

УДК 619:616-006.446:632.2

М. С. МАНДИГРА, доктор ветеринарних наук, професор, член-кореспондент НААН
Національна академія аграрних наук України

Г. Б. АЛЄКСЕСЬВА, завідувач НДВ імунологічних досліджень

О. С. ПЕТРЕНКО, кандидат ветеринарних наук

Державний науково-дослідний інститут з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи

ПОРІВНЯЛЬНО-СТАТИСТИЧНИЙ АНАЛІЗ МЕТОДІВ АРБІТРАЖНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ ЛЕЙКОЗУ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ

У даній статті проведений статистичний аналіз результатів арбітражних досліджень, направлених на виявлення антитіл проти вірусу лейкозу великої рогатої худоби. Отримані результати не показали достовірної переваги методу імуноферментного аналізу в порівнянні з реакцією імунодифузії.

Ключові слова: арбітражні дослідження, лейкоз, ВРХ, імуноферментний аналіз, реакція імунодифузії, порівняння.

Лейкоз великої рогатої худоби – хронічна інфекційна хвороба, перебігає частіше безсимптомно, а при наявності ознак розвитку злого процесу проявляється лімфоцитозом, утворенням пухлин у кровотворних та інших органах і тканинах.

Збудник хвороби – онкогенний РНК-вмісний вірус (ВЛ ВРХ) екзогенного походження, роду ретровірусів, якому властивий тропізм до лімфоїдних клітин.

Найбільш розповсюдженими методами діагностики цього захворювання є реакція імунодифузії в агаровому гелі (РІД), твердофазний імуноферментний аналіз (ІФА), а також ПЛР. Ці діагностичні тести є основою програм з профілактики та ліквідації ензоотичного лейкозу великої рогатої худоби в багатьох країнах світу [1].

Незважаючи на широкомасштабну роботу, що проводиться в Україні з оздоровлення поголів'я великої рогатої худоби (ВРХ) від лейкозу, проблема боротьби із цією інфекційною хворобою залишається актуальною [1, 3].

Мета досліджень. Провести порівняльний статистичний аналіз переваги методу РІД або ІФА для виконання арбітражних досліджень.

Матеріали і методи дослідження. Впродовж 2009–2013 рр. співробітниками НДВ імунологічних досліджень було проведено арбітражне дослідження 5890 зразків сироваток крові методами РІД (набір для серологічної діагностики лейкоза крупного рогатого скота – ФГУП “Курская биофабрика – фирма “БИОК”) та ІФА (Bovine leukemia virus antibody test kit – Veterinary Medical Research & Development, USA). Для статистичного аналізу результатів таких досліджень обчислений Хі-квадрат (χ^2) [4].

Результати досліджень. Акцентуючи увагу на протилейкозних оздоровчих заходах у тваринництві України слід зазначити, що в приватному секторі постійно виявляється значна кількість тварин інфікованих вірусом лейкозу (табл. 1).

Таблиця 1

Найбільша кількість виявлення РІД позитивних тварин у приватному секторі при планових дослідженнях

| Області | 2009 | | 2010 | | 2011 | | 2012 | | 2013 | |
|--------------|--------|------|--------|------|--------|------|--------|------|--------|------|
| | К-ть | РІД+ | К-ть | РІД+ | К-ть | РІД+ | К-ть | РІД+ | К-ть | РІД+ |
| Житомирська | 127876 | 1078 | 116573 | 705 | 113072 | 723 | 105939 | 489 | 102039 | 383 |
| Київська | 48537 | 3209 | 43484 | 1868 | 41905 | 1666 | 42151 | 1519 | 42357 | 994 |
| Сумська | 79662 | 2693 | 69177 | 2729 | 62712 | 1566 | 59179 | 2206 | 57476 | 1252 |
| Харківська | 55736 | 2267 | 56353 | 2172 | 54185 | 1939 | 59598 | 1795 | 50128 | 1661 |
| Чернігівська | 98106 | 2369 | 88711 | 2305 | 82400 | 1913 | 81545 | 1596 | 78142 | 1058 |

Поширення лейкозу у приватному секторі господарювання на території України неоднорідне. Найбільша кількість позитивних результатів за вказаний період встановлена державними лабораторіями ветеринарної медицини у Сумській – 10746 випадків, що становить 3,3 % від 328206 досліджених зразків, та Київській області – 9256 випадків, що становить 4,2 % (з 218434).

Відповідно до чинної “Інструкції з профілактики та оздоровлення великої рогатої худоби від лейкозу” у разі виникнення суперечок щодо висновків лабораторної діагностики лейкозу ВРХ, на вимогу власника тварини, ДНДІЛДВСЕ проводить арбітражне дослідження. Результати арбітражних досліджень є остаточними.

Найбільша кількість матеріалу для арбітражних досліджень надійшла з приватного сектору Сумської – 1158 та Київської областей – 926 зразків (табл. 2).

Таблиця 2

Найбільша кількість арбітражних досліджень ДНДІЛДВСЕ

| Області | Роки досліджень | | | | |
|----------|-----------------|------|------|------|------|
| | 2009 | 2010 | 2011 | 2012 | 2013 |
| Сумська | 323 | 352 | 205 | 231 | 47 |
| Київська | 268 | 195 | 171 | 205 | 87 |

З метою проведення статистичного аналізу результатів арбітражних досліджень методами РІД та ІФА на лейкоз великої рогатої худоби нами складена таблиця сполученості двох якісних ознак 2*2 та обчислений Хі-квадрат (χ^2 , без поправки Йейтса для неперервності), що дає змогу достовірно обґрунтувати наявність чи відсутність взаємозв'язку між двома дослідними ознаками у генеральній сукупності.

Методом РІД та ІФА досліджено 5890 зразків сироваток крові. Позитивний результат отримали у 5256 випадках, тобто 89,24 %. Негативний результат одержаний у 634 випадках, тобто 10,76 %.

Таблиця 3

Сполученість результатів досліджень методами РІД та ІФА

| Метод дослідження | Результат дослідження | | Всього |
|-------------------|-----------------------|-----------|--------|
| | Позитивно | Негативно | |
| РІД | 2618 | 327 | 2945 |
| ІФА | 2638 | 307 | 2945 |
| Всього | 5256 | 634 | 5890 |

Приймаємо гіпотезу про те, що метод дослідження не впливає на кількість позитивних результатів. Тоді кількість позитивних результатів повинна з рівною частотою 89,24 % спостерігатись у групах зразків досліджених двома методами РІД та ІФА. Розрахувавши скільки складає 89,24 % від 5890 досліджених зразків отримуємо очікувану кількість позитивних результатів у групах РІД/ІФА – 5256.

Таблиця 4

Позитивні результати при дослідженні методами РІД та ІФА очікувані числа

| Метод дослідження | Результат дослідження | | Всього |
|-------------------|-----------------------|-----------|--------|
| | Позитивно | Негативно | |
| РІД | 2628 | 317 | 2945 |
| ІФА | 2628 | 317 | 2945 |
| Всього | 5256 | 634 | 5890 |

Визначаємо критерій Хі-квадрат наступним чином:

$$\chi^2 = \sum \frac{(O - E)^2}{E},$$

де O – фактичне число з таблиці сполученості; E – очікуване число, з відповідної графі. Сума підраховується по усіх графах таблиці.

$$\begin{aligned} \chi^2 &= \frac{(2618 - 2628)^2}{2628} + \frac{(327 - 317)^2}{317} + \frac{(2638 - 2628)^2}{2628} + \frac{(307 - 317)^2}{317} = \\ &= 0,038 + 0,315 + 0,038 + 0,315 = 0,706 \end{aligned}$$

По таблиці критичних значень критерію Хі-квадрат при $df = 1$ і рівню помилки 0,05 критичне значення $\chi^2 = 3,84$. Отримане значення – 0,706 менше критичного, а це значить, що у нашому випадку метод дослідження не впливає на кількість отриманих позитивних результатів.

Висновки. Отримані результати не показали достовірну перевагу методу ІФА порівняно з РІД, оскільки нами досліджувались завідомо “позитивні” зразки та сироватки крові від тварин, що утримувалися разом з РІД позитивними тваринами. На час проведення арбітражного дослідження у сироватці крові тварин міститься достатня кількість антитіл проти глікопротеїну вірусу лейкозу великої рогатої худоби. Тому, метод ІФА, доцільніше використовувати на

початку захворювання для більш ефективного виявлення та ізоляції хворих лейкозом тварин. Оскільки цей метод, як більш чутливий, дозволяє виявляти рівні антитіл до вірусу лейкозу великої рогатої худоби значно нижчі, ніж при використанні реакції імунодифузії.

Список використаної літератури

1. Горжеєв В. М. Сучасний епізоотичний стан як заключний етап ерадикації лейкозу великої рогатої худоби в Україні / В. М. Горжеєв // Міжвідомчий тематичний науковий збірник “Ветеринарна медицина”. – Харків, 2013. – Вип. 97. – С. 164–166.
2. Мандигра М. С. Оцінка прижиттєвої діагностики лейкозу великої рогатої худоби / М. С. Мандигра, Н. В. Любар, В. М. Удяк // НТБ Інститут біології тварин і ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок. – Львів, 2011. – Вип. 12, № 1, 2. – С. 362–367.
3. Стегний Б. Т. Современные аспекты лейкоза крупного рогатого скота / Б. Т. Стегний, О. В. Шаповалова, С. К. Горбатенко, А. Н. Корнейков, В. М. Горжеєв // Міжвідомчий тематичний науковий збірник “Ветеринарна медицина”. – Харків, 2013. – Вип. 97. – С. 242–255.
4. Гланц С. Медико-биологическая статистика / Гланц С. пер. с англ. – М.: Практика, 1998. – 459 с.

СРАВНИТЕЛЬНО-СТАТИСТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ МЕТОДОВ АРБИТРАЖНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ ЛЕЙКОЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА / М. С. Мандигра, Г. Б. Алексеєва, О. С. Петренко

В данной статье проведен сравнительно-статистический анализ результатов арбитражных исследований, направленных на выявление антител вируса лейкоза крупного рогатого скота. Полученные результаты не показали достоверного преимущества метода иммуноферментного анализа по сравнению с реакцией иммунодиффузии.

Ключевые слова: арбитражные исследования, лейкоз, КРС, иммуноферментный анализ, реакция иммунодиффузии.

COMPARATIVE STATISTICAL ANALYSIS OF BOVINE LEUKEMIA REFERENCE RESEARCH METHODS / M. Mandygra, G. Aleksieieva, O. Petrenko

This paper shows comparative statistical analysis of the reference researches' results aimed to identify antibodies against leukemia virus in cattle. These results didn't show significant advantages of the ELISA method compared to the immunodiffusion test.

Keywords: reference research, leukemia, cattle, ELISA, immunodiffusion test.

Рецензент – доктор ветеринарних наук **Прискока В.А.**