

2. Створений препарат за внутрішньошлункового введення білим мишам упродовж 10 днів не впливав на зміну маси тіла та не спричинив суттєвого впливу на біохімічні показники дослідних груп тварин і відповідно до ГОСТ 12.1.007-76 він належить до класу помірно токсичних речовин.

Перспективи подальших досліджень. Для завершення нормативно-технічної документації з метою комплектації реєстраційного доосьє визначити параметри гострої токсичності препарату.

Список літератури

1. Березовский, А.В. Современные лекарственные средства фармакокорекции и химиопрофилактики животных [Текст] / А.В. Березовский, А.И. Поживил, А.Н. Шевченко. – Киев, 2007. – 240 с. 2. Богач, М.В. Кишкові інвазії індиків (поширення, діагностика, патогенез, профілактика) [Текст] : дис. ... д.вет. н / М.В. Богач. – Харків, 2008. – 397 с. 3. Деклараційний патент на винахід 70894 А Україна 7 А61К31/60. Засіб для лікування індиків при спонтанній гістомонозно-гетеракідозній інвазії [Текст] / М.В. Богач, Б.Т. Стегній, І.Л. Тараненко; заявник та правовласник Нац. наук. центр «Ін-т експерим. і клініч. вет. медицини»; заявл. 31.12.2003; опубл. 15.10.2004, Бюл. № 10. – 4 с. 4. Доклінічні дослідження ветеринарних лікарських засобів / За ред. І.Я. Коцюмбаса. – Львів: Тріада плюс, 2006. – 360 с. 5. Висоцкий, А.Э. Методические указания по токсикологической оценке химических веществ и фармакологических препаратов применяемых в ветеринарии [Текст] / А.Э. Висоцкий, М.П. Кучинский, Ю.Я. Бирман. – Минск, 2007. – 156 с. 6. Левченко, В.І. Ветеринарна клінічна біохімія [Текст] / В.І. Левченко, В.В. Влізло, І.П. Кондрахін // За ред. В.І. Левченка і В.Л. Галяса. – Біла Церква, 2002. – 400 с.
7. Клиническая лабораторная диагностика в ветеринарии: Справочное издание / И.П. Кондрахин, Н.В. Курилов, А.Г. Малахов и др. – М.: Агропромиздат, 1985. – 287 с.

THE PARAMETERS OF CHRONIC TOXICITY OF COMPLEX THERAPEUTIC AGENT "AMPROLEV" ON WHITE MICE

Bogach N.V., Prysiazhniuk J.N.

Odessa Experimental Station of the National Scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine"

By the preclinical studies of complex therapeutic agent "Amprolev" during intestinal injection to the white mice there was determined that its continued use does not affect the change in body weight, morphological and biochemical parameters of blood of animals. Reducing the number of lymphocytes in leukogram and increased of neutrophils when used in doses of 1/50 and 1/25 DL₅₀ indicates irritable effect of increasing doses of the drug on the animal organism, and the drug can be classified as moderately toxic substance.

УДК 619:616.98:578.831.31

РОЗРОБЛЕННЯ КОМПЛЕКСНОЇ СХЕМИ СЕРОМОНІТОРИНГУ РЕПРОДУКТИВНО-РЕСПІРАТОРНОГО СИНДРОМУ СВИНЕЙ

Бузун А.І., Прохорятюва О.В., Заремба О.В., Стегній М.Ю., Коваленко Л.В., Дорош Ю.О., Михайлова С.А.

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

Біла Н.В.

Інститут сільського господарства степової зони України НААН, м. Дніпропетровськ

Репродуктивно-респіраторний синдром свиней (PPCC) – вірусна хвороба, яка проявляється репродуктивними розладами у свиноматок та ураженнями легень поросят (Dea S., 1999). Етіологічним агентом хвороби вважається РНК-вмісний вірус родини *Arteriviridae* (Cavanagh D., 1997), який має генетичні варіанти – генотипи. На сьогодні найбільш вивченими є американський та західноєвропейський генотипи збудника (Katz J.B., 1995), але останнім часом з'являються повідомлення про виділення інших генетичних варіантів збудника. За приблизними оцінками, в США та Європі інфіковано свинопололів'я більше половини свиного господарств, де втрати продуктивності сягають 20 % (Christianson W.T., 1994). Свинарство України, на жаль, не є виключенням (В. Піотрович, 2010).

Серологічний моніторинг займає важливе місце в системі запобігання та ліквідації PPCC. Для виявлення антитіл проти PPCC за кордоном розроблено та впроваджено непряму реакцію імунофлуоресценції (НІФ), реакцію нейтралізації (РН), імуноферментний аналіз (ІФА), реакцію пасивної гемаглютинації (РПГА), а також різні методи імуноферментного аналізу (Albina E., 1992; Cho H.J., 1997; Denac H., 1997; Dea S., 2000). Для серологічного використання найбільш перспективним вважається нуклеокапсидний протеїн (NP), оскільки, по-перше, саме на нього в інфікованих свиней утворюється найбільше вірусспецифічних антитіл проти збудника PPCC (Dea S., 2000). По-друге, нуклеокапсидний білок має загальні епітопи для антитіл проти європейської та американської генетичних груп вірусу PPCC (Morrison R.B., 1992; Dea S., 1999). Крім того, РПГА хоча і поступається за відтворюваністю й стандартністю діагностиків методом імуноферментного аналізу, проте за простотою постановки, собівартістю, специфічністю та чутливістю аналізу залишається дуже привабливим як для експрес-діагностики, так і скринінгу сироваток, особливо для використання у бюджетозаощаджувачих програмах моніторингу.

Зважаючи на це, метою наших досліджень було розроблення РПГА для забезпечення бюджетозаощаджувачих програм моніторингу PPCC з використанням у якості антигену нуклеокапсидного поліпептиду збудника цієї хвороби.

Матеріали і методи. Віруси та вірусні антигени. Вірус репродуктивно-респіраторного синдрому (PPCC), штам «Lelystad», з інфекційної активністю 3,0 Іг ТЦД_{50/см³} у культурі клітин MA-104 та 6,5 Іг ТЦД_{50/см³} в культурі клітин MARC-145. Нуклеокапсидний антиген вірусу PPCC виготовляли за протоколом, розробленим Cho H.J та ін. (1996) у нашій модифікації. А саме: з легень PPCC-зараженого сисуну (див. нижче) стерильним 0,5 % м розчином трілону Б на фізрозчині вимивали альвеолярні макрофаги, осаджували їх низькошвидкісним центрифугуванням і осад ресуспендували в гіпотонічному розчині хлориду натрію, тричі заморожували – відтаювали і після освітлення низькошвидкісним центрифугуванням баластні речовини спочатку видаляли преципітацією поліетиленгліколем з ММ 6000 (ПЕГ, кінцева концентрація 3,5 %), а потім іонообмінною хроматографією (DEAE-целюлоза, елюція 0,3M NaCl в 0,01M ФБР). Отриманий таким чином вірусний матеріал концентрували ПЕГ-ом у кінцевій концентрації 7,5 % та обробляли детергентом Triton X-100 у кінцевій концентрації 0,2 %. Останнім етапом процедури приготування нуклеокапсидного антигену вірусу PPCC в нашій модифікації була короткотривала екстракція детергенту хлороформом за температури 0-4 °С.

Вірус хвороби Ауескі (ХА), штам «18в-УНДІЕВ», з інфекційної активністю 7,5 Іг ТЦІД_{50/мл}, адаптований до перещеплюваних клітин РК-15. Нук-

Розділ 4. Розробка та виробництво ветеринарних імунологічних препаратів. Контролювання якості, випробування, стандартизація, сертифікація, маркетинг і провайдинг ветеринарних імунологічних препаратів

лекаксидний антиген вірусу ХА виготовляли за методом Scherba G. та ін. (1983) у модифікації О.М. Цимбала та ін. (1992).

Нуклеокаксидні антигени вірусів РРСС та ХА використовували для сенсibiliзації еритроцитів та планшетів для постановки, відповідно, РПГА та ELISA (ХА - у якості гетерологічного контролю в обох реакціях).

Сироватки. Референтні сироватки РРСС та ХА, позитивні й негативні отримано з Референс-центру МЕБ-ФАО по КЧС, РРСС та ХА при Національному центрі ветеринарних досліджень, м. Пулава, Польща). Експериментальні сироватки проти штамів вірусів РРСС та ХА, зазначених вище, виготовляли на 2 групах поросят 1-місячного віку зі стада, вільного від ХА та РРСС, шляхом інтраназальної інокуляції $6,7 \lg \text{TЦД}_{50\text{CM}}^3$ штаму «Lelystad» (група 1, $n = 3$) або $7,9 \lg \text{TЦД}_{50\text{CM}}^3$ штаму «18в-УНДІЕВ» відповідно (група 2, $n = 2$). Сироватку крові відбирали через 5, 14, 25 та 60 днів після зараження. З метою відбору заражених вірусом РРСС альвеолярних макрофагів (див. вище) одного з поросят групи 1 евтаназували на стадії розгорнутих клінічних ознак захворювання.

Діагностикуми. Набори діагностикумів для імуноферментного аналізу хвороби Ауескі та репродуктивно-респіраторного синдрому свиней виробництва НВО «НАРВАК» (Російська Федерація) використовували згідно з чинною настановою. Еритроцитарні антигени РРСС та ХА готували шляхом сенсibiliзації фіксованих глутаровим альдегідом еритроцитів птиці препаратами нуклеокаксидних антигенів вірусів РРСС та ХА, приготованих за вище наведеним способом. Набір «in house» діагностикумів РРСС-ELISA комплектували планшетами, сенсibiliзованими тим же нуклеокаксидним антигеном, що й при виготовленні еритроцитарного діагностикуму, але в розведенні 1:800 (підібрано «шахматним» титруванням з референс-сироваткою). До складу набору входила сироватка крові поросят, відібрана на 60-у добу після їх зараження штамом «Lelystad», а також імунопероксидазний кон'югат з імуноглобулінів кролика проти гама-глобулінів сироватки крові свині (ННЦ «ІЕКВМ»).

Перед постановкою РПГА та ELISA досліджувані проби сироваток розбавляли ФБР 1:10 та інкубували у водяній бані за температури 58°C 30 хвилин. РПГА ставили в U-планшетах Таккачі в загальному обсязі реакційної суміші $0,1 \text{ см}^3$. Облік реакції проводили після осідання еритроцитів у всіх чотирьох лунках контролю розчинника (ФБР з 1% сироваткою крові коня), за традиційними критеріями. Планшети відмивали розчином перекису водня. Еритроцитарні діагностикуми зберігали в рідкому стані у суміші з кріопротектором за температури мінус $8-10^\circ\text{C}$ і перед використанням РПГА та ELISA досліджувані проби сироваток розбавляли РПГА методом низько швидкісного центрифугування ($600 \times g$, 5 хв.). «In house» РРСС-ELISA ставили експрес-методом за схемами титрування проб та візуального обліку або їх випробування в одному розведенні та фотометричного обліку результатів. За останньою схемою інкубацію проб сироваток крові (100 мкл/лунку), взятих у розведенні 1:100 у 4-х повторях кожна, проводили за температури $45-47^\circ\text{C}$ у водяній бані впродовж 20 хв. Після 5-разової промивки 0,1% розчином твіну 20 на автоклаваній воді з водогону (150 мкл/лунку) в лунки планшетів вносили кон'югат у робочому розведенні (1:800, 50 мкл/лунку) та інкубували їх за тих же умов, але впродовж 10 хв.. Після 3-разової промивки в лунки планшетів вносили робочий розчин субстрату (ТМВ). Облік реакції – через 15-20 хв. візуальний (порівняння інтенсивності фарбування субстратного розчину в розведеннях досліджуваної та референтних негативної й позитивної сироваток) та за допомогою рідера (одне розведення) фірми Bio-Rad (США) за довжини хвилі 655 нм (реакцію не «зупиняли»). Буферні ELISA-розчини для зразків, промивки й кон'югату готували на основі ФБР: буфер для зразків містив у якості наповнювача екстракт нормальних альвеолярних макрофагів свині, а буфер для кон'югату – альбумінову фракцію сироватки крові свині. При цьому, в буфери для зразків та промивки додавали твін 20 (фірма «Fluka», кінцева концентрація 0,1%). Корелятивний аналіз розроблених методів (РПГА та ELISA) проводили засобами пакету комп'ютерних програм «Microsoft Office Excel 2003».

Результати досліджень. На першому етапі досліджень на основі порівняння титрів в ELISA референтної позитивної та польових сироваток крові свиней з неблагополучних щодо РРСС стад ($n = 11$; за результатами клініко-епізоотологічних та лабораторних досліджень, включно з вірусологічними та молекулярно-біологічними) підібрали контрольну панель сироваток крові свиней та розробили методику приготування контрольних сироваток (табл. 1).

Як свідчать отримані результати, високо позитивні низькофонові в ELISA сироватки РРСС та ХА було отримано через 60 днів, а низько позитивні – через 14 днів після зараження поросят за відпрацьованою схемою (табл. 1). Також установлено повне співпадіння результатів виявлення антитіл проти вірусу РРСС за використання комерційного та «in house»-наборів ELISA. Референтні сироватки проти європейського та американського генотипів збудника виявлялися обома наборами однаково ефективно. Згідно отриманих результатів досліджені сироватки було поділено на високо, помірно та низько позитивні за наступними критеріями: за титрами (візуальний облік ELISA) високوپозитивними вважалися сироватки з титрами 1:6400 й вище, позитивними 1:800-1:3200, низько позитивними 1:100-1:400 (сумнівні, за відсутності даних з серології поствакцинального імунітету проти РРСС); за оптичною щільністю сироваток у розведенні 1:100 високوپозитивними визначено проби з $OD_{655} = 0,600$ і вище; позитивними – 0,300-0,599; низькопозитивними – 0,200-0,299.

На другому етапі досліджень одинадцять польових зразків контрольної панелі (за виключенням сироваток з антитілами проти одночасно вірусів РРСС і ХА) разом з приготованими контрольними позитивними сироватками проти вірусів РРСС та ХА використовували для відпрацювання й валідації РПГА-РРСС (табл. 2).

Доведено, що оптимальною сенсibiliзуючою дозою для виготовлення ЕД-РРСС з відповідного нуклеокаксидного антигену було його розведення 1:640. За сенсibiliзуючої дози до 1:80 еритроцитарний діагностикум мав недостатню специфічність, а в розведенні 1:1280 – меншу чутливість. Аналогічна закономірність простежувалася й при виготовленні ЕД-ХА – хоча й на іншому рівні розведень нуклеокаксидного антигену вірусу ХА. За сенсibiliзуючу дозу цього антигену було обрано розведення 1:80.

Таблиця 1 – Результати підбору сироваток для контрольної панелі зразків

№ з/п	Проби сироваток	OD ₄₅₀ (ELISA-НАРВАК)	Титри в in house ELISA (візуальний облік)		OD ₆₅₅ (in house-ELISA)		Результат ELISA
			Ag РРСС	AgХА	AgРРСС	AgХА	
1	2	3	4	5	6	7	8
1	945-8	43%	1:1600	1:200	0,527	0,318	п-мікс
2	945-12	32%	1:400	1:200	0,272	0,251	нп-мікс
3	956-4	47%	1:6400	0	0,633	0,109	Вп
4	958-1	48%	1:3200	0	0,601	0,116	П
5	958-9	31%	1:400	0	0,291	0,133	Нп
6	967-4	30%	1:800	0	0,277	0,131	П
7	967-7	55%	1:12800	0	1,029	0,127	Вп
8	969-2	59%	1:6400	1:100	0,588	0,211	вп-мікс
9	969-5	48%	1:1600	1:100	0,494	0,255	п-мікс
10	970-3	66%	1:12800	0	1,107	0,134	Вп

1	2	3	4	5	6	7	8
11	974-15	39%	1:1600	1:100	0,459	0,231	п-мікс
12	974-17	30%	1:800	0	0,287	0,117	П
13	977-8	23%	1:100	0	0,212	0,129	Нп
14	979-23	33%	1:400	0	0,290	0,095	Нп
15	979-25	26%	1:200	0	0,233	0,113	Нп
16	982-4	51%	1:6400	1:100	0,707	0,253	вп-мікс
17	982-22	60%	1:6400	1:100	0,683	0,217	вп-мікс
18	1028-13	54%	1:6400	0	0,907	0,101	Вп
19	Реф PRRS-EU	33%	1:800	0	0,311	0,072	П
20	Реф PRRS-USA	41%	1:1600	0	0,349	0,081	П
21	Реф негативна	15%	0	0	0,157	0,094	Нег
22	PPCC-позит. 1	32%	1:800	0	0,299	0,100	П
23	PPCC-позит. 2	38%	1:3200	0	0,479	0,109	Вп
24	PPCC-позит. 3	49%	1:6400	0	0,833	0,130	Вп
25	ХА-позитив. 1	13%	0	1:200	0,142	0,359	ХА-п
26	ХА-позитив. 2	9%	0	1:800	0,137	0,501	ХА-п

Примітки: OD – оптична щільність за $\lambda=655\text{nm}$; Реф PRRS-EU – референс-сироватка проти європейського генотипу вірусу PPCC (PIWet, Польща); Реф PRRS-USA – те саме, але проти американського генотипу вірусу; PPCC-позит. 1-3 – пул позитивних сироваток поросят, відповідно, через 14, 25 та 60 діб після зараження вірусом «Lelystad»; ХА-позит. 1-2 – те саме, але заражених вірусом «18е-УНДІЕВ»; Аз PPCC – нуклеокапсидний антиген вірусу PPCC («Lelystad»), іміобілізований в лунках планшетів; Аз ХА – те саме, але антиген вірусу ХА (18е-УНДІЕВ); вп – високо позитивна; п – позитивна; нп – низько позитивна (підозрювана на PPCC) сироватки; -мікс – крім антитіл проти PPCC, інші вірусоспецифічні антитіла.

Встановлено, що облік реакції з використанням еритроцитарних діагностикумів з фіксованих еритроцитів птиці необхідно проводити впродовж 30-45 хвилин після повного осідання еритроцитів у вигляді «гудзика» в лунках з «контролем розчинника». Найбільшу відтворюваність результатів РПГА (98 %, n = 13, P<0,05) було отримано при використанні в якості розчинника еритроцитарних діагностикумів декстрозо-желатинового буферного розчину (ДЖБ, рН 7,5-8,0), а в якості розчинника проб сироваток – 0,01 М фосфатно-сольового буферного розчину (ФСБ, рН 7,2-7,4). Обов'язковою умовою було зберігання ДЖБ за мінусових температур (наприклад, у морозильнику) через загрозу мікробного проростання. Певну проблему в РПГА становило повторне використання планшетів. Найбільш вдалою з випробуваних видалася процедура тривалого (не менше 6 годин) «замочування» їх відразу після обліку результатів реакції у 4-6 %-вому розчині перекису водню з наступним ретельним ополіскуванням у автоклавованій чи кип'яченій воді та висушуванням.

На заключному етапі досліджень порівнювали чутливість та специфічність розроблених РПГА й ELISA з комерційним набором ФА виробництва НВО «НАРВАК» (табл. 3).

Таблиця 2 – Результати вивчення залежності специфічності та чутливості РПГА від дози сенсibiliзації еритроцитів антигенами

№ з/п	Проби сироваток	ЕД-PPCC, виготовлений з антигену ВРРСС у розведеннях			ЕД-ХА, виготовлений з антигену ВХА у розведеннях		
		1:80	1:640	1:1280	1:20	1:80	1:160
1	PPCC-позит. 1	1:16	1:32	1:32	1:4	0	0
2	PPCC-позит. 2	1:128	1:128	1:64	1:8	0	0
3	PPCC-позит. 3	1:256	1:256	1:128	1:8	0	0
4	ХА-позитив. 1	1:8	0	0	1:64	1:128	1:64
5	ХА-позитив. 2	1:4	0	0	1:256	1:256	1:128
6	Негативна 1	1:4	0	0	1:4	0	0
7	Негативна 2	1:8	0	0	1:4	0	0

Примітки: ЕД – еритроцитарний діагностикум; ВРРСС – вірус PPCC; ВХА – вірус ХА

Таблиця 3 – Результати валідації розроблених діагностикумів PPCC

№ зразків	Результат дослідження зразків сироваток контрольної панелі розробленими методами у порівнянні з комерційним тестом НВО НАРВАК			
	OD ₄₅₀ (ELISA-НАРВАК, %)	Титр in house ELISA ¹⁾	OD ₆₅₅ in house-ELISA ²⁾	Титр в РПГА
1	2	3	4	5
1	43	1:1600	0,527	1:512
2	47	1:6400	0,633	1:1024
3	66	1:12800	1,107	1:512
4	33	1:400	0,29	1:256
5	23	1:100	0,212	1:128

Розділ 4. Розробка та виробництво ветеринарних імунологічних препаратів. Контролювання якості, випробування, стандартизація, сертифікація, маркетинг і провайдинг ветеринарних імунологічних препаратів

Продовження табл. 3

1	2	3	4	5
6	30	1:800	0,277	1:512
7	31	1:400	0,291	1:256
8	48	1:3200	0,601	1:512
9	55	1:12800	1,029	1:1024
10	30	1:800	0,287	1:256
11	26	1:200	0,233	1:64
$R_{РПГА}$	0,69	0,72	0,71	-
$R_{in\ ELISA-1}$	-	0,91	-	-
$R_{in\ ELISA-2}$	-	-	0,97	-

Примітки: ¹⁾кожна проба досліджувалася в розведеннях з 1:100 до 1:12800, однократно; ²⁾кожна проба досліджувалася в 3-х повторях, у розведенні 1:100; $R_{РПГА}$ – коефіцієнт кореляції тестів ELISA з РПГА-PPCC; $R_{in\ ELISA-1}$ – коефіцієнт кореляції ELISA-НАРВАК з in house ELISA (розтитровка з 1:100 до 1:12800, візуальний облік); $R_{in\ ELISA-2}$ – коефіцієнт кореляції ELISA-НАРВАК з in house ELISA (в одному розведенні, фотометричний облік). У всіх випадках рівень достовірності визначення R за $P < 0,01$

Отримані результати свідчать про значну кореляцію титрів антитіл проти PPCC у зразках, досліджених за розробленим методом РПГА та комерційним ($R=0,69$; $P < 0,01$; $n=11$), а також in house ELISA ($R=0,71-0,72$; $P < 0,01$; $n=11$). Крім того, показано, що найтісніше з результатами дослідження сироваток PPCC-позитивної панелі комерційним тест-набором корелюють результати in house ELISA з випробуванням проб у одному розведенні (1:100) та фотометричним обліком ($R=0,97$; $P < 0,01$; $n=11$), що свідчить про його перспективність для лабораторної діагностики PPCC. Результати in house ELISA з випробуванням проб у серійних розведеннях (з 1:100 до 1:12800) також тісно корелювали з комерційним тестом ($R=0,91$; $P < 0,01$; $n=11$), що свідчить про його перспективність для використання в польовій діагностиці PPCC.

Низька собівартість процедури виявлення антитіл в РПГА робить цей метод привабливим для використання в малобюджетних програмах масових досліджень (скринінгу) сироваток крові свиней як за польових, так і лабораторних умов. Простота і швидкість виконання тесту компенсують його проблеми з відтворюваністю за польових умов. Тим більше, що за польових умов у якості підтверджуючого тесту для додаткового дослідження сумнівно позитивних та частини негативних проб сироваток крові можна використовувати розроблений нами ELISA-тест з їх випробуванням у серійних розведеннях (з 1:100 до 1:12800).

Отримані результати та відпрацьовані у перебігу вище зазначених досліджень технологічні параметри закладено у відповідну довідково-нормативну документацію з моніторингу, яка пропонується для впровадження в біотехнологічне виробництво.

Висновки. 1. Розроблено імпортозаміщуючі бюджетозберігаючі діагностичні препарати для моніторингу PPCC методами РПГА й ELISA, які за простотою та швидкістю постановки придатні для використання за польових умов у якості експрес-тестів – відповідно, скринінгового та підтверджуючого.

2. Коефіцієнт кореляції результатів за порівняння пропонуваного РПГА та ELISA (розтитровка проб та візуальний облік) з комерційним набором ІФА виробництва НВО «НАРВАК» становить відповідно $R_{РПГА} = 0,69$ та $R_{ELISA} = 0,91$ ($P < 0,01$; $n = 11$).

3. Розроблені процедури виготовлення діагностиків доступні для пристосування до виробництва на біотехнологічних лініях замовника.

Подяка. Автори висловлюють щире подяку професору З. Пейсаку та адміністрації Національного наукового ветеринарного центру Польщі *PIWet* за надані референтні матеріали, а Євросоюзу за надану можливість стажування в згаданій установі. Ми також вдячні доктору ветеринарних наук А. Герилевичу за проведення молекулярно-біологічних досліджень, що супроводжували нашу діагностичну роботу, а також професору В. Білоконю за слушні поради щодо оформлення публікації.

Список літератури

1. Cavanagh, D. Nidovirales: a new order comprising Coronaviridae and Arteriviridae. Arch Virol. 1997;142(3):629-33.
2. Плотрович, В. Комплекс респіраторних захворювань свиней// В ж-лі «Прибуткове свинарство», 2010, № 2, С. 27-31.
3. CHO HJ, DEREGT D, JOO HS. An ELISA for porcine reproductive and respiratory syndrome: Production of antigen of high quality. Can J Vet Res 1996; 60: 89-93.
4. Scherba, G., Turek, J.J., Gustafson, D.P. Pseudorabies virus nucleocapsid antigen for skin testing in swine. J. Clin. Microbiol., 1983, v.17, No.3, P. 539-544.
5. Цимбал, О.М., Бусол, В.О., Конаржевський, К.Є., Сербіненко, Т.М., Самойлюк, В.В. Тимчасова інструкція по виготовленню і контролю Аулергіну для прижиттєвого виявлення свиней-вірусоносіїв при хворобі Ауескі, ІЕКВМ УААН, Харків-1992, 37 с.

DEVELOPMENT OF COMPLEX SYSTEM OF PORCINE REPRODUCTIVE RESPIRATORY SYNDROM SEROMONITORING

Buzun A.I., Prohoryatova O.V., Zarembo O.V., Stegnyy M.Yu., Kovalenko L.V., Dorosh Yu.O., Mikhailova S.A.

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

Bila N.V.

Institute of Agriculture of the steppe zone NAAN Ukraine, Dnepropetrovsk

The porcine reproductive-respiratory virus (PRRSv) nucleocapsid antigen prepared from pull of porcine alveolar macrophages of piglet which infected by Lelystad virus. This antigen used for in house passive hemagglutination and ELISA tests' diagnostics preparation. Results correlation between in house and commercial (ELISA-kit from Narwak firm, Russian Federation) methods during PRRS-serums pannels examination were on levels of $R=0,7$ ($P < 0,01$; $n = 11$) for passive hemagglutination and $R=0,91$ ($P < 0,01$; $n = 11$) for in house ELISA. Possibilities of passive hemagglutination as screening test and ELISA as confirmation test for PRRS monitoring purposes is discussed. The reglament of PRRS diagnostics manufacturing is offered to diagnostic producers worldwide.