

Маманова С. Б., ветеринария ғылымдарының кандидаты, жетекші ғылыми қызметкер, **негізгі автор**, <https://orcid.org/0000-0003-2317-8779>

«Қазақ ғылыми зерттеу ветеринария институты» ЖШС, Алматы қ., Райымбек даңғылы 223, 050000, Қазақстан Республикасы, sal.71@mail.ru

Башенова Э. Е., PhD, аға ғылыми қызметкер, <https://orcid.org/0000-0001-6162-2274>

«Қазақ ғылыми зерттеу ветеринария институты» ЖШС, Алматы қ., Райымбек даңғылы 223, 050000, Қазақстан Республикасы, eralievna86@mail.ru

Қаймолдина С. Е., PhD докторант, кіші ғылыми қызметкер, <https://orcid.org/0000-0002-7658-5805>

«Қазақ ғылыми зерттеу ветеринария институты» ЖШС, Алматы қ., Райымбек даңғылы 223, 050000, Қазақстан Республикасы, sayra_kaymoldina@mail.ru

Мусаева А. К., биология ғылымдарының докторы, бас ғылыми қызметкер, <https://orcid.org/0000-0002-6329-6959>

«Қазақ ғылыми зерттеу ветеринария институты» ЖШС, Алматы қ., Райымбек даңғылы 223, 050000, Қазақстан Республикасы, AssiyaKyblashevna@mail.ru

Оспанов Е. К., ветеринария ғылымдарының кандидаты, жетекші ғылыми қызметкер, <https://orcid.org/0000-0001-6903-3570>

«Қазақ ғылыми зерттеу ветеринария институты» ЖШС, Алматы қ., Райымбек даңғылы 223, 050000, Қазақстан Республикасы, ergan_68@mail.ru

Қарабасова А. С., PhD, аға ғылыми қызметкер, <https://orcid.org/0000-0001-6118-0576>

«Қазақ ғылыми зерттеу ветеринария институты» ЖШС, Алматы қ., Райымбек даңғылы 223, 050000, Қазақстан Республикасы, aiken.karabasova@mail.ru

Алиханов Қ. Д., PhD, қаум.профессор, orcid.org/0000-0001-9514-7678

«Қазақ ұлттық аграрлық зерттеу университеті» КеАҚ, Алматы қ., Абай проспектісі 8, А15Е1Р3, Қазақстан Республикасы, mr.kuantar_87@mail.ru

Mamanova S. B., candidate of Veterinary Sciences, leading Researcher, **the main author**, <https://orcid.org/0000-0003-2317-8779>

«Kazakh Scientific Research Veterinary Institute» LLP, 223 Rayymbek Avenue, Almaty, Republic of Kazakhstan, sal.71@mail.ru

Bashenova E. E., PhD, senior Researcher, <https://orcid.org/0000-0001-6162-2274>

«Kazakh Scientific Research Veterinary Institute» LLP, 223 Rayymbek Avenue, Almaty, Republic of Kazakhstan, eralievna86@mail.ru

Kaymoldina S.Y., PhD student, junior Researcher, <https://orcid.org/0000-0002-7658-5805>

«Kazakh Scientific Research Veterinary Institute» LLP, 223 Rayymbek Avenue, Almaty, Republic of Kazakhstan, sayra_kaymoldina@mail.ru

Mussayeva A. K., Doctor of Biological Sciences, head Researcher, <https://orcid.org/0000-0002-6329-6959>

«Kazakh Scientific Research Veterinary Institute» LLP, 223 Rayymbek Avenue, Almaty, Republic of Kazakhstan, AssiyaKyblashevna@mail.ru

Ospanov Y.K., candidate of Veterinary Sciences, leading Researcher, <https://orcid.org/0000-0001-6903-3570>

«Kazakh Scientific Research Veterinary Institute» LLP, 223 Rayymbek Avenue, Almaty, Republic of Kazakhstan, ergan_68@mail.ru

Karabassova A. S., PhD, scientific Researcher, <https://orcid.org/0000-0001-6118-0576> «Kazakh Scientific Research Veterinary Institute» LLP, 223 Rayymbek Avenue, Almaty, Republic of Kazakhstan, aiken.karabasova@mail.ru

Alikhanov K. D., Ph.D, associate Professor, <https://orcid.org/0000-0001-9514-7678>

NJSC "Kazakh National Agrarian Research University", Almaty, st. Abay 26, A15E1P3, Republic of Kazakhstan, mr.kuantar_87@mail.ru

**МҮЙІЗДІ ІРІ ҚАРА МАЛДЫҢ ЭНЗООТИЯЛЫҚ ЛЕЙКОЗЫНА АРНАЛҒАН
ДИАГНОСТИКАЛЫҚ СТАНДАРТТЫ ҚАН САРЫСУЫН СТАНДАРТТАУ ЖӘНЕ
ВАЛИДАЦИЯЛАУ НӘТИЖЕЛЕРІ**

RESULTS OF STANDARDIZATION AND VALIDATION OF DIAGNOSTIC STANDARD BLOOD SERUM FOR ENZOOTIC LEUKEMIA IN CATTLE

Аннотация

Соңғы он жылда әртүрлі жұқпалы ауруларды зертханалық балау кезінде, соның ішінде вирустық инфекцияларды балауда қолданылатын диагностикалық тест-жүйелерінің тексеруде стандартты қан сарысуларды қолдану қарқынды дамып келеді. Диагностикалық мақсатта мүйізді ірі қараның (МІҚ) лейкозын Дүниежүзілік жануарлар денсаулығы ұйымы ұсынған серологиялық балау әдістері иммуноферменттік талдау және агар геліндегі иммунодиффузды реакциясында кеңінен қолданылады. Осы әдістермен зерттеулер жүргізгенде ИФТ және ИДР диагностикалық тест-жүйелерінің Европалық экономикалық одақтың (*European Economic Community*, ЕС, енді *European Union*) бақылаулық зертханаларынан тексерістен өткен, халықаралық стандарт E05 қан сарысуымен тексеріледі.

Елімізде шығарылатын және шетелдік өндірушілердің диагностикалық тест-жүйелерінің сапасын бағалау үшін және диагностикалық зертханаларда талдаулардың орындалу сапасын арттыру мақсатында стандартты қан сарысуларының қолданудың маңызы зор. ЕО-мүше елдерде МІҚ лейкозына қарсы антиденелерді анықтауға арналып жасалатын қан сарысулар міндетті түрде E05 қан сарысуымен стандартталуы керек.

«Қазақ ғылыми- зерттеу ветеринария институты» ЖШС-нің вирусология зертханасында МІҚ лейкозын балауға арналған тест-жүйелердің сапасын бақылау үшін ұлттық стандартты қан сарысулары (Q-1/19-позитивті, K-1/19-негативті) әзірленді. Әзірленген ұлттық стандартты қан сарысулары МІҚ энзоотиялық лейкозын зерттеу жөніндегі Халықаралық Эпизоотиялық Бюроның референттік зертханасында (PiWet, Польша) оң баға алды, ұлттық стандартты қан сарысуына халықаралық E05 стандартқа сай екенін құптайтын сертификат алынды. Ұлттық стандартты қан сарысуы қазіргі кезде диагностикалық тест-жүйелердің сапасын бақылауда қолданылады.

Әзірленген стандартты қан сарысуы Q-1/19 үш жыл сақтау мен пайдалану кезінде телімділігі мен сезімталдығының тұрақтылығын халықаралық стандартты қан сарысуымен E05 және P9 (Польша) салыстырмалы зерттеулер жүргізілді. Мақалада әзірленген стандартты қан сарысуларын белгілі шетелдік тест-жүйелері өндірушілерінің *IDEXX Leukosis Blocking*, *IDEXX Leukosis Serum X2*, *IDEXX Leukosis Serum Screening* серологиялық балауға арналған ИФТ әдістерінде тексерудің салыстырмалы нәтижелері мен стандартты қан сарысуының сақтау мерзімінің нұсқаулығы көрсетілген.

ANNOTATION

Over the past ten years, the use of standard serums has been rapidly developing to standardize diagnostic kits for laboratory examination of various infectious diseases, including the detection of viral infections. For diagnostic purposes, serological methods for detecting bovine leukosis recommended by the World Animal Health Organization, enzyme immunoassay and the reaction of immunodiffusion in agar gel are used. When conducting studies using both of these methods, diagnostic kits for ELISA and AGID are tested with serum of the international standard E05, which is approved by the control laboratories of the European Economic Union (*European Economic Community*, EC, now *European Union*).

Of great importance is the use of standard blood serums to assess the quality of diagnostic test systems manufactured in the country and foreign manufacturers, and in order to improve the quality of analysis in diagnostic laboratories. Serums that are produced in the EU member states for the determination of antibodies against the cattle leukemia virus must necessarily be standardized using serum E05.

For this purpose, the national standard of blood serum (Q-1/19-positive, K-1/19-negative) has been developed in the laboratory of Virology of «Kazakh Scientific Research Veterinary Institute» LLP to control the quality of test systems for detecting bovine leukemia. The developed blood serums of the national standard received a positive assessment in the reference laboratory of the International Epizootic Bureau for the Study of Enzootic bovine leukosis (PiWet, Poland), a certificate was obtained on the conformity of the developed national standard serum to the international standard E05. Currently, the national standard serum is used to check the quality of diagnostic test systems.

Comparative studies of the sensitivity and stability of the developed standard serum Q-1/19 for three years of storage with international standard blood serums E05 and P9 (Poland) were carried out. The article presents comparative results of testing the developed standard serums in the ELISA methods for

serological determination of IDEXX Leukosis Blocking, IDEXX Leukosis Serum X2, IDEXX Leukosis Serum Screening of well-known foreign manufacturers of test systems and instructions on the shelf life of standard serum.

Түйін сөздер: лейкоз, стандартты қан сарысуы, иммуноферменттік талдау, Дүниежүзілік жануарлар денсаулығы ұйымы.

Key words: leukosis, standard blood serum, immunoenzyme assay, World Organization for Animal Health.

Кіріспе. Мүйізді ірі қара малдың энзоотикалық лейкозы (EBL- Enzootic bovine leucosis) - ісік сипатындағы созылмалы жұқпалы вирусты ауру. Ауру қоздырғышы - мүйізді ірі қара лейкоз вирусы (МІҚЛВ) (ағыл. BLV- bovine leucosis virus, орысша. ВЛКРС- вирус лейкоза крупного рогатого скота) - РНК вирустар классификациясының *Retroviridae* туысына, *Oncovirinae* тұқымдасына жататын, табиғаты жағынан лимфотропты ретровирус және адамның 1 типті Т-лимфотропты вирусымен (HTLV-1) генетикалық және антигендік қасиеттерімен туыс болып келеді [1, 2, 3, 4]. Қоздырғыш ағзаға енгеннен кейін жануарда өмір бойы провирус күйінде сақталады.

МІҚ лейкозы әлемнің көптеген елдерінде тіркелген, сонымен қатар Қазақстанда да жекелеген шаруа қожалықтарында кездеседі [5, 6, 7]. Бұл ауру әсіресе сиыр еті мен сүт өнімдерін өндіруші асыл тұқымды мал фермаларында қойылатын шектеулердің шығындары, серопозитивті жануарлардың экспортқа қабылданбауына және табыннан дереу жою және лимфосаркоманың нәтижесінде ақыры өліммен аяқталуына байланысты экономикалық маңызды болып табылады [8, 9].

Осы аурумен күресу және бақылау бағдарламалары енгізілген көптеген мемлекеттерде ХЭБ-ның халықаралық сауда ережелерін сақтауға, яғни жануарды және ұрықты импорттау, экспорттауға қатысты ұсынымдарын қатаң ұстанады. Бұл өз кезегінде МІҚЭЛ мүйізді ірі қара малдың энзоотикалық лейкозы бақылау бағдарламасының нәтижесі мен мал шаруашылығының қауіпсіздігінің кепілі бола алады [10, 11].

Ауруға қарсы іс-шаралардың кешенін сәтті жүзеге асыру үшін еліміздің бекіткен ветсанитариялық заңына сәйкес және ХЭБ-ның осы аурумен күресудегі арнайы әдіснамасына сай жүргізіледі [12, 13]. Ауруға шалдыққан МІҚ малды тірі кезінде серологиялық балау әдістерімен, яғни иммунодиффузды реакциясы (ИДР) және иммуноферменттік талдау (ИФТ) реакцияларымен тексеріледі. Аталған реакциялармен барынша ерте, әрі нақты анықтаудың нәтижесінде лейкозға шалдыққан жануарды сәтсіз табыннан жоюға бағытталған іс-шараларды жүргізудің ерте басталуына негіз болып отыр. Бұл әдістермен қан сарысуларын тексеруде халықаралық стандартты немесе референтті реагенттер деңгейінде калибрленген теріс, оң қан сарысу компоненттерін қолдану қажет [14]. Себебі әлемдік тәжірибеде ауруды балауға арналған препараттарды өндіру мен олардың сапасын бақылау үшін Халықаралық немесе ұлттық стандарттар қолданылып келеді. Стандартты қан сарысу ҚР зертханаларында пайдаланылатын тест-жүйелердің сапасын бағалауға, қызметкерлердің зерттеу жұмысы мен алынған нәтижелердің нақтылығына кепілдік бере алады [15, 16].

Қазіргі таңда Қазақстанда халықаралық референтті стандартқа сай калибрленген ұлттық стандартты позитивті қан сарысуы әзірленген [17, 18]. Әзірленген қан сарысуын ХЭБ талаптарына сай лиофильді кептірілген күйде өзінің телімділігі мен сезімталдылығын ұзақ уақыт ұстауы тиіс [19]. Ол өз кезегінде жасап шығарылған стандартты қан сарысуының қолжетімділігі мен үнемі сұранысқа ие болатындығына сенімділік береді. Осындай қажеттілікті ескере отырып, біздің мақсат елімізде алғаш рет ХЭБ талаптарына сай стандартты қан сарысуының үш жылдық сақтау мерзімін ИФТ әдісімен салыстырмалы зерттеу жұмыстары жүргізу болды.

Сонымен қатар, стандартты қан сарысулары иммуноферменттік тест-жүйелердің сапасының негізгі көрсеткіштері - сезімталдық, телімділік, қайталап тексеру мүмкіндігі және қасиеттердің тұрақтылығын анықтау болды.

Материалдар мен әдістер. Зерттеу жұмыстары мен әдістерді халықаралық валидациялау «ҚазҒЗВИ» ЖШС-нің вирусология зертханасы базасында және Ұлттық ветеринариялық ғылыми-зерттеу институтының МІҚЭЛ бойынша референттік зертханасында (PiWet, Польша) № 04/8-22-14, 09.2022 ж. келісім шарт аясында атқарылды.

Әзірленген ұлттық позитивті стандарттарды валидациялау мүйізді ірі қара малдың энзоотикалық лейкозы бойынша референттік зертханада ХЭБ сарапшыларымен бірге және ХЭБ

Е05 халықаралық стандартты қан сарысуымен тексерілген IDEXX (Нидерландия) өндірушісінің серологиялық зерттеуге арналған (*IDEXX Leukosis Blocking, IDEXX Leukosis Serum X2, IDEXX leukosis Serum Screening*) әртүрлі тест-жиынтықтарын пайдалану арқылы атқарылды. Реакцияларды қою және зерттеу нәтижелерін есепке алу тест - жиынтықтарын өндірушілердің ұсынған нұсқаулықтарына сәйкес жүзеге асырылды. Бұл тест-жиынтықтары ультра тазартылған вирус лизатын қолдануға негізделген

ИФТ әдісімен бірнеше сақиналы тестілеу (*ring test*) жүргізілді. Ұлттық стандартты қан сарысуға лайық үлгілерді серологиялық сақиналы тестілеу Еуро Кеңес директивасының 88/406/ЕС талаптарына және 2019 жылғы «Жердегі жануарларына арналған диагностикалық сынақтар мен вакциналар бойынша нұсқаулықтары ХЭБ 2019» басшылығының сипаттамасына (2.2.1 және 3.4.9-тараулар) сәйкес жүргізілді [18, 19]. ИФТ әдісінде Q-1/19 позитивті стандартты қан сарысулары 1:10, 1:100, 1:200, :400, 1:800, 1:1600 титрінде негативті К-1/19 қан сарысуымен сұйылтылды. Алынған мәліметтерді статистикалық талдау компьютерлік *GraphPad prism 8.0* бағдарламасымен жүргізілді.

Вирусология зертханасында лейкоз вирусын табиғи жұқтырған МІҚ қан сарысуынан әзірленген ұлттық Q-1/19 позитивті, К-1/19 негативті стандартты қан сарысуларының №1, 2019 ж. партиясынан алынған 10 дана флакондағы қан сарысуларын халықаралық стандартты реагенттер дәрежесінде калибрленіп, салыстырмалы зерттеулер жүргізілді (1-сурет).



Сурет 1 – МІҚ лейкоз балауға арналған ұлттық позитивті - Q-1/19 және негативті - К-1/19 стандартты қан сарысулары және Е05-халықаралық стандартты қан сарысуы

Зерттеу нәтижелері және оны талқылау. ХЭБ талаптарына сәйкес антиденелерді талдауға арналған стандартты қан сарысуларын лиофильді кептірілген күйде +4 °С температурада кемінде 3 жыл бойы өзінің сипаттамаларын, яғни телімділігін және сезімталдылығын сақтауы қажет. Ол үшін ең қолайлы тәсіл стандартты қан сарысуларды лиофильді кептіру болды [20].

ХЭБ-ның жұқпалы ауруларға арналған «Сапа стандарты және ветеринариялық зертханаларға арналған нұсқаулық» бойынша «Антиденелерді талдауға арналған қан сарысуларының халықаралық анықтамалық стандарттарының талаптары» нұсқаулығына сүйене отырып лиофильді кептірілген ұлттық стандартты қан сарысуларының (ҰСК) Q-1/19, К-1/19 пайдалануының нұсқаулығына сай зерттеулер жүргізілді.

Бастапқы стандартты қан сарысуын әзірлегенде алынатын қордан көбірек алынып, ол кем дегенде 3 жылға жетуі керек. Оны күнделікті зертхана жағдайында пайдалану барысында сақтау мен ерітудің, ерітілген аликвоттардың мөлшері ұсынылды (кесте-1).

Кесте 1 – Стандартты қан сарысуларының серологиялық әдістерде пайдалану және сақтау көлемі

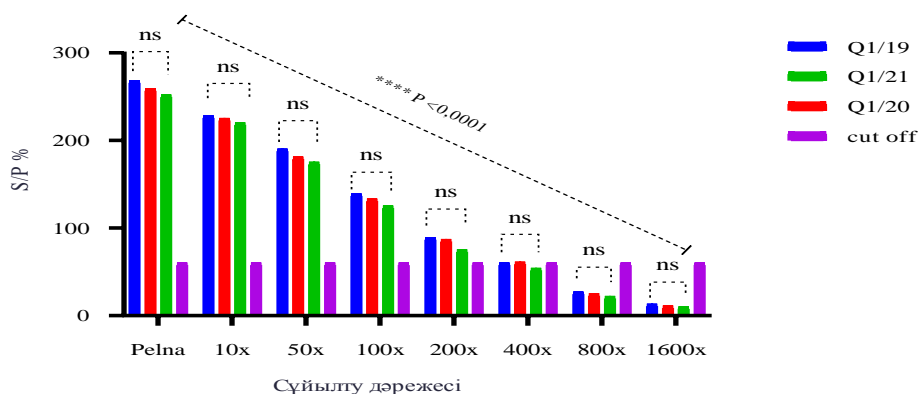
ҰСК	Түрі	Көлемі (мкл)	Сұйылту деңгейі (негативті қан сарысуымен)			Сақтау		
			Тұтас (ерітілмеген)	1:10	1:100	T ⁰	мерзімі	Мөлшері (флакон)
ИФТ								
Q-1/19	лиофильді	1000	+			+5 (±3 °C)	3 жыл	1 дана
	аликвот	100	+			-20 °C	6 ай	10 дана
	аликвот	100		+		-20 °C	6 ай	5 дана
	аликвот	100			+	-20 °C	6 ай	5 дана
К-	лиофильді	2000	+			-20 °C	6 ай	1 дана

1/19	аликвот	100	+			-20 °C	6 ай	10 дана
ИДР								
Q-1/19	лиофильді	1000	+			+5 (±3°C)	5 жыл	1 дана
	аликвот	200		+		-20 °C	6 ай	5 дана
K-1/19	лиофильді	2000	+			-20 °C	6 ай	1 дана
	аликвот	200	+			-20 °C	6 ай	5 дана

ҰСҚ лиофильді және олардың аликвоттарын сақтау және тексеру ережесіне сай әр түрлі мөлшерде және сұйылту деңгейінде сақталады. Ол күнделікті ішкі лабораториялық жұмыстар және жаңа тест-жүйелерін тексеру үшін қолданылуға ыңғайлы және зертханада болуы тиіс.

ИФТ әдісімен тексеру кезінде пайдаланылатын ҰСҚ 100 мкл-де тұтас күйінде, 100 мклден 1:10 сұйылтуда және 100 мкл 1:100 сұйылтуда, ал ИДР әдісімен зертеу үшін тұтас және 1:10 сұйылтуда әр қайсысынан 10 дана криобиркаларда - 20 °C температурада мұздатқышта 6 ай уақытқа сақталады.

Әр түрлі сұйылтымдағы аликвоттарды 6 ай сайын серологиялық әдістермен және бірнеше тест-жүйелерімен белсенділігін тексерілді. Өзірленген ҰСҚ лиофильді партиядан әр жерінен 10 дана стандартты қан сарысуын алып, кестеде көрсетілген сұйылту деңгейінде ИФТ әдісінде 2 қайталаумен үш түрлі сұйылту деңгейінде барлығы 60 сынаманы 12 ай сайын тексеріліп, ИФТ талдағыш құрылғысында қолданылған тест-жүйенің нұсқаулығына сай оптикалық мәндері есепке алынып, салыстырмалы тексерілді. Қателесу мүмкіндігі 5% аспауы қажет (2-сурет).



****P < 0,0001 (сенімді нәтиже); ns – арасында айтарлықтай айырмашылықтар жоқ (P > 0,05);

Сурет 2 – Әр жыл сайын ҰСҚ- Q-1/19 ИФТ әдісімен салыстырмалы деңгейде тексеру нәтижелерінің қисық сызық сұлбасы

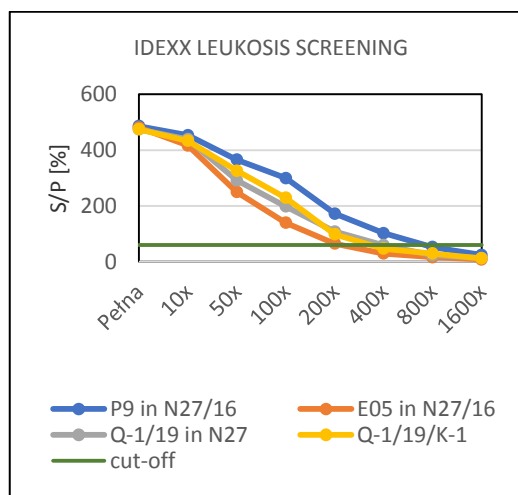
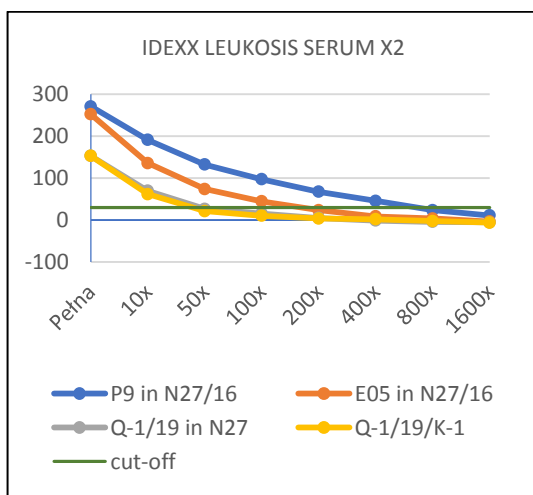
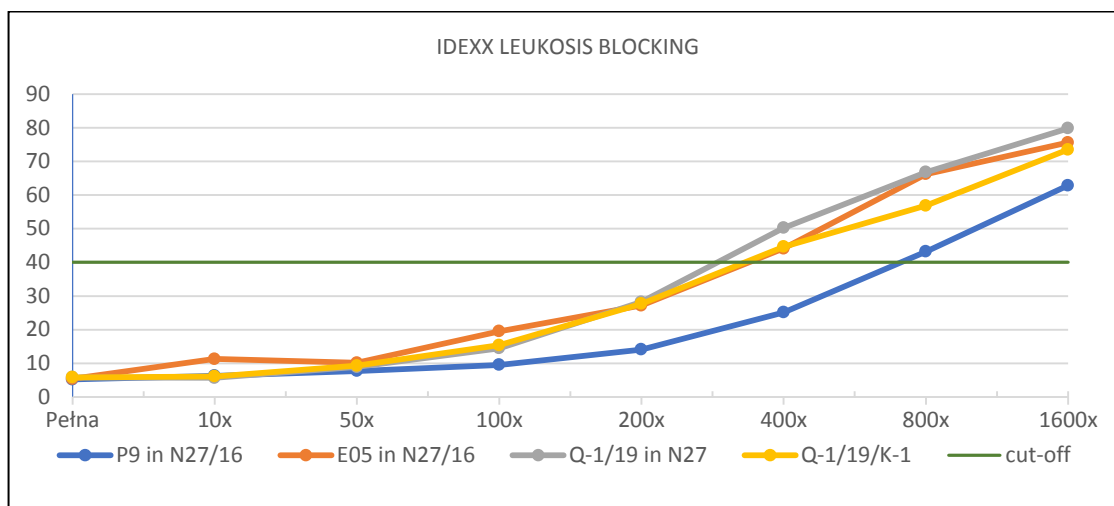
Зерттеу нәтижесінде ИФТ әдісімен Q-1/19 бастапқы (2019 жылы) оптикалық мәндері көрсеткіштерін есепке алып 2020 жылы және 2021 жылдары зерттелінген орташа мәні алынды. Біздің зерттеуімізде үш жылдық зерттеудің салыстырмалы нәтижесінде ҰСҚ Q-1/19 лиофильді кептірілген күйде тоңазытқышта T° +5- ±3 °C сақтауда айтарлықтай өзгеріске ұшырамады. ИФТ әдісімен зерттеуде телімділігі мен сезімталдылығы бірдей нәтижелер көрсетті. Осылайша, алынған мәліметтерге сәйкес, ҰСҚ Q-1/19 лиофилизацияланған зертханалық модулі МІҚ ЛВ антиденелері бар позитивті және негативті стандартты қан сарысуының жарамдылық мерзімі сақтау кезінде үш жылды құрады.

Біздің зерттеуімізде үш жыл ішінде лиофильді кептіруден кейін ҰСҚ телімділігі мен сезімталдылығымен қоса лиофильді кептерілген қан сарысуының еруі, түсі, түрі салыстырмалы түрде есепке алынды.

Зерттеудің келесі сатысында үш жыл сақталған Q-1/19 қан сарысуын лейкоз бойынша халықаралық стандартты қан сарысуы E05 салыстырмалы зерттеулер жүргізілді.

Жоғарыда аталған ҰСҚ және ХСҚ панелін қолдана отырып, ИФТ әдісіне арналған тест-жүйенің IDEXX Leukosis Blocking, IDEXX Leukosis Serum X2, IDEXX leukosis Serum Screening бірнеше сериясын параллель зерттеу нәтижелері бойынша белсенділік пен сезімталдылығы тұрғысынан салыстырмалы титрлеудің қисық сызық сұлбасымен нәтижелер алынды. Бұл тест-

жүйелері үлгісін біз ұлттық стандартты сарысуларды әзірлеу, өндіру және сынау кезінде ХСҚ E05 сезімталдықтың бірлігі ретінде пайдаландық (3-сурет).



Сурет 3 – Үш жыл сақталған ҰСҚ Q-1/19 салыстырмалы деңгейде әр түрлі тест -жиынтықтарымен тексеру нәтижелері

Суретте көрсетілгендей, әртүрлі тест-жүйелерінің әр-түрлілігіне қарамастан толығымен қолайлы нәтиже берді. Салыстырмалы зерттеу нәтижесінде Q-1/19 қан сарысуын ұлттық стандарты ретінде пайдалану ұсынылады.

Біз МІҚ лейкозын балауға арналған ұлттық стандартты қан сарысуын зерттедік және олардың сезімталдығы мен телімділігіне оң баға алдық. Тәуелсіз зерттеу нәтижелері бойынша Қазақстандық лейкозға қарсы ҰСҚ Q-1/19 халықаралық талаптарға толық сәйкес деп жіктелді. Енді коммерциялық тест-жиынтықтарының сапасын тексеру үшін біз әрқашан ұлттық стандартты реагенттерді қолданамыз. Бұл диагностикалық тест жиынтықтарының сапасын дәл және объективті бағалауға мүмкіндік береді.

Қорытынды. Әзірленген стандартты қан сарысуы ұзақ уақыт сақталуына қарамастан үш жылдан кейінгі салыстырмалы тексеру барысында халықаралық стандартты қан сарысуының сезімталдығы мен телімділігі жағынан салыстырмалы зерттеу нәтижесінде бірдей деңгейде болды. Диагностикалық жұмысты дәл және объективті жүргізу үшін сапалы, әрі телімді және сезімтал диагностикалық құралдардың болуы міндетіне орай әзірленген позитивті Q-1/19 стандартты қан сарысуы еліміздің ветеринариялық диагностикалық препараттардың сапасын дамытуға, диагностикалық тест-жүйелерімен ИФТ әдістерінде қолдануға болады. Стандартты қан сарысуының дайындау технологиялық әдістері халықаралық реагенттер дәрежесінде валидациялау мен стандарттаудан өтті. Қазіргі таңда ИДР, ИФТ әдістері үшін әртүрлі коммерциялық тест-жиынтықтарының сапасын тексеру үшін қол жетімді. Зерттеуде алынған біздің жұмысымыздың

нәтижелері еліміздің МІҚ лейкозы бойынша эпизоотиялық жағдайды жақсартуға көмектескен жұмыстың бір бөлігі болып табылады.

Қаржыландыру туралы ақпарат. Ғылыми жұмыс Қазақстан Республикасы Ауыл шаруашылығы министрлігінің 2021-2023 жылдарға арналған бағдарламалық мақсатты қаржыландырудың «Диагностика, аурудың алдын алу, ауру малдарды емдеу және топырақтағы сібір жарасы ошақтарын залалсыздандыру құралдары мен әдістерін әзірлеу және өндіріске ұсыну» ғылыми-техникалық бағдарламасының (ИТН BR 10764975) «Мүйізді ірі қара мал лейкозына диагностикалық зерттеуге арналған ұлттық стандартты қан сарысуды әзірлеу және өндіріске ұсыну» жобасы бойынша орындалды.

ӘДЕБИЕТТЕР ТІЗІМІ

1 Gillet, N. Mechanisms of leukemogenesis induced by bovine leukemia virus: prospects for novel anti-retroviral therapies in human [Text] / N.Gillet, A. Florins, M.Boxus [et al.] // *Retrovirology*. – 2007. – V. 4. – p. 18-1-18-42.

2 Beyer, J. Cattle Infected with Bovine Leukaemia Virus may not only Develop Persistent B-cell Lymphocytosis but also Persistent B-cell Lymphopenia [Text] / J. Beyer, B. Köllner, J. Teifke [et al.] // *Journal of Veterinary Medicine*. – 2002. – V. 49. Issue 6. – p. 270-277.

3 Barez, P., Recent Advances in BLV Research [Text] / P. Barez, A. De Brogniez., A.Carpentier [et al.] // *Viruses*. – 2015. – V. 7. Issue 11. – p. 6080-6088.

4 Rodríguez, S. Preventive and Therapeutic Strategies for Bovine Leukemia Virus: Lessons for HTLV [Text] / S. Rodríguez, Florins A., Gillet N. [et al.] // *Viruses*. – 2011. – V. 3. – p. 1210-1248.

5 Bartlett, P.C. Current Developments in the Epidemiology and Control of Enzootic Bovine Leukosis as Caused by Bovine Leukemia Virus [Text] / P.C. Bartlett, V.J. Ruggiero, H.C. Hutchinson [et al.] // *Pathogens*. – 2020. – V. 9. Issue 12. – p. 1058-1-1058-13.

6 Бахтаунов, Ю. Х. Динамика распространения лейкоза крупного рогатого скота в Казахстане [Текст] / Ю.Х. Бахтаунов // *Сборник научных трудов КазНИВИ*. – 2011. – Т. 57. – С. 98-101.

7 Маукіш, А. Серологический мониторинг лейкоза крупного рогатого скота за 2015-2018 годы и зонирование территории Северо-Казахстанской области [Текст] / А.Маукіш, С.Б.Маманова, Э.Е. Башенова. [и др.] // *Сборник научных трудов КазНИВИ*. – 2019. – Т. 65. – С. 234-238.

8 Симонян, Г. А. Экономический ущерб от лейкоза [Текст] / *Животноводство*. – 1997. – №5. – С. 11-12.

9 Ibazhanova, A. Enzootic bovine leucosis in cows on farms in Almaty and Turkestan regions of Kazakhstan [Text] / A. Ibazhanova, Namet A, Nurgazy B. [et al.] // *E3S Web of Conferences*. – 2020. – V. 176. – p. 02003-1-02003-7.

10 WHO Expert Committee on biological standardization. Recommendations for the preparation and establishment of international and other biological reference standards. – (<https://www.who.int/publications/i/item/9241209321>).

11 Wright, E. Standardisation et Validation Des Techniques Immunoenzymatiques Applicables [Text] / Nilsson E.M., Van Rooij A. [et al.] // *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* – 1993. – V. 12. Issue 2. – p. 435-450.

12 Қазақстан Республикасы Ауыл шаруашылығы министрінің Бұйрығы. Ветеринариялық (ветеринариялық-санитариялық) қағидаларды бекіту туралы: 2015 жылдың 29 маусымы, №7-1/587 бекітілген. – (<https://adilet.zan>).

13 OIE Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, 2018. – (<https://www.woah.org/en/produit/manual-of-diagnostic-tests-and>).

14. OIE Guideline International Reference Antibody Standards for Antibody Assays. – (<https://www.woah.org/app/uploads/2021/03/a-guideline-pcr>).

15 Канев, А. Н. Принципы стандартизации панелей сывороток, предназначенных для оценки качества диагностических тест-систем (на примере иммуноферментной тест-системы для выявления антител к ВИЧ) [Текст] / А. Н. Канев, М.С. Воробьева, С.Н. Загребельный [и др.] // *Вопросы вирусологии*. – 1992. – №2. – с. 122-124.

16 Блоцкая, О. Стандартизация средств серологической диагностики энзоотического лейкоза крупного рогатого скота [Текст] / О.Блоцкая, А. Головкин., Ю.Родина [и др.] // *Ветеринарная биотехнология*. – 2018. – Т. 32. Выпуск 1. - С. 436-441.

17 Башенова, Э.Е. Сибір лейкозын серологиялық балауға қолданылатын стандартты позитивті қансарысу үлгілерін даярлау [Мәтін] / Э.Е. Башенова, С.Б.Маманова, А.Маукиш [және т.б.] // Ғылым және білім. – 2019. – №4 (57). – б. 112-116.

18 Маманова, С.Б. Мүйізді ірі қара лейкозын серологиялық балауына арналған ұлттық стандартты позитивті қансарысуын әзірлеу [Мәтін] / С.Б. Маманова, Э.Е. Башенова, Б.С. Қалисынов [және т.б.] // Ғылым және білім. – 2020. – №4-1(61). – б. 173-177.

19 Быкова, Н.Н. Оценка активности национального стандарта BLV-позитивной и негативной сывороток крови крупного рогатого скота [Текст] / Н.Н. Быкова, В.И. Юдин, В.М. Безгин [и др.] // Ветеринария. – 2007. – №8. – с. 28-31.

20 Способ получения сыворотки крови для проведения диагностических исследований при лейкозе крупного рогатого скота [Текст]: пат. №7150 (KZ) ҚР ӘМ: U (11) 7150 / Султанов А.А.; заявитель и патентообладатель КазНИВИ. заявл. 29.03.2022; опубл. 27.05.2022, Бюл. № 21.

REFERENCES

1 Gillet, N. Mechanisms of leukemogenesis induced by bovine leukemia virus: prospects for novel anti-retroviral therapies in human [Text] / N.Gillet, A. Florins, M.Boxus [et al.] // *Retrovirology*. – 2007. – V. 4. – p. 18-1-18-42.

2 Beyer, J. Cattle Infected with Bovine Leukaemia Virus may not only Develop Persistent B-cell Lymphocytosis but also Persistent B-cell Lymphopenia [Text] / J. Beyer, B. Köllner, J. Teifke [et al.] // *Journal of Veterinary Medicine*. – 2002. – V. 49. Issue 6. – p. 270-277.

3 Barez, P., Recent Advances in BLV Research [Text] / P. Barez, A. De Brogniez, A.Carpentier [et al.] // *Viruses*. – 2015. – V. 7. Issue 11. – p. 6080-6088.

4 Rodríguez, S. Preventive and Therapeutic Strategies for Bovine Leukemia Virus: Lessons for HTLV [Text] / S. Rodríguez, Florins A., Gillet N. [et al.] // *Viruses*. – 2011. – V. 3. – p. 1210-1248.

5 Bartlett, P.C. Current Developments in the Epidemiology and Control of Enzootic Bovine Leukosis as Caused by Bovine Leukemia Virus [Text] / P.C. Bartlett, V.J. Ruggiero, H.C. Hutchinson [et al.] // *Pathogens*. – 2020. – V. 9. Issue 12. – p. 1058-1-1058-13.

6 Bahtahunov, YU. H. Dinamika rasprostraneniya lejkoza krupnogo rogatogo skota v Kazahstane [Tekst] / YU.H. Bahtahunov // *Sbornik nauchnyh trudov KazNIVI*. – 2011. – T. 57. – S. 98-101.

7 Maukish, A. Serologicheskij monitoring lejkoza krupnogo rogatogo skota za 2015-2018 gody i zonirovaniye territorii Severo-Kazahstanskoj oblasti [Tekst] / A.Maukish, S.B.Mamanova, E.E. Bashenova. [i dr.] // *Sbornik nauchnyh trudov KazNIVI*. – 2019. – T. 65. – S. 234-238.

8 Simonyan, G. A. Ekonomicheskij ushcherb ot lejkoza [Tekst] / *ZHivotnovodchestvo*. – 1997. – №5. – S. 11-12.

9 Ibazhanova, A. Enzootic bovine leucosis in cows on farms in Almaty and Turkestan regions of Kazakhstan [Text] / A. Ibazhanova, Namet A, Nurgazy V. [et al.] // *E3S Web of Conferences*. – 2020. – V. 176. – p. 02003-1-02003-7.

10 WHO Expert Committee on biological standardization. Recommendations for the preparation and establishment of international and other biological reference standards. – (<https://www.who.int/publications/i/item/9241209321>).

11 Wright, E. Standardisation et Validation Des Techniques Immunoenzymatiques Applicables [Text] / Nilsson E.M., Van Rooij A. [et al.] // *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* – 1993. – V. 12. Issue 2. – p. 435-450.

12 Қазақстан Республикасы Ауыл шаруашылығы министрінің Бұйрығы. Ветеринариялық (ветеринариялық-санитариялық) қарғаларды бекіту туралы: 2015 жылдың 29 маусымы, №7-1/587 бекітілген. – (<https://adilet.zan>).

13 OIE Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, 2018. – (<https://www.woah.org/en/produit/manual-of-diagnostic-tests-and>).

14. OIE Guideline International Reference Antibody Standards for Antibody Assays. – (<https://www.woah.org/app/uploads/2021/03/a-guideline-pcr>).

15 Kanev, A. N. Principy standartizacii panelej syvorotok, prednaznachennyh dlya ocenki kachestva diagnosticheskikh test-sistem (na primere immunofermentnoj test-sistemy dlya vyyavleniya antitel k VICH) [Teks] / A. N. Kanev, M.S. Vorob'eva, S.N. Zagrebel'nyj [i dr.] // *Voprosy virusologii*. – 1992. – №2. – s. 122-124.

16 Blockaya, O. Standartizaciya sredstv serologicheskoy diagnostiki enzooticheskogo lejkoza krupnogo rogatogo skota [Tekst] / O.Blockaya, A. Golovko., YU.Rodina [i dr.] // Veterinarnaya biotekhnologiya. – 2018. – Т. 32. Vypusk 1. - S. 436-441.

17 Bashenova, E.E. Siyr lejkozyn serologiyalyk balaura koldanylatyn standartty pozitivti kansarysu ylgilerin dayarlau [Mətin] / E.E. Bashenova, S.B.Mamanova, A.Maukish [zhəne t.b.] // Fylym zhəne bilim. – 2019. – №4 (57). – b. 112-116.

18 Mamanova, S.B. Myjizdi iri kara lejkozyn serologiyalyk balauyna arnalğan ylttyk standartty pozitivti kansarysuyn əzirleu [Mətin] / S.B. Mamanova, E.E. Bashenova, B.S. Qalisynov [zhəne t.b.] // Fylym zhəne bilim. – 2020. – №4-1(61). – b. 173-177.

19 Bykova, N.N. Ocenka aktivnosti nacional'nogo standarta BLV-pozitivnoj i negativnoj syvorotok krovi krupnogo rogatogo skota [Tekst] / N.N. Bykova, V.I. YUdin, V.M. Bezgin [i dr.] // Veterinariya. – 2007. – №8. – s. 28-31.

20 Sposob polucheniya syvorotki krovi dlya provedeniya diagnosticheskikh issledovaniy pri lejkoze krupnogo rogatogo skota [Tekst]: pat. №7150 (KZ) ҚР ӘМ: U (11) 7150 / Sultanov A.A.; zayavitel' i patentoobladatel' KazNIVI. zayavl. 29.03.2022; opubl. 27.05.2022, Byul. № 21.

РЕЗЮМЕ

За последние десять лет стремительно развивается использование стандартных сывороток для стандартизации диагностических наборов при лабораторном обследовании различных инфекционных заболеваний, в том числе при выявлении вирусных инфекций. С диагностической целью используются серологические методы выявления лейкоза крупного рогатого скота (КРС), рекомендованные Всемирной организацией здравоохранения животных (ВОЗЖ, МЭБ), иммуноферментный анализ (ИФА) и реакция иммунодиффузии в агаровом геле (РИД). При проведении исследований обоими указанными методами диагностические наборы для ИФА и РИД проверяются сывороткой международного стандарта E05, который одобрен контрольными лабораториями Европейского экономического союза (European Economic Community, ЕС, теперь European Union).

Большое значение имеет применение стандартных сывороток крови для оценки качества диагностических тест-систем, выпускаемых в стране и зарубежных производителей, в целях повышения качества выполнения анализов в диагностических лабораториях. Сыворотки, которые вырабатывают в странах-членах ЕС для определения антител против вируса лейкоза КРС должны быть непременно стандартизированы с использованием сыворотки E05.

С этой целью в лаборатории вирусологии ТОО «Казахский научно - исследовательский ветеринарный институт» разработан национальный стандарт сыворотки крови (Q-1/19-положительные, K-1/19-отрицательные) для контроля качества тест-систем для выявления лейкоза КРС. Разработанные сыворотки крови национального стандарта получили положительную оценку в референтной лаборатории Международного эпизоотического бюро по изучению энзоотического лейкоза КРС (PiWet, Польша), получен сертификат о соответствии разработанной национальной стандартной сыворотки международному стандарту E05. В настоящее время национальная стандартная сыворотка используется для проверки качества диагностических тест-систем.

Были проведены сравнительные исследования чувствительности и стабильности разработанной стандартной сыворотки Q-1/19 в течение трех лет хранения с международными стандартными сыворотками крови E05 и P9 (Польша). В статье представлены сравнительные результаты проверки разработанных стандартных сывороток в методиках ИФА для серологического определения IDEXX Leukosis Blocking, IDEXX Leuskosis Serum X2, IDEXX leukosis Serum Screeпід известных зарубежных производителей тест-систем и инструкция по срокам хранения стандартной сыворотки.