. – Vol. 242.242:108565. Doi 10.1016/j.vetmic.2019.108565

12. Окунев А. М. Характеристика эпизоотического процесса при вирусной диарее крупного рогатого скота в районе Северо-Казахстанской области. *Вестник Алтайского государственного аграрного университета*. – 2020. № 1 (183). - С. 103-111. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/harakteristika-epizooticheskogo-protssessa-pri-virusnoy-diarei-krupnogo-rogatogo-skota-v-rayone-severo-kazahstanskoy-oblasti>

13. Stahl K., Alenius S. BVDV control and eradication in Europe-an update. *The Japanese journal of veterinary research*. - 2012. – Vol.60. -P. 31–39. PMID: 22458198.

14. Лушова А., Кан С., Жигайлов А., Остапчук Ю., Куатбекова С., Абдулла Н., Найзабаева Д., Мамадалиев С. Анализ рисков распространения вирусной диареи крупного рогатого скота в Казахстане. *Вестник КазНУ. Серия экологическая*. - 2023. - №74, 1. – С. 98-105 <https://doi.org/10.26577/EJE.2023.v74.i1.09>

15. Маманова С., Башенова Э., Каймолдина С., Мусаева А., Оспанов Е., Карабасова А., Алиханов К. Результаты стандартизации и валидации стандартной диагностической сыворотки крови при энзоотическом лейкозе крупного рогатого скота. *J. GJB*. - 2023. Т. 1. - № 2 (71). -С.

37–46. <https://doi.org/10.52578/2305-9397-2023-2-1-37-46>

16. Канев А.Н. Разработка стандартных панелей сывороток для контроля качества иммуноферментных тест-систем в России. *Вопросы вирусологии*. - 1998. - № 2. - С. 47-51.

17. Башенова Э.Е. Разработка национальной стандартной сыворотки для проведения диагностических исследований при болезни Ньюкасла и гриппе птиц. *Матер. Межд. Научн. практ. конф. посв. 65-летию НИИПББ МЗ РК*. -Алматы. -2023. С. 88-89.

18. Башенова Э.Е., Нисанова Р.К. Құс тұмауы вирусына антиденелерді анықтау үшін серологиялық әдістерді кешенді пайдалану және стандартты қан сарысуына үлгілерді таңдау *G.B.J.* Том 3. - № 2-1 (71). – С.29-36. <https://doi.org/10.52578/2305-9397-2023-2-1-29-36>

19. OIE Guideline International Reference Antibody Standards for Antibody Assays. –2012. <https://www.woah.org/app/uploads/2021/03/a-guideline-antigen-standards.pdf>.

20. Wright E., Nilsson E.M., Van Rooij A., Lelenta M. Standardisation and validation of enzyme-linked immunosorbent assay techniques for the detection of antibody in infectious disease diagnosis. *Rev Sci Tech*. – 1993. - Vol. 12(2). -P. 435-450. DOI: 10.20506/rst.12.2.691

REFERENCES

1. Polak M., Antos A., Rola J., Zimudzinski J. Sheddens in a herd vaccinated against infection with bovine viral diarrhoea virus (BVDV) without prior testing for the presence of persistently infected animals // *Journal of Veterinary Research*. – 2016. -Vol. 60 (4). - P 379-384. <https://doi.org/10.1515/jvetres-2016-0056>

2. Fulton R.W., Ridpath J.F., Confer A.W., Saliki J.T., Burge L.J., Payton M.E. Bovine viral diarrhoea virus antigenic diversity: impact on disease and vaccination programmes. *J. Biologicals*. – 2003. - Vol.31. -P. 89–95. DOI: 10.1016/s1045-1056(03)00021-6

3. Lihong L., Hongyan X., Niklas W., Sándor B., Claudia B., Phylogeny, classification and evolutionary insights into pestiviruses. *Virology*. - 2009. - Vol.385. - Issue 2. - P 351-357. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2008.12.004>

4. Khodakaram-Tafti A., Farjanikish G.H. Persistent bovine viral diarrhea virus (BVDV) infection in cattle herds. *Iran J Vet Res*. - 2017. -Vol. 8(3). -P. 154-163. 10.22099/ijvr.2017.4190

5. Kenny V. The persistence of bovine viral diarrhea virus. *Biologicals*. -2003. -Vol.31. - Issue 2. -P. 133-135. [https://doi.org/10.1016/S1045-1056\(03\)00029-0](https://doi.org/10.1016/S1045-1056(03)00029-0)

6. Houe H. Survivorship of animals persistently infected with bovine virus diarrhoea virus (BVDV). *Preventive Veterinary Medicine*. – Vol. 15. - Issue 4. – 1993. – P. 275-283. ISSN 0167-5877. [https://doi.org/10.1016/0167-5877\(93\)90099-F](https://doi.org/10.1016/0167-5877(93)90099-F)

7. Walz P.H., Grooms D.L., Passler T., Ridpath J.F., Tremblay R., Step D.L., Callan R.J., Givens M.D. Control of bovine viral diarrhea virus in ruminants. *J Vet Intern Med*. – 2010. -Vol. 24(3). -P. 476-486. DOI: 10.1111/j.1939-1676.2010.0502.x

8. Nelson D.D., Duprau J.L., Wolff P.L., Evermann J.F.

Persistent bovine viral diarrhea virus infection in domestic and wildsmall ruminants and camelids including the mountain goat (*Oreamnos americanus*). *Frontiers in microbiology*. – 2016. – Vol.6. –P. 1415. PMID: PMC4703785 DOI: 10.3389/fmicb.2015.01415

9. Diao N.C., Chen Z.Y., Shi J.F., Wang Q., Sheng C.Y., Ma B.Y., Yang Y., Sun Y.H., Shi K., Du R. Prevalence of Bovine Viral Diarrhea Virus in Ovine and Caprine Flocks: A Global Systematic Review and Meta-Analysis. *J Front Vet Sci*. – 2021. – Vol. 8. 19:8:703105. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.703105>

10. Glotov A.G., Glotova T.I., Nefedchenko A.V., Koteneva S.V. Genetic diversity and distribution of bovine pestiviruses (*Flaviviridae: Pestivirus*) in the world and in the Russian Federation. *Problems of Virology*. - 2022. - Vol. 67. - N. 1. - P. 18-26. doi: 10.36233/0507-4088-96

11. Mingliang D., Ning Ch., Christian G., Zhihua Xu., Junjie Z., Lingjie C., Shishan Y., Yanyong S., Lucy M. Prevalence and genetic diversity of bovine viral diarrhea virus in dairy herds of China. *Veterinary Microbiology*. – 2020. – Vol. 242.242:108565. Doi 10.1016/j.vetmic.2019.108565

12. Okunev A. M. Harakteristika epizooticheskogo processa pri virusnoj diarei krupnogo rogatogo skota v rajone Severo-Kazahstanskoj oblasti. *Vestnik Altajskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta*. – 2020. N 1 (183). - S. 103-111. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/harakteristika-epizooticheskogo-protsess-a-pri-virusnoj-diarei-krupnogo-rogatogo-skota-v-rayone-severo-kazahstanskoy-oblasti>

13. Stahl K., Alenius S. BVDV control and eradication in Europe-an update. *The Japanese journal of veterinary research*. - 2012. – Vol.60. -P. 31–39. PMID: 22458198.

14. Lushova A., Kan S., Zhigailov A., Ostapchuk Y., Kvatbekova S., Abdolla N., Naizabayeva D., Mamadaliyev S. Analiz riskov rasprostraneniya virusnoj diarei krupnogo rogatogo skota v Kazahstane. *Vestnik KazNU. Seriya ekologicheskaya*. - 2023. N74. 1.-S.98-105. <https://doi.org/10.26577/EJE.2023.v74.i1.09>

15. Mamanova S., Bashenova E., Kajmoldina S., Musaeva A., Ospanov E., Karabasova A., Alihanov K. Rezul'taty standartizacii i validacii standartnoj diagnosticheskoj syvorotki krovi pri jenzooticheskom lejkoze krupnogo rogatogo skota. *J. GJB*. - 2023. N 2 (71). -S. 37–46. <https://doi.org/10.52578/2305-9397-2023-2-1-37-46>

16. Kanev A.N. Razrabotka standartnyh panelej syvorotok dlya kontrolya kachestva immunofermentnyh test-sistem v Rossii. *Voprosy virusologii*. - 1998. N 2. - S. 47-51.

17. Bashenova E.E. Razrabotka nacional'noj standartnoj syvorotki dlya provedeniya diagnosticheskikh issledovanij pri bolezni N'yukasla i grippe ptic. *Mater. Mezhd. Nauchn. prakt. konf. posv. 65-letiyu NIIPBB MZ RK*. -Almaty. -2023. S. 88-89.

18. Bashenova E.E., Nisanova R.K. Qus tumaury virusyna antidenelardi anyqtau ushin serologiyalyq adisterdi keshendi pajdalanu zhane standartty qan sarysuyna ulgilerdi tandau. *GBJ. T. 3. N 2-1 (71)*. – C.29-36. <https://doi.org/10.52578/2305-9397-2023-2-1-29-36>

19. OIE Guideline International Reference Antibody Standards for Antibody Assays. –2012. <https://www.woah.org/app/uploads/2021/03/a-guideline-antigen-standards.pdf>.

20. Wright E., Nilsson E.M., Van Rooij A., Lelenta M. Standardisation and validation of enzyme-linked immunosorbent assay techniques for the detection of antibody in infectious disease diagnosis. *Rev Sci Tech*. – 1993. - Vol. 12(2). -P. 435-450. DOI: 10.20506/rst.12.2.691

ВИРУСТЫҚ ДИАРЕЯНЫ ЖҰҚТЫРҒАН ІРІ ҚАРА МАЛДАН ҚАН САРЫСУЫНЫҢ ЖОҒАРЫ ОҢ СЫНАМАЛАРЫН АЛУ

Башенова Э.Е.*, Нисанова Р.Қ., Жармухаметова А.Ж., Ақшалова П.Б., Маманова С.Б., Кирпиченко В.В.

«Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институты», Алматы қаласы, 050016, Қазақстан Республикасы
eralievna86@mail.ru

ТҮЙІН

Вирустық диарея ірі қара малдағы ең көп таралған және экономикалық маңызды аурулардың бірі болып табылады, бұл ауру өнімділіктің айтарлықтай жоғалуына және жас жануарлар арасында жиі өлім-жітімге әкеледі. Ауруды тиімді диагностикалау үшін зертханалық нәтижелердің жоғары дәлдігі мен қайталануын қамтамасыз ететін стандартталған сарысуларды қолдану қажет. Ірі қара малдың вирустық диареясын диагностикалау үшін қолданылатын стандартты сарысулар панеліне лайықты стандартты қансарысуларды таңдап алу әзірлеудің негізгі міндеті болып табылады. Мониторинг барысында Қазақстан Республикасының кейбір өңірлерінде (Алматы, Маңғыстау, Қарағанды, Түркістан облыстары) жеке қосалқы шаруашылықтарда МІҚ-дан 433 биоматериал үлгілері жиналып, зерттеудің серологиялық әдісі қолданылды. Серологиялық реакциялардағы зерттеу нәтижесінде 369 қан сарысуында вирустық диареясына телімді антиденелер табылды. Тест-жиынтықтағы оң стандартты қан сарысуымен (Id Vet) оң сарысулардың сезімталдығы мен тұрақтылығына салыстырмалы зерттеулер жүргізілді. Қансарысуларды таңдау кезінде бірнеше факторлар анықталды: аймақтағы эпизоотиялық жағдайдың ерекшеліктерін ескере отырып, қолданылатын сарысулардың телімділігі мен сезімталдығы. Бұл ғылыми жұмыс BVDV вирусынан туындаған табиғи инфекциядан стандартты қансарысуына лайықты оң қансарысуды таңдап алумен аяқталады және өндірістік алу мерзімін қысқартады және шығындарды үнемдейді.

Түйінді сөздер: вирус, диарея, мүйізді ірі қара, серологиялық зерттеу, стандартты қансарысулар, қансарысу панелі.

SELECTION OF STRONG POSITIVE SERUM SAMPLES FROM CATTLE INFECTED WITH BOVINE VIRAL DIARRHEA

Bashenova E.E.*, Nissanova R.K., Zharmukhametova A.Zh. Akshalova P.B., Mamanova Sa.B., Kirpichenko V.V.

«Kazakh Scientific Research Veterinary Institute» LLP, Almaty, 050016, Republic of Kazakhstan
eralievna86@mail.ru

ABSTRACT

Viral diarrhoea is one of the most common and economically important diseases in cattle, causing significant losses in productivity and increased mortality in young livestock. Effective diagnosis of the disease requires the use of standardised sera that ensure high accuracy and reproducibility of laboratory results. Selection of sera to obtain standard sera for the diagnosis of bovine viral diarrhoea represents a key challenge in the development of a standard sera panel. During monitoring in some regions of the Republic of Kazakhstan (Almaty, Mangistau, Karaganda, Turkistan oblasts) 399 samples of biomaterial from cattle were collected in private subsidiary farms and serological method of research was applied. In a serological test, specific diarrhoea virus antibodies were detected in 310 serum samples. Comparative studies of sensitivity and stability of the positive sera with positive standard serum from the kit (ID Vet) were performed. During selection of sera, several factors were determined: specificity and sensitivity of the sera used, with consideration of the peculiarities of the epizootic situation in the region. This research work culminates in the production of a positive serum for the candidate from field-derived natural BVDV disease infections, and shortens the production cycle and saves costs.

Key words: virus, diarrhoea, bovine, serological examination, standard serums, serum panel.