

Полученные данные позволяют сделать вывод, что предложенная иммуноферментная система на основе блокирующего варианта ИФА может применяться для выявления аденовируса птиц 4 серотипа и контроля вакцинного сырья.

УДК 619:579.887.111:636.52/58:616-078.33

РАЗРАБОТКА ТЕСТ-СИСТЕМЫ НА ОСНОВЕ НЕПРЯМОГО ВАРИАНТА ИФА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИТЕЛ К MYCOPLASMA GALLISEPTICUM ПРИ ТЕСТИРОВАНИИ СЫВОРОТОК В ОДНОМ РАЗВЕДЕНИИ

**ВОЛКОВА И. А., МУДРАК Н.С., ДРЫГИН В.В., ГИРИН М.В., БОРИСОВ
А.В., ИРЗА В.Н.**

Всероссийский НИИ защиты животных, г. Владимир

Применяемые для диагностики микоплазмозов серологические тесты: РА, РПГА, реакция ингибирования роста (РИР), РДП, РТГА, не всегда обладают достаточной чувствительностью и специфичностью, и возможностью стандартизации условий постановки реакции, что является важным при массовом серологическом мониторинге птицепоголовья. Многие зарубежные фирмы (KPL, IDEEX, Biocheck и др.) выпускают коммерческие наборы на основе непрямого ИФА для определения антител к *Mycoplasma gallisepticum* в сыворотках крови в одном разведении пробы, но их применение в ветеринарной практике ограничено высокой стоимостью.

Целью нашей работы была разработка отечественной тест-системы для обнаружения антител к возбудителю респираторного микоплазмоза кур на основе непрямого варианта ИФА при тестировании сывороток в одном разведении.

В качестве антигена использовали штамм S6 *Mycoplasma gallisepticum*, выращенный в среде Frey с 10-15% лошадиной сыворотки с последующей очисткой, концентрированием, центрифугированием и обработкой додецилсульфатом натрия. После проверки на активность и специфичность антиген наносили на планшеты (Nunc, Дания) в концентрации 0,01 мг/мл для постановки непрямого варианта ИФА.

В качестве положительного контроля использовали гипериммунную сыворотку крови кур, двукратно иммунизированных *Mycoplasma gallisepticum*, в качестве отрицательного – сыворотку крови кур, не имеющих антител к *Mycoplasma gallisepticum*.

Непрямой вариант иммуноферментного анализа проводили по стандартной методике. Для выбора оптимального рабочего разведения исследовали 90 сывороток с разным уровнем антител к *Mycoplasma gallisepticum* в разведениях 1:100, 1:200, 1:400 и вычисляли значения S/P (отношение оптической плотности испытуемой сыворотки к разнице между оптическими

плотностями положительного и отрицательного контролей): S/P_{100} , S/P_{200} , S/P_{400} . Результаты обрабатывали с применением компьютерной программы Statistica (Correlation matrices). Для каждого разведения определяли коэффициент корреляции со значением титров, определенным методом последовательных разведений, который составил 0,86, 0,93 и 0,94 соответственно. Разведение 1:400, имевшее наибольший коэффициент корреляции, было выбрано рабочим. На основе данных этого разведения была построена калибровочная прямая и выведено уравнение линейной регрессии для определения титров, исходя из значений оптической плотности исследуемых сывороток: $\lg T = 3.7303 + 1.3591 * \lg S/P_{400}$. Для оценки гуморального иммунного ответа был установлен позитивно-негативный порог, на основе которого был вычислен наименьший положительный титр ($T=417$). Для повышения специфичности системы, с учетом возможных погрешностей в пределах одного разведения, была выделена сомнительная зона ($T=417-833$). Таким образом, титр антител в пределах 0-416 считался отрицательным, 417-833 - сомнительным, 834 и выше - положительным. Для получения достоверных результатов были определены допустимые значения контрольных сывороток: 0,069-0,150 для отрицательного контроля, 0,455-1,000 для положительного.

Для оценки чувствительности и специфичности тест-системы все сыворотки, использовавшиеся в работе, были параллельно протестированы с применением набора Mycoplasma gallisepticum Antibody Test Kit фирмы KPL (США). Чувствительность составила 88%, специфичность - 97% (по методу Naïhow), что позволяет использовать данную тест-систему для диагностики наравне с уже имеющимися тестами.

Таким образом, разработана иммуноферментная тест-система для определения антител к Mycoplasma gallisepticum при тестировании сывороток в одном разведении, которая может применяться при ретроспективной диагностике и для оценки иммунного статуса поголовья кур на птицефабриках.

УДК 636.087:619:616.3

НЕСПЕЦИФИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ И ПРОФИЛАКТИКА ЭНТЕРАЛЬНЫХ И РЕСПИРАТОРНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ТЕЛЯТ

ГАМАЮНОВ В.М., АНТОНЕНКОВ Е.М., Смоленская НИВС, Россия
ПЕТУХОВ В.В., КОРОБАНОВ В.Н., КХ "Михейково" Ярцевский район, Россия

На молочно-мясном комплексе КХ "Михейково" Смоленской области в зимний период постоянно возникают условия, не отвечающие санитарно-гигиеническим требованиям при комплектовании возрастных и технологических групп молодняка. Чаше не соблюдаются: санитария в групповых станках, параметры микроклимата, нормы площади - создается скученность, рацион