

## **Розділ 5. Контролювання якості, випробування, стандартизація, сертифікація, маркетинг і провайдинг ветеринарних імунобіологічних препаратів**

Высокий уровень ЦИК и эндогенного NO в сыворотке крови кур опытной группы (по сравнению с контрольной) свидетельствует об интенсивном функционировании иммунной системы и об отсутствии иммуносупрессивного влияния вакцины.

Повышение уровня АсАт, ПОЛ и МСМ у особей контрольной группы указывает на развитие интенсивных деструктивных процессов во внутренних органах (в частности печени и сердце) инфицированной птицы. Более низкое значение этих показателей у птицы опытной группы не только подтверждает высокие протективные свойства вакцины, но и свидетельствует о полном отсутствии какого-либо токсичного действия препарата.

**Перспективы дальнейших исследований.** С целью углубленного изучения влияния на организм птиц инактивированной вакцины против сальмонеллеза необходимо провести расширенный спектр биохимических исследований, включая определение  $\alpha$ -,  $\beta$ - и  $\gamma$ -глобулинов и большего числа клеточных ферментов ( $\alpha$ -амилазы, глутаматдегидрогеназы, щелочной фосфатазы, гаммаглутамилтрансферазы).

### *Список литературы*

1. Авдеева, М.Г. Оксид азота сыворотки крови как дополнительный критерий оценки течения лептоспироза [текст]/ М.Г. Авдеева, И.Н. Бондаренко// Клин. лаб. диагн. – 2006. – № 6. – С. 50-51. 2. Антонов, Б.И. Лабораторные исследования в ветеринарии. Биохимические и микробиологические: Справочник [текст]/ Б.И. Антонов, Т.Ф. Яковлева, В.И. Дерябина и др. – М.: Агропромиздат, 1991. – 288 с. 3. Бажибина, Е.Б. Методические основы оценки клинико-морфологических показателей крови домашних животных [текст]/ Е.Б. Бажибина, А.В. Коробов, С.В. Середа и др. – М.: Аквариум, 2005. – 128 с. 4. Бектимиров, Т.А. Побочное действие вакцин [текст]/ Т.А. Бектимиров//Бюл.: Вакцинация.-2000.-№ 2 (8). – С. 15-16. 5. Кондрахин, И.П. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики [текст] И.П. Кондрахин – М.: Колос, 2004. – 520 с. 6. Мейер, Д. Ветеринарная лабораторная медицина. Интерпретация и диагностика [текст] Д. Мейер и Дж. Харви – М.: Софион, 2007. – 456 с. 7. Костокрыз, В. Б. Особенности метаболизма оксида азота у пациентов с хронической сердечной недостаточностью ишемической этиологии с имплантированным электрокардиостимулятором: возможности медикаментозной коррекции блокаторами бета-адренорецепторов [текст] В.Б. Костокрыз, Т.В. Туровская//\_Український медичний часопис «Актуальні питання клінічної практики». – 2010. – № 5 (79). – С. 23-25. 8. Кузьменко, Д.И. Оценка резерва липидов сыворотки крови для перекисного окисления в динамике окислительного стресса у крыс [текст] Д.И. Кузьменко, Б.И. Лаптев// Вопросы медицинской химии. – 1999. – № 1. – С. 34-35. 9. Мешкова, Р.Я. Иммунопрофилактика. Руководство для врачей [текст] Р.Я. Мешкова, М.: Медицина. – 1998. – 133 с. 10. Чагина, Е. А. Определение уровня оксида азота в различных биологических субстратах у хирургических больных [текст] Е.А. Чагина, Е.П. Турмова // «Наука о человеке»: сб. статей по мат-лам пятого конгресса мол. ученых и специалистов, Томск, СибГМУ. – 2004. – С. 412.

### **STUDY OF EFFICIENCY OF INACTIVATED VACCINE AGAINST AVIAN SALMONELLOSIS**

**Rublenko M.V.**

*National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine, Kiev,*

**Stegniy B.T., Obuhovskaya O.V.**

*National Scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine", Kharkov*

*There was established that double immunization of chickens by a series of experimental inactivated vaccine against salmonellosis stimulates operating time of protective antibodies in the credits  $9.2 \pm 0.7 \text{ Log}_2$  and protects 93% of individuals from infection of pathogenic Salmonella strain.*

*Analysis of biochemical parameters of blood serum of chickens of experimental and control groups indicates that the intensive functioning of the immune system and the absence of immunosuppressive and toxic effects of vaccines on the avian body.*

УДК 619:616.98:616-076

### **КОМІСІЙНІ ВИПРОБУВАННЯ НОВОЇ ТЕХНОЛОГІЇ КОМПЛЕМЕНТФІКСУЮЧОГО ТЕСТУ ДЛЯ ВИЯВЛЕННЯ АНТИТІЛ ПРОТИ ЗБУДНИКІВ ІНФЕКЦІЙНИХ ХВОРОБ**

**Стегній Б.Т., Бабкін А.Ф., Вовк С.І., Близнацев О.Г., Данілова І.С.**

*Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», м. Харків*

Система епізоотологічного моніторингу небезпечних бактеріальних хвороб тварин (бруцельоз, інфекційний епідидиміт баранів, хламідіоз) в Україні та інших державах забезпечується серологічними скринінговими дослідженнями тварин традиційними (РБП, РЗК, РА, РТЗК, РІД) і альтернативними (ІФА, ПЛР та інші) методами [1, 2, 3, 4, 5, 6]. У статті наведено результати комісійного випробування оригінальної технології постановки і комп'ютерного обліку мікрометоду РЗК для виявлення антитіл при бактеріальних хворобах тварин.

**Матеріали та методи досліджень.** Дослідження проведено згідно затвердженої методичною комісією ННЦ «ІЕКВМ» методики випробування способу постановки і комп'ютерного обліку мікрометоду РЗК для виявлення антитіл при бактеріальних хворобах тварин, зокрема, бруцельоз, інфекційний епідидиміт баранів, хламідіоз. Для дослідження були використані комерційні діагностикуми: «Антиген бруцельозний єдиний для РА, РЗК, РТЗК», серія 1, 2009 р., робочий титр 1:75, виробник Херсонська біофабрика; «Набір позитивної бруцельозної і негативної контрольних сироваток для РБП, РА, РЗК (РТЗК)», три зразки, виготовлені упродовж 2004, 2009, 2010 рр., серія 1, робочий титр в РЗК 1:80-1:160, виробник ТОВ НДП «Ветеринарна медицина»; «Набір компонентів для серологічної діагностики інфекційного епідидиміту баранів в РТЗК», серія 1, 2010 р., робочий титр антигену 1:50, позитивна бруцелаовісна сироватка, робочий титр в РДСК 1:40, виробник ТОВ НДП «Ветеринарна медицина»; «Набір для діагностики хламідіоза сільськогосподарських тварин в РСК і РДСК», серія №1 і №5 2009 р., робочий титр хламідійного антигену 1:32, позитивна сироватка робочий титр 1:10, виробник ГНУ ВНИТИБП м. Щолково, Росія.

Індикаторна гемолітична система: 2,5 % відмиті розчинником еритроцити барана, сенсibilізовані гемолізином, комерційний набір «Сироватка крові кроля гемолітична (гемолізін) для реакції зв'язування комплекменту (РЗК)», серія 1, робочий титр 1:600, 2010 р., ТОВ НДП «Ветеринарна медицина». У дослідженнях використали відтитровану дозу комплекменту (2 і 3 гемолітичні одиниці  $\text{CH}_{100}$ ), комерційний набір «Комплемент сухий морської свинки» серія 1, 2010 р. виробник ТОВ «НДП «Ветеринарна медицина». Компоненти реакції розводили розчинником (0,85 % розчин NaCl).

Обладнання для постановки і обліку мікрометоду РЗК: восьми- та одноканальні мікропіпетки, шейкер-термостат фірми ELMY Sky line, спектрофотометр «Sunrise» для ELISA, водяна баня, лабораторна центрифуга, 5000 об/хв. Реакцію ставили в об'ємі 100 мкл у мікро титрувальних плахах з U-образним дном фірми «Медполімер» (по 20 мкл кожного реагенту: сироватка, антиген, комплекмент, гемолізін, еритроцити).

Постановку і комп'ютерний облік результатів мікрометоду РЗК у імунологічних системах для виявлення антитіл проти збудників бруцельозу, інфекційного епідидиміту баранів та хламідіозу овець проводили за технологією, розробленою у відділі вивчення бактеріальних хвороб

тварин ННЦ «ІЕКВМ». Перед основним дослідженням сироваток визначали активність комплементу у гемолітичній системі шляхом внесення у ряд лункок мікротитрувальної плати комплементу, розведення 1:20, у дозах 2, 4, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20 мкл і розчинника до кінцевого об'єму 20 мкл (18, 16, 14, 12, 10, 8, 6, 4, 2 мкл відповідно). Надалі у кожну лунку вносили по 40 мкл розчинника та по 40 мкл індикаторної гемолітичної системи (2,5 % завись відмитих еритроцитів барана у рівних об'ємах з гемолізіном у подвійному титрі-1:600). Плати розміщали у шейкері-термостаті фірми ELMY Sky line, 100 об./хв., 37 °С впродовж 10 хвилин. Облік мінімальної кількості комплементу, що спричиняє повний гемоліз, проводили візуально та за цифровим визначенням оптичної екстенції затримки гемолізу на спектрофотометрі «Sunrise».

Сироватки крові у розведенні 1:5 інактивували на водяній бані при 60-62 °С впродовж 30 хвилин і досліджували у різних розведеннях (від 1:5 до 1:640) в об'ємі 20 мкл. У лунки з сироватками вносили відповідні антигени у робочих розведеннях по 20 мкл та відтитровану дозу комплементу, 20 мкл. Для зв'язування комплементу мікроплати з компонентами реакції розміщали у шейкері-термостаті, 100 об./хв., 37 °С впродовж 10 хвилин. Незв'язаний комплемент у кожній лунці визначали шляхом внесення індикаторної гемолітичної системи по 40 мкл і розміщали у шейкері-термостаті впродовж 10 хвилин. Одночасно ставили контролю реакції: досліджувані сироватки і антигени на антикомплементаційність, контроль активності комплементу і контроль стабільності гемсистеми.

Експериментально визначено параметри оцінки результатів цифрового обліку затримки гемолізу за ОЕ при дослідженні мікрометодом РЗК: оптична екстинція менше 0,3 – «негативна реакція»; 0,3-0,4 – «сумнівна реакція»; 0,5 і більше – «позитивна реакція». У таблицях статті позитивна оцінка реакції в одиницях ОЕ виділена напівжирним шрифтом.

**Результати досліджень і обговорення.** Визначення гемолітичної дози комплементу проводили кожного разу тільки у гемсистемі перед основним дослідженням сироваток. Як свідчать дані таблиці 1, за візуальним обліком, мінімальна доза комплементу у розведенні 1:20, що спричиняла повний гемоліз (ПГ) еритроцитів у індикаторній гемолітичній системі, становила 8 мкл (одна гемолітична одиниця). Цифрове визначення повного гемолізу еритроцитів на спектрофотометрі становило ОЕ 0,137. Дві і три гемолітичних одиниці мали ОЕ 0,136 і 0,089 відповідно. Більші дози комплементу від 14 до 20 мкл спричиняли повний гемоліз ОЕ від 0,086 до 0,158, що ймовірно зумовлено похибкою досліджень (m=0,123±0,01).

Таблиця 1 – Визначення гемолітичної активності комплементу

Спосіб обліку РЗК	Облік результатів титрації комплементу (1/20), дози, мкл									
	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20
Комп'ютер-ний, ОЕ	<b>1,056</b>	<b>1,028</b>	<b>0,357</b>	0,137	0,136	0,089	0,103	0,155	0,158	0,086
Візуальний	ВГ++++	ЧГ+++	ЧГ+	ПГ-	ПГ-	ПГ-	ПГ-	ПГ-	ПГ-	ПГ-

**Примітка:** ВГ (відсутність гемолізу, затримка гемолізу +++++); ЧГ (частковий гемоліз, затримка гемолізу +++, ++, +) 4 ПГ (повний гемоліз -)

В основному досліді застосували дві або три гемолітичні одиниці, в залежності від антигенів, тобто 10 або 12 мкл комплементу в розведенні 1:20 відповідно.

Результати титрації специфічних антитіл у відповідних імунологічних системах сироватка-антиген-комплемент з бруцельозним антигеном наведені у табл. 2, з бруцелаовісним антигеном – у табл. 3, з хламідійним антигеном – у табл. 4.

Як свідчать дані таблиці 2, при дослідженні трьох позитивних сироваток у розведеннях від 1:5 до 1:640 з бруцельозним антигеном виявлено різні граничні титри антитіл за показником специфічної затримки гемолізу (2+, 3+, 4+) та оптичної екстинції: сироватка №1 – 1:80++, ОЕ 0,635, сироватка №2 – 1:640++, ОЕ 0,563, сироватка №3 – 1:320++++, ОЕ 1,214. Негативна сироватка з антигеном і без антигену у розведеннях від 1:5 до 1:640 мала ОЕ в межах 0,192-0,188, тобто відповідали параметрам оцінки «негативно». Контролі комплементу на активність і антигену на антикомплементаційність мали ОЕ 0,111 і 0,198 і відповідали параметрам постановки реакції. Контроль гемолітичної системи на стабільність еритроцитів і контроль антигену на гемотоксичність мали ОЕ 1,142 та 1,243 і свідчили про відповідність вимогам стабільності гемсистеми і відсутності гемотоксичності антигену для еритроцитів.

Таблиця 2 – Результати титрації сироваток крові мікрометодом РЗК у бруцельозній імунологічній системі

Об'єкт дослідження	Титр антитіл сироваток з антигеном, ОЕ								
	1/5	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	Контроль с-ки 1:5
Бруцельозна позитивна сироватка S1	<b>1,237++++</b>	<b>1,267++++</b>	<b>1,216++++</b>	<b>1,185++++</b>	<b>0,635++</b>	0,155	0,199	0,09	0,193
Бруцельозна позитивна сироватка S2	<b>1,256++++</b>	<b>1,226++++</b>	<b>1,245++++</b>	<b>1,181++++</b>	<b>1,175++++</b>	<b>1,201++++</b>	<b>1,229++++</b>	<b>0,563++</b>	0,197
Бруцельозна позитивна сироватка S3	<b>1,245++++</b>	<b>1,237++++</b>	<b>1,23++++</b>	<b>1,225++++</b>	<b>1,196++++</b>	<b>1,198++++</b>	<b>1,214++++</b>	0,384+	0,19
Негативна сироватка	0,192	0,191	0,191	0,189	0,188	0,188	0,188	0,188	0,191
<b>Контролі реакції</b>									
Контроль А на антикомплементаційність А+Розч.+К+ГС			Контроль А на гемотоксичність А+Розч.+Розч.+ГС			Контроль К на активність(2ГО) Розч.+Розч.+К+ГС		Контроль ГС на стабільність Розч.+Розч.+Розч.+ГС	
ОЕ 0,197			ОЕ 1,243			ОЕ 0,111		ОЕ 1,142	

**Примітка:** А- антиген, К- комплемент. ГС- гемсистема, ГО- гемолітична одиниця, ступінь затримки гемолізу (++++, ++, +).

Проведені дослідження стандартних позитивної і негативної бруцелаовісних сироваток, а також сироваток крові двох клінічно хворих на ІЕ баранів мікрометодом РЗК свідчать, що позитивна сироватка з діагностичного набору з антигеном збудника ІЕ баранів реагувала з оцінкою «позитивно» у розведеннях від 1:5 ++++ до 1:20 ++ і «сумнівно» 1:40 + та за показником ОЕ від 1,083 до 0,628 та 0,324 відповідно. У контролі позитивна сироватка 1:5 без антигену мала повний гемоліз і ОЕ 0,193. У лунках з негативною сироваткою у розведенні від 1:10 до 1:80 з антигеном і без антигену спостерігали повний гемоліз, ОЕ від 0,142-0,218 (Табл. 3). Хворі на інфекційний епідидиміт барани (інв. №00440 і інв. №00441), від яких ізолювано культуру збудника

**Розділ 5. Контролювання якості, випробування, стандартизація, сертифікація, маркетинг і провайдинг ветеринарних імунобіологічних препаратів**

хвороби *V. ovis*, реагували «позитивно» у розведенні сироватки від 1:5 до 1:20, ОЕ (1,051-0,548; 0,791-0,942). Контроль сироваток на антикомплементарність в розведенні 1:5 мав ОЕ менше 0,183. Позитивна контрольна сироватка у розведенні 1:5 без антигену була слабо антикомплементарна, ОЕ 0,305. Контроль антигену на антикомплементарність та контроль комплементу на активність (ЗГО) мали ОЕ 0,263 та 0,26, тобто відповідали вимогам постановки реакції.

У хламідійній імунологічній системі мікрометодом РЗК випробувано дві стандартні позитивні і дві негативні сироватки крові у розведенні від 1:10 до 1:160, (комерційні набори Росії). У дослідженнях застосували 2 і 3 гемолітичні одиниці комплементу (табл. 4). Обидві позитивні сироватки з хламідійним антигеном мали специфічну затримку гемолізу з двома гемолітичними дозами комплементу у розведенні від 1:10 до 1:80++++, а з трьома ГО від 1:10 до 1:80++++, +++, за показником ОЕ 1,115-1,008 (2ГО), 1,132-0,791 (3ГО) відповідно. Контролі позитивних і негативних сироваток без антигену мали повний гемоліз та показник ОЕ в межах 0,104-0,142. Негативні сироватки з антигеном мали повний гемоліз та ОЕ від 0,207 до 0,257. Контроль антигену на антикомплементарність ОЕ 0,264-0,268, інші контролі також відповідали вимогам способу.

**Таблиця 3 – Результати титрації сироваток крові мікрометодом РЗК у бруцелавісній імунологічній системі**

Об'єкт дослідження	Титр антитіл сироваток з антигеном, ОЕ					
	1/5	1/10	1/20	1/40	1/80	Контроль сироватки 1/5
Позитивна ІЕ баранів сироватка (набір 2010р.)	1,083 ++++	0,94 ++++	0,628 ++	0,324 +	0,215	0,305
Негативна сироватка (набір 2010р.)	0,222	0,142	0,197	0,197	0,218	0,15
Сироватка від хворого барана на ІЕ інв.№00440	1,051 ++++	0,994 ++++	0,548 ++	0,266	0,327	0,148
Сироватка від хворого барана на ІЕ інв.№00441	0,791 +++	0,996 ++++	0,942 ++++	0,192	0,234	0,183
<b>Контролі реакції</b>						
Контроль антигену на антикомплементарність А+Розч. +ГС	Контроль антигену на гемотоксичність А+Розч.+Розч.+ГС		Контроль комплементу на активність(ЗГО) Розч.+Розч.+К+ГС		Контроль гемолітичної системи на стабільність Розч.+Розч.+Розч.+ГС	
0,263	1,045		0,26		1,005	

**Примітка:** А- антиген, К- комплемент, ГС- гемсистема, ГО- гемолітична одиниця, ступінь затримки гемолізу (++++, +++, ++, +)

**Таблиця 4 – Результати титрації сироваток крові мікрометодом РЗК у хламідійній імунологічній системі**

Об'єкт дослідження	доза комплементу	Титр антитіл сироваток з антигеном, ОЕ					
		1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	Контроль сироватки 1:10
Хламідійна позитивна сироватка S1	2 ГО	1,111 ++++	1,16 ++++	1,128 ++++	1,104 ++++	0,259	0,142
	3 ГО	1,132 ++++	1,15 ++++	1,127 ++++	0,943 ++++	0,234	0,118
Хламідійна негативна сироватка S1	2 ГО	0,207	0,235	0,212	0,257	0,257	0,159
	3 ГО	0,218	0,261	0,237	0,232	0,219	0,151
Хламідійна позитивна сироватка S2	2 ГО	1,035 ++++	1,115 ++++	1,028 ++++	1,008 ++++	0,279	0,104
	3 ГО	0,928 ++++	0,838 +++	0,843 +++	0,791 +++	0,332 +	0,177
Хламідійна негативна сироватка S2	2 ГО	0,228	0,245	0,298	0,257	0,189	0,118
	3 ГО	0,28	0,278	0,234	0,303	0,198	0,122
<b>Контролі (комплемет 2 ГО)</b>							
Контроль антигену с комплементом на антикомплементарність А+Розч. +К+ГС	Контроль антигену без комплементу А+Розч.+Розч.+ГС		Контроль комплементу с гемсистемою Розч.+Розч.+К+ГС		Контроль гемолітичної системи на стабільність без комплементу Розч.+Розч.+Розч.+ГС		
0,268	1,04		0,133		1,0		
<b>Контролі (комплемет 3 ГО)</b>							
Контроль А на антикомплементарність А+Розч. +К+ГС	Контроль антигену без комплементу А+Розч.+Розч.+ГС		Контроль комплементу с гемсистемою Розч.+Розч.+К+ГС		Контроль гемолітичної системи на стабільність без комплементу Розч.+Розч.+Розч.+ГС		
0,264	1,051		0,108		1,0		

**Примітка:** А- антиген, К- комплемент, ГС- гемсистема, ГО- гемолітична одиниця, ступінь затримки гемолізу (++++, +++, ++, +)

Таким чином, проведені випробування трьох імунологічних систем мікрометодом РЗК свідчать про специфічність і чутливість запропонованого способу виявлення антитіл. Як відомо, чутливість РЗК знаходиться в межах 0,05-0,1 мкг азоту антитіл [7]. Випробуваний мікрометод РЗК зберігає основні принципи постановки і обліку реакції зв'язування комплементу, які використовують у макрометоді, але відрізняється в 10 раз меншим об'ємом застосованих компонентів реакції, визначенням робочої дози комплементу тільки у гемсистемі, а також вдвічі меншим терміном постановки і обліку основного дослідження реакції (10+10 хвилин). Облік результатів мікрометоду РЗК проводять без попереднього осадження еритроцитів, одразу після виймання мікроплат із шейкера-термостату. Ступінь затримки гемолізу визначають у цифрових показниках за інтенсивністю оптичної екстинції (ОЕ) на спектрофотометрі з подальшим розпечатанням електронних результатів і визначенням діагностичної оцінки «позитивно», «сумнівно», «негативно».

#### Висновки.

1. Проведені випробування оригінальної технології постановки та інструментального обліку результатів дослідження мікрометодом РЗК у бруцельозній, бруцеллаовій і хламідійній імунологічних тест-системах свідчать про чутливість і специфічність розробленого способу і мають практичне значення у сучасній автоматизації серологічних скринінгових досліджень тварин щодо інфекційних хвороб.

2. Спосіб уніфікує цифрову оцінку та інтерпретацію результатів серологічних досліджень у РЗК та ELISA.

*Список літератури*

1. Настанова по діагностиці бруцельозу тварин, К., – 1998. – 59с. 2. Наставление по диагностике бруцеллеза животных, М., – 2003. – 62 с. 3. Chapter 2.3.1 Bovine brucellosis [Text] // OIE. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. – 5<sup>th</sup>, ed. – Paris 2004. – Vol.1. – P 409-424. 4. Chapter 2.4.1 Ovine epididimitis [Text] // OIE. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. – 5<sup>th</sup>, ed. – Paris 2004. – Vol.1. – P 245-250. 5. Chapter 2.4.7 Ovine chlamydia [Text] // OIE. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. – 5<sup>th</sup>, ed. – Paris 2004. – Vol.1. – P 635-641. 6. Searson, I.E. Sensivity and specifity of two microtitre complement fixation tests for the diagnostic of *Brucella ovis* infection in rams // Australian vet. journal, – 1982, №1, P. 5-7. 7. Фрімель, Х., Брок, Й. Основи імунології, М., – 1988. – 254 с.

### COMMISSION TRIALS OF NEW TECHNOLOGY OF COMPLEMENT FIXING TEST FOR DETERMINATION OF ANTIBODIES AGAINST INFECTIOUS DISEASE AGENTS

**Stegniy B.T., Bankin A.F., Vovk S.I., Blyznetsov O.G., Danilova I.S.**

*National Scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine", Kharkiv*

*Results of commission trials of new technology of statement and registration of micromethod of complement fixation test for determination of antibodies against agents of infectious diseases of animals are presented in the article.*

УДК 619:616.98:578.831.11:578.834.17:616-076

### РЕГРЕСІЙНИЙ АНАЛІЗ ТА ВИВЕДЕННЯ ФОРМУЛИ ПЕРЕРАХУНКУ РЕЗУЛЬТАТІВ ІФА ДЛЯ ТЕСТ-СИСТЕМ ВИРОБНИЦТВА ННЦ «ІЕКВМ» ТА ФДУ «ВНДІЗТ»

**Стегній Б.Т., Усова Л.П., Михайлова С.А., Антонов В.С., Руденко О.П., Коваленко Л.В., Матюша Л.В.**

*Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», м. Харків*

Популярність ІФА пояснюється наявністю таких характеристик, як: безпечність (використовується інактивовані вірус, не застосовуються радіоактивні ізотопи); універсальність; висока чутливість та специфічність; відтворюваність; простота проведення аналізу та обробки результатів (автоматизація проміжних стадій реакції, відсутність необхідності роботи з культурою клітин, широке розповсюдження спектрофотометрів та комп'ютерних програм для обчислення результатів ІФА); тривалий термін зберігання компонентів реакції [1, 2, 3]. Тому метод ІФА знайшов широке застосування для ранньої діагностики хвороб, проведення масових епізоотологічних обстежень, контролю імунологічного стану та ефективності застосування вакцин [4, 5].

У наш час для оцінювання титрів антитіл до вірусів інфекційного бронхіту курей (ІБК) та інфекційної бурсальної хвороби (ІБХ) створено різні комерційні діагностичні набори. Однак, взаємна інтерпретація результатів, отриманих за допомогою наборів ІФА різних виробників, досить складна.

Метою цієї роботи було визначення кореляційного зв'язку між результатами тест-систем ІФА, виробництва ННЦ «ІЕКВМ» (lg (S/P)<sub>ННЦ «ІЕКВМ»</sub>) і ФДУ «ВНДІЗТ» (lg (S/P)<sub>ФДУ «ВНДІЗТ»</sub>).

**Матеріали і методи.** Для проведення досліджень використовували тест-системи ІФА: «Набір компонентів для визначення антитіл до вірусу інфекційного бронхіту курей імуноферментним методом» виробництва ННЦ «ІЕКВМ» (ТУ У 24.4-00497087-044:2008, РП № 2948-14-0342-07 від 16 листопада 2007 року); «Набір компонентів для визначення антитіл до вірусу інфекційної бурсальної хвороби імуноферментним методом» (ТУ У 24.4-00497087-036:2008 РП № 3278-14-0361-08 від 18 квітня 2008 року); «Набір для определения антител к вирусу инфекционного бронхита кур иммуноферментным методом при тестировании сывороток в одном разведении» (ФДУ «ВНДІЗТ», Росія, РП № 1096-02 ІВП); «Набір для определения антител к вирусу инфекционной бурсальной болезни иммуноферментным методом при тестировании сывороток в одном разведении» (ФДУ «ВНДІЗТ», Росія, РП № 1097-02 ІВП); сироватки крові від курей, вакцинованих проти ІБК та ІБХ, які були попередньо протестовані в РЗГА та РДП, а також референтні сироватки: референс-зразок сироватки (ФДУ «ВНДІЗТ», Росія), з антитілами до вірусу інфекційного бронхіту курей; міжнародний стандартний референс-зразок сироватки IBDV (Ohio Agricultural Research and Development Center, The Ohio State University, United States Of America), що містить антитіла до вірусу інфекційної бурсальної хвороби та рекомендований Міжнародним епізоотичним бюро контрольним лабораторіям країн Євросоюзу (EU Reference Laboratories) та країн-учасниць ОІЕ при створенні національних імуноферментних тест-систем, призначених для серодіагностики інфекційної бурсальної хвороби; референс-зразок сироватки (Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Italy) без антитіл до інфекційних хвороб курей.

Постановку ІФА та облік результатів реакції здійснювали згідно листівки-вкладки по застосуванню кожної з тест-систем. Сироватки вносили в розведенні 1:400.

Наявність або відсутність антитіл до вірусів ІБК та ІБХ визначали за розрахунком відношення середньої оптичної щільності дослідної сироватки (S) до середнього значення оптичної щільності (ОЩ) позитивного контролю (P).

Розраховували відношення S/P за формулою: