
Розділ 4. Розробка та виробництво ветеринарних імунобіологічних препаратів

УДК 636.09:616.155.392:006.05

РОЗРОБКА, МІЖНАРОДНА ВАЛІДАЦІЯ ТА ВПРОВАДЖЕННЯ НАЦІОНАЛЬНОГО ЛЕЙКОЗНОГО СТАНДАРТУ

Блоцька О.Ф.

Державний науково-контрольний інститут біотехнології і штамів мікроорганізмів, м. Київ

Ензоотичний лейкоз великої рогатої худоби (ЕЛВРХ – *Enzootic bovine leucosis*, гемобластоз) – хронічне інфекційне захворювання пухлинної природи, що реєструється практично в усіх країнах світу [1-3].

Збудник ЕЛВРХ – РНК-геномний онкогенний вірус, який належить до родини *Retroviridae* [1-4, 11], має близьку генетичну й антигенну спорідненість з вірусом Т-клітинного лейкозу людини типів 1 і 2 та Т-клітинного лейкозу мавп [11]. До вірусу лейкозу великої рогатої худоби (ВЛ) сприйнятливі велика рогата худоба незалежно від породи, віку й продуктивності, а також вівці, кози, кролі, свині та менш сприйнятливі коні, коти, собаки, морські свинки, миші [11]. Вірус паразитує в лімфоцитах і взаємодіє з клітиною на рівні її генетичного апарату – ДНК, де циркулюючи антитіла не в змозі нейтралізувати його. Тому, як тільки тварина заражається ВЛ, то залишається ураженою на все життя [3-4, 11]. Джерелом збудника є заражені вірусом лейкозу тварини на всіх стадіях інфекційного процесу. Вірус виділяється з організму заражених тварин з кров'ю, молоком, слиною, іншими секретами й екскретами, що містять лімфоцити, які є активними факторами його передачі [3-4, 11].

Вірус лейкозу великої рогатої худоби нестійкий у зовнішньому середовищі і гине за температури 80 °С за одну хвилину [3-4, 11], але у інфікованих ВЛ тварин (особливо в клінічній стадії) змінюються обмінні та біохімічні процеси і, як наслідок, відбуваються зміни якісних характеристик молока і м'яса та накопичення в них шкідливих для організму тварин і людей продуктів обміну, зокрема метаболітів триптофану, які мають канцерогенну дію [11].

Велика рогата худоба може бути інфікована збудником лейкозу в будь-якому віці, навіть на стадії розвитку ембріона [1, 2]. Клінічно захворювання проявляється, як правило, починаючи з 3-х річного віку. Інфікування може відбуватись при спільному утриманні здорової та інфікованої ВЛ великої рогатої худоби.

ЕЛВРХ в основному перебігає безсимптомно або характеризується лімфоцитозом та злоякісним розростанням кровотворних і лімфоїдних клітин у різних органах і тканинах [1-4, 11].

Захворювання тварин на лейкоз є економічно значущим для виробників яловичини та молочної продукції в зв'язку зі збитками від обмежень на експорт, через вибраковку серопозитивних тварин та загибель тварин в результаті лімфосаркоми. Інша проблема, що має істотний економічний вплив на промислове тваринництво, полягає в бракуванні на бійнях туш уражених вірусом лейкозу.

У державах, де запроваджені програми контролю за ЕЛВРХ, суворо дотримуються рекомендацій Міжнародного Епізоотичного Бюро (МЕБ) стосовно дотримання правил міжнародної торгівлі. Зокрема, при імпорті худоби, імпорту та експорту сперми. Тобто, результатом діяльності програми контролю за лейкозом великої рогатої худоби є гарантія безпечності тваринницької продукції стосовно збудника лейкозу.

Головним інструментом контролю за ЕЛВРХ є своєчасне виявлення інфікованих ВЛ тварин та їх вилучення зі стада. Основними методами прижиттєвої діагностики ЕЛВРХ є реакція імунодифузії (РІД) та імуноферментний аналіз (ІФА).

ІФА також застосовують у благополучних стадах для дослідження об'єднаної проби молока від групи тварин.

Для дослідження особливо цінних тварин та для одержання арбітражних висновків – може бути використана полімеразно-ланцюгова реакція.

У серопозитивних тварин, з метою визначення стадії розвитку хвороби та її морфологічної природи, можуть бути використані клініко-гематологічний, патолого-анатомічний та гістологічний методи [3-4, 11].

Оскільки світова практика виробництва діагностичних препаратів та контролю їх якості передбачає обов'язкове застосування Міжнародних або Національних стандартів, метою нашої роботи було: гармонізувати до міжнародних вимог методи контролю якості тест-систем, що призначені для серологічної діагностики лейкозу великої рогатої худоби.

Матеріали і методи. На наше прохання із Міжнародної референс-лабораторії з вивчення Ензоотичного лейкозу великої рогатої худоби (Німеччина, Dr. Dagmar Beier) – надійшла панель із 16 ліофілізованих зразків сироваток крові ВРХ, що використовуються в якості референтних зразків при оцінці якості лейкозних РІД та ІФА діагностиків та референтна стандартна позитивна сироватка крові (Е 4). До складу панелі увійшли: позитивні, слабопозитивні, негативні, хибнопозитивні та хибнонегативні зразки сироваток крові.

З використанням зазначеної панелі сироваток, нами були проведені паралельні дослідження кількох серій лейкозного антигену як вітчизняного, так і імпортного виробництва. За результатами проведеної роботи було відібрано зразок антигену ВЛ, що повністю відповідав міжнародним вимогам за показниками активності та специфічності. Цей зразок антигену був використаний нами у подальшій роботі як Національний стандарт антигену при розробці, виготовленні та тестуванні Національного стандарту сироваток – «Набір сироваток для стандарти-

зації антигену вірусу лейкозу великої рогатої худоби в реакції імунодифузії (РІД)». До складу набору увійшли: позитивна до ВЛВРХ сироватка крові великої рогатої худоби, яка в розведенні 1:10 є слабопозитивною та негативна сироватка.

Розроблений в ДНКІБШМ Національний стандарт лейкозних сироваток, з метою його валідації, був протестований в РІД та ІФА фахівцями Національного ветеринарного дослідницького інституту, Польща, Пулави в лабораторії МЕБ з вивчення Ензоотичного лейкозу великої рогатої худоби, яку очолює професор Яцек Кузьмак.

Продовженням міжнародного співробітництва стала постійна участь ДНКІБШМ в раундах з дослідження зашифрованих зразків сироваток крові. Так, починаючи з лютого 2009 року, такі зразки тричі надходили із референс-лабораторії МЕБ з вивчення Ензоотичного лейкозу великої рогатої худоби (Національний ветеринарний дослідницький інститут, Польща, Пулави). У кожному випадку це була панель, до складу якої входило по 10 ліофілізованих зразків сироваток крові, що мали різну активність у відношенні лейкозу.

Оскільки зазначені панелі сироваток призначені не тільки для РІД, а й для ІФА, нами була реалізована можливість розшифрувати зразки сироваток як в реакції імунодифузії, так і в імуноферментному аналізі.

Так, для постановки РІД, окрім Національного стандарту лейкозних сироваток, нами були використані дві вітчизняні тест-системи для визначення антитіл до вірусу лейкозу ВРХ в РІД, а саме: виробництва НВ ТОВ «Лейконад», м. Полтава та ІЕКВМ, ДП «Ветмедіцина», м. Харків.

Постановку ІФА було здійснено співробітницею ДНКІБШМ Родіною Я.А. за допомогою тест-системи для визначення антитіл до вірусу лейкозу ВРХ виробництва компанії VMRD, USA, реєстраційне посвідчення № ВВ-00039-06-09.

З метою контролю, стандартизації та валідації одержаних результатів, було використано Національний стандарт лейкозних сироваток.

Незалежне оцінювання Національного стандарту лейкозних сироваток також було здійснено в РІД та ІФА експертами діагностичної служби компанії IDEXX, Швейцарія на чолі з представницею цієї служби Катаріною Раммелт.

Діагностичну цінність тест-систем, що призначені для виявлення антитіл методом ІФА, визначають з урахуванням наступних критеріїв: чутливість, специфічність та відтворюваність.

Чутливість та специфічність діагностичних тест-систем з високим ступенем достовірності можна визначити за допомогою Міжнародних або валідованих Національних стандартів сироваток крові.

ОІЕ у своїх рекомендаціях [1, 2] надає наступні критерії щодо обліку результатів постановки реакції імунодифузії. Так, досліджувану сироватку слід вважати позитивною, якщо вона утворює з антигеном ВЛВРХ специфічну, чітку лінію преципітації ідентичну до контрольної сироватки. Досліджувана сироватка вважається слабо-позитивною, якщо вона утворює «вигин» з контрольною позитивною сироваткою у напрямку луночок з антигеном ВЛВРХ. Сироватка вважається негативною, якщо вона не утворює специфічної лінії преципітації з антигеном ВЛВРХ, а також у випадках, коли контрольна сироватка не утворює «вигин». Також можуть мати місце неспецифічні лінії і вони характеризуються тим, що не зливаються або ж відхиляються від ліній, які утворюються з контрольною позитивною сироваткою. Реакція вважається сумнівною, якщо її не можна вважати ні позитивною, ні негативною, керуючись вищезазначеними критеріями оцінки. Сироватка, що показує сумнівні результати, або охарактеризована як слабо-позитивна, може бути сконцентрована та піддана повторному тестуванню. Реакцію імунодифузії вважають нечитабельною (недійсною), якщо контроль не дає очікуваних результатів, тобто облік результатів тестування досліджуваних сироваток крові можна проводити лише за умови чітких контролів антигену на його чутливість та специфічність, а саме: негативний зразок сироватки не повинен реагувати з комерційним антигеном ВЛ (негативна реакція), слабо-позитивний зразок повинен показувати слабо-позитивну реакцію, а позитивна сироватка повинна показувати чітку лінію преципітації з антигеном ВЛ.

Результати досліджень та обговорення. Міжнародну валідацію Національного стандарту лейкозних сироваток було здійснено в референс-лабораторії МЕБ з вивчення Ензоотичного лейкозу великої рогатої худоби (Польща, Пулави) та фахівцями діагностичної служби компанії IDEXX, Швейцарія, де по результатах лабораторних досліджень, що були проведені з урахуванням міжнародних вимог, зазначених у відповідних Директивах ЕС, одержав схвальну оцінку.

За результатами проведених незалежних досліджень Український стандарт лейкозних сироваток було кваліфіковано як такий, що повністю відповідає міжнародним вимогам та показує об'єктивні результати при його тестуванні в РІД (рис. 1) та в ІФА.

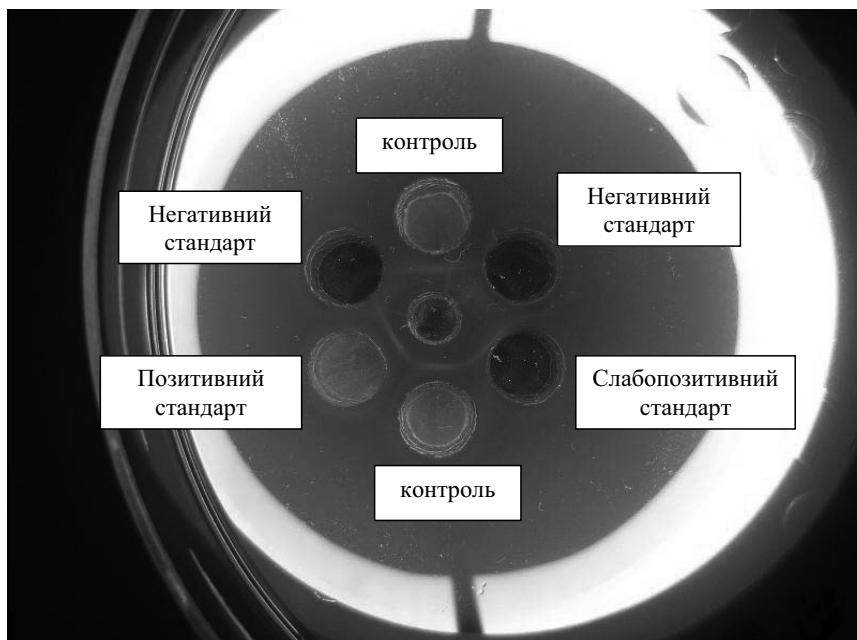


Рис. 1 Зразки тестування РІД та ІФА

Як видно на рис. 1, негативний зразок сироватки в РІД реагує негативно, слабо-позитивний – слабопозитивно, позитивний – відповідно позитивно.

Дослідження по розшифровці зразків, що входили до складу панелей одержаних із референс-лабораторії МЕБ з вивчення Ензоотичного лейкозу великої рогатої худоби (Польща, Пулави), проводили з використанням Національного стандарту лейкозних сироваток. У всіх трьох випадках співробітниками ДНКІБШМ були одержані об'єктивні результати як в РІД, так і в ІФА.

Основними заходами ефективного забезпечення благополуччя тваринництва щодо лейкозу є:

Розділ 4. Розробка та виробництво ветеринарних імунобіологічних препаратів

– своєчасна діагностика хвороби;
– чітке знання епізоотичної ситуації в кожному стаді;
– негайне вилучення зі стад (ферм) інфікованих вірусом лейкозу тварин та їх ізоляція з наступним забоем;
– проведення чіткого обліку, нумерації та ідентифікації тварин;
– дотримання ветеринарно-санітарних правил на фермах;
– дотримання асептики і антисептики при масових обробках тварин (нумерація, взяття крові, вакцинації, алергічні дослідження, лікування тощо);
– проведення ретельної дезінфекції тваринницьких приміщень та обладнання після кожного дослідження тварин і ізоляції вірусоносіїв [3-4, 11].

Як вже було зазначено, джерелом збудника інфекції є інфіковані вірусом лейкозу тварини, що знаходяться на усіх стадіях інфекційного процесу. Щоб їх своєчасно виявити та ізолювати необхідно, починаючи з 6-місячного віку, регулярно проводити серологічні діагностичні дослідження.

З цією метою застосовують тест-системи для виявлення антитіл до вірусу лейкозу. Реакція імунодифузії (РІД) – достатньо специфічний, відносно дешевий та простий у виконанні діагностичний метод, що рекомендований МЄБ як рутинний тест з виявлення антитіл до ВЛВРХ [1, 2].

РІД – серологічний метод діагностики ЕЛВРХ, що базується на виявленні в сироватках крові тварин антитіл до одного із двох структурних білків ВЛВРХ (p24 та gp51).

Специфічні антитіла виявляють в РІД вже через 3-16 тижнів після інфікування тварин ВЛВРХ [1-4], тобто значно раніше ніж настають гематологічні зміни. Необхідно зазначити, що специфічні антитіла зберігаються пожиттєво.

РІД-позитивних тварин вважають інфікованими ВЛВРХ [1-4, 11]. Результати досліджень проб сироваток крові в РІД приймають до уваги країни – члени Світової організації торгівлі при здійсненні експортно-імпорتنих операцій, а також при здійсненні аналізу ризику. В багатьох країнах світу РІД є базисним методом досліджень в державних програмах по боротьбі з Ензоотичним лейкозом великої рогатої худоби.

Щоб діагностична робота була проведена точно і об'єктивно, необхідно мати якісні, тобто специфічні та чутливі діагностичні препарати.

Для лабораторного виявлення тварин, інфікованих ВЛВРХ, в Україні зареєстровані чотири вітчизняні діагностичні тест-системи, а саме:

- «Набір компонентів сухих для серологічної діагностики лейкозу великої рогатої худоби в реакції імунодифузії», ІЕКВМ, ДП «Ветмедіцина», м. Харків, реєстраційне посвідчення № 3272-14-0525-04/08-1/0;
- «Набір компонентів рідких стабілізованих для серологічної діагностики лейкозу великої рогатої худоби в реакції імунодифузії», ІЕКВМ, ДП «Ветмедіцина», м. Харків, реєстраційне посвідчення № 3268-14-0526-04/08-1/0;
- «Набір компонентів для серологічної діагностики лейкозу великої рогатої худоби в РІД», Інституту епізоотології УААН, м. Рівне, реєстраційне посвідчення № 1723-14-0226-06;
- «Діагностичний набір «ЛЕЙКОПОЛ» (набір компонентів для серологічної діагностики лейкозу великої рогатої худоби в реакції імунодифузії), НВ ТОВ «Лейконад», м. Полтава, реєстраційне посвідчення № ВВ-00255-06-10.

Світова практика виробництва діагностичних препаратів та контролю їх якості передбачає обов'язкове застосування Міжнародних або Національних стандартів. Співробітники Державного науково-контрольного інституту біотехнології і штамів мікроорганізмів поставили та досягли мети – гармонізувати до міжнародних вимог процедуру контролю якості тест-систем, що призначені для діагностики лейкозу великої рогатої худоби. З цією метою в ДНКІБШМ було розроблено, апробовано та зареєстровано [5-10] в установленому порядку Національний стандарт лейкозних сироваток крові – «Набір сироваток крові для стандартизації антигену вірусу лейкозу великої рогатої худоби в реакції імунодифузії (РІД)» ТУУ 24.4.19024865–722–2004 [5-10], реєстраційне посвідчення № 3903-14-0401-08.

Протягом останніх семи років Національний стандарт лейкозних сироваток крові постійно використовується при посерійному контролі якості наборів, які призначені для серологічної діагностики лейкозу великої рогатої худоби в реакції імунодифузії, що дає змогу точно та об'єктивно оцінювати якість як вітчизняних, так і імпорتنих діагностичних тест-систем.

Відсоток препаратів, що придатні до використання в лабораторіях ветеринарної медицини України при діагностиці ЕЛВРХ, з кожним роком зростає [5-9], у чому не останнє місце належить процедурі контролювання якості тест-систем, що передбачає використання Національного стандарту лейкозних сироваток.

Перспективою подальшої роботи вбачаємо продовження запланованих робіт по наданню підрозділу ДНКІБШМ статусу Національної референс лабораторії з вивчення Ензоотичного лейкозу великої рогатої худоби та запровадження національної програми контролю за ЕЛВРХ.

Висновки. 1. У Державному науково-контрольному інституті біотехнології і штамів мікроорганізмів розроблено, апробовано, зареєстровано в установленому порядку (реєстраційне посвідчення № 3903-14-0401-08) та впроваджено Національний стандарт лейкозних сироваток.

2. За результатами міжнародної валідації Національний стандарт лейкозних сироваток було кваліфіковано як такий, що відповідає міжнародним вимогам.

3. Використання Національного стандарту лейкозних сироваток гармонізує до міжнародних вимог методи контролю якості тест-систем, що призначені для діагностики лейкозу великої рогатої худоби, та дає змогу точно та об'єктивно оцінювати якість як вітчизняних, так і імпорتنих діагностичних тест-систем.

Список літератури

1. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals (mammals, birds and bees) [Text]: fifth Edition, 2004. – Vol. 2. – Paris: OIE, 2004. – P. 464-485.
2. OIE Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals [Text]. – Paris. – 2008. – Ch. 2.4.11. – P. 729-738.
3. Инфекционные болезни животных [Текст]: Учебник / Б. Ф. Бессарабов, А. А. Васьютин, Е. С. Воронин и др.; под ред. А. А. Сидорчука. – М.: КолосС, 2007. – С. 311-318.
4. Инфекционная патология животных [Текст]: в 2-х т. / Ред. А. Я. Самуйленко, Б. В. Соловьева, Е. А. Непоклонова, Е. С. Воронина. – М.: ИКЦ «Академкнига», 2006. – Т. 1. – 2006. – С. 430-447.
5. Блоцкая, О.Ф. Разработка и внедрение Национального

стандарта лейкозных сывороток для реакции иммунодиффузии [Текст] / О. Ф. Блоцкая // Материалы Международной науч.-практ. конф. «Биотехнология в Казахстане: проблемы и перспективы инновационного развития» (20–22 мая 2008 года, г. Алматы). – Алматы: ДГП «НИИПББ». – С. 450–451. 6. Блоцкая, О.Ф. Стандартизация та уніфікація оцінки якості тест-систем для діагностики лейкозу великої рогатої худоби в реакції імунодифузії [Текст] / О. Ф. Блоцкая // Ветеринарна біотехнологія: бюлетень. – 2008. – № 12. – С. 34–41. – Бібліогр.: С. 39–40 (12 назв.). 7. Блоцкая, О.Ф. Гармонізація та міжнародних рекомендацій методів контролювання та оцінки показників якості діагностичних наборів для виявлення антитіл до вірусу лейкозу великої рогатої худоби в реакції імунодифузії [Текст] / О. Ф. Блоцкая; Ін-т біології тварин, ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок // Наук.-техн. бюл. – 2009. – Вип. 10, № 3. – С. 125–129. – Бібліогр.: С. 129 (10 назв.). 8. Блоцкая, О.Ф. Оцінка показників якості діагностичних наборів для виявлення антитіл до вірусу лейкозу великої рогатої худоби // Матеріали наук.-практ. конф. [Текст] «Науково-технологічні пріоритети та їх вплив на розвиток української економіки». – К. – 2009. – С. 167–172. 9. Блоцкая, О. Ф. Оцінка показників якості діагностичних наборів для виявлення антитіл до вірусу лейкозу великої рогатої худоби в реакції імунодифузії [Текст] / О. Ф. Блоцкая; Мін-во агр. політики України, ПДАТУ, Ф-т вет. медицини // 36. наук. пр. Міжнар. наук.-практ. конф. «Сучасні проблеми вет. медицини» присвяч. 25-річчю ф-ту вет. медицини ПДАТУ. – Кам'янець-Подільський, 2008. – Вип. 3. – С. 106–109. – Бібліогр.: С. 109 (9 назв.). 10. Набор сывороток крови для стандартизації антигену вірусу лейкозу великої рогатої худоби в реакції імунодифузії (РІД) [Текст]: ТУУ 24.4.19024865-722-2004. – 12 с. 11. Інструкція з профілактики та оздоровлення великої рогатої худоби від лейкозу [Текст]: Наказ Державного комітету ветеринарної медицини України 21.12.2007 № 21. – Зареєстровано в Міністерстві юстиції України 11 січня 2008 р. за № 12/14703. – 8 с.

DEVELOPMENT, INTERNATIONAL VALIDATION AND INTRODUCTION OF THE NATIONAL LEUKEMIC STANDARD

Blotska O.F.

State Scientific Control Institute of Biotechnology and Strains of Microorganisms, Kyiv

In the State Scientific Control Institute of Biotechnology and Strains of Microorganisms was developed the National standard of leukemic sera that got positive assessment at its probation in reference-laboratory of OIE and at interlaboratory tests in leading producer of diagnostic test-systems the company IDEXX. Its standard gives an opportunity to realize the control of quality of test-systems intended for diagnostics of cattle enzootic leucosis in accordance with international requirements.

УДК 619:616.98:578.828.11:636.22:616-07

РАЗРАБОТКА НАЦИОНАЛЬНОГО СТАНДАРТА – ПОЗИТИВНОЙ ЛЕЙКОЗНОЙ СЫВОРОТКИ КРОВИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Горбатенко С.К., Шаповалова О.В., Мягких Н.В., Зданевич П.П., Корнейков А.Н., Коровин И.В.

Национальный Научный Центр «Институт экспериментальной и клинической ветеринарной медицины», г. Харьков

Ковалев С.К., Козырев А.В., Калесниченко Е.И., Бондаренко А.В.

Харьковская Региональная государственная лаборатория ветеринарной медицины

В соответствии с требованиями нормативных документов МЭБ основными серологическими тестами для диагностики лейкоза крупного рогатого скота являются реакция иммунодиффузии в агаровом геле (РИД) и метод иммуноферментного анализа (ИФА). Применение этих тестов предполагает использование в качестве рабочих компонентов негативную, позитивную и слабопозитивную сыворотку, откалиброванную на уровне национальных стандартных реагентов [1].

Национальные стандартные сыворотки, предназначенные для контроля диагностических наборов, которые применяются для серологической диагностики лейкоза, должны быть оттитрованы относительно международной референтной сыворотки.

Международной позитивной референтной сывороткой для диагностики лейкоза крупного рогатого скота в РИД и ИФА является сыворотка E05. Она производится и распространяется референс-лабораторией МЭБ, Friedrich-Loeffler-Institute (Германия). Также применяются референтные позитивные сыворотки A2 для РИД и P9 для ИФА производства референтной лаборатории МЭБ при Государственном ветеринарном институте (Польша).

В Украине диагностика лейкоза осуществляется согласно Инструкции по профилактике и оздоровлению крупного рогатого скота от лейкоза [2], которая постулирует применение РИД и ИФА в качестве основных методов прижизненной диагностики лейкоза КРС. В настоящее время в Украине не существует национальной стандартной позитивной сыворотки, откалиброванной относительно международных референтных сывороток. Разработка и внедрение такой сыворотки в практику контроля серологических исследований на лейкоз будет способствовать повышению уровня национальных нормативных требований в отношении качества ветеринарных диагностических препаратов, а также их гармонизации с международными стандартами. В этой связи целью проведенных нами исследований было получение сыворотки крови с высоким титром антител против вируса лейкоза крупного рогатого скота (ВЛКРС) и ее калибровка до уровня международных референтных позитивных сывороток. Такая сыворотка может служить национальным стандартом позитивной сыворотки крови для контроля диагностических наборов, используемых при серологической диагностике лейкоза в РИД и ИФА.

Материалы и методы. Позитивная сыворотка для диагностики лейкоза была получена из крови крупного рогатого скота, гипериммунизированного инактивированными лейкозоспецифичными иммуногенными препаратами, согласно разработанной нами методике [3].

Иммуногенные препараты содержали инактивированные антигены ВЛКРС, полученные из культуральной жидкости перевиваемой культуры клеток FLK-BLV и лейкоцитов периферической крови больной хроническим лимфолейкозом коровы. Проведено 3-кратную, с интервалом 14 дней, подкожную инокуляцию препарата с последующей реиммунизацией через месяц. Реиммунизация, в свою очередь, предусматривала двукратную инокуляцию препарата с тем же интервалом. Завершили процедуру получения гипериммунной сыворотки стимуляцией иммунного ответа лимфоцитами инфицированной вирусом лейкоза коровы с лейкоцитозом 27,4 тыс./мкл, лимфоцитозом – 26,7 тыс./мкл (94 %).

Контроль иммуногенных препаратов на полноту инактивации вируса лейкоза проводили на здоровых овцах 8-12 месячного возраста (3 гол.), безреактивность и нереактогенность препаратов проверяли на здоровых взрослых кролях массой 1,5–2,0 кг (6 гол.).

Реципиентами иммуногенных препаратов были свободные от инфекции ВЛКРС бычки 16-18 месячного возраста (2 гол.).

Контроль активности полученной сыворотки крови проводили в РИД с использованием «Набора компонентов для серологической диагностики лейкоза крупного рогатого скота в реакции иммунодиффузии (РИД)» согласно ТУУ 24.4. – 00497087-647-2002, сер. 1, изд. 01.2010 г. ООО «НИП «Ветеринарная медицина». Для исследования методом ИФА применяли тест-систему фирмы VMRD (Bovine Leukemia virus Antibody Test kit, Lot № P090514002A, VMRD, Inc.), США. Постановку и учет результатов серологических реакций осуществляли согласно инструкций производителей диагностических систем.