



**ДЛЯ
ЖИВОТНЫХ**



**ДЛЯ
ЗДОРОВЬЯ**



**ДЛЯ
ВАС**

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ НАБОРЫ

zoetis

НАБОРЫ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ БОЛЕЗНЕЙ КУР ИММУНОФЕРМЕНТНЫМ МЕТОДОМ

ProFLOK® IBD ELISA (Профлок® IBD) – диагностический набор для выявления антител против вируса инфекционной бурсальной болезни (ИББ).....	6
ProFLOK® IBD PLUS ELISA (Профлок® IBD PLUS) – диагностический набор для выявления антител против вируса инфекционной бурсальной болезни (ИББ)	8
ProFLOK® LT ELISA (Профлок® LT) – диагностический набор для выявления антител против вируса инфекционного ларинготрахеита	10
ProFLOK® AE ELISA (Профлок® AE) – тест-набор для выявления антител против вируса инфекционного энцефаломиелита у птиц.....	12
ProFLOK® NDV PLUS ELISA (Профлок® NDV PLUS) – диагностический набор для выявления антител против вируса ньюкаслской болезни.....	14
ProFLOK® MG ELISA (Профлок® MG) – диагностический набор для выявления антител против микоплазмоза у кур, вызываемого <i>Mycoplasma gallisepticum</i>	16
ProFLOK® ALV PLUS Ag ELISA (Профлок® ALV PLUS) – диагностический набор для выявления антигена вируса лейкоза у птиц	18
ProFLOK® ALV-J Ab ELISA (Профлок® ALV-J) – диагностический набор для выявления антител против вируса лейкоза, подгруппы J	20
ProFLOCK® CAV PLUS ELISA (Профлок® CAV PLUS) – диагностический набор для выявления антител против вируса инфекционной анемии у цыплят (ИАЦ)	22
ProFLOK® MS ELISA (Профлок® MS) – диагностический набор для выявления антител против микоплазмоза у кур, вызываемого <i>Mycoplasma synoviae</i>	24
ProFLOK® IBV ELISA (Профлок® IBV) – диагностический набор для выявления антител против вируса инфекционного бронхита у кур (ИБК).....	26
ProFLOK® REO ELISA (Профлок® REO) – диагностический набор для выявления антител против реовируса у птиц.....	28

НАБОРЫ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ БОЛЕЗНЕЙ ИНДЕЕК ИММУНОФЕРМЕНТНЫМ МЕТОДОМ

ProFLOK® MM ELISA (Профлок® MM Turkey) – диагностический набор для выявления антител против микоплазмоза у индеек, вызываемого <i>Mycoplasma meleagridis</i>	32
ProFLOK® BA ELISA (Профлок® BA Turkey) – диагностический набор для выявления антител против бордетеллеза у индеек, вызываемого <i>Bordetella avium</i>	34
ProFLOK® NDV ELISA Turkey (Профлок® NDV Turkey) – диагностический набор для выявления антител против вируса ньюкаслской болезни у индеек.....	36
ProFLOK® MS ELISA Turkey (Профлок® MS Turkey) – диагностический набор для выявления антител против микоплазмоза у индеек, вызываемого <i>Mycoplasma synoviae</i>	38
ProFLOK® MG ELISA Turkey (Профлок® MG Turkey) – диагностический набор для выявления антител против респираторного микоплазмоза у индеек, вызываемого <i>Mycoplasma gallisepticum</i>	40

НАБОРЫ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ БОЛЕЗНЕЙ КУР И ИНДЕЕК

ProFLOK® AIV PLUS ELISA (Профлок® AIV PLUS) – тест-набор для выявления антител против вируса гриппа птиц.....	44
---	----

zoetis



НАБОРЫ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ БОЛЕЗНЕЙ
КУР ИММУНОФЕРМЕНТНЫМ МЕТОДОМ

zoetis

НАБОРЫ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ БОЛЕЗНЕЙ КУР ИММУНОФЕРМЕНТНЫМ МЕТОДОМ



ProFLOK® IBD ELISA (Профлок® IBD)

диагностический набор для выявления антител против вируса инфекционной бурсальной болезни (ИББ)

Набор ProFLOK® IBD – специфический экспресс-тест на основе твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA) для обнаружения антител к вирусу ИББ – одной из экономически значимых и широко распространенных в промышленном птицеводстве¹. Набор ProFLOK® IBD предназначен для оценки уровня антител к вирусу ИББ (IBDV) до и после вакцинации. Набор лицензирован Министерством сельского хозяйства США (USDA).

Набор ProFLOK® IBD ELISA характеризуется высокой специфичностью в отношении классического вируса ИББ и его вариантных штаммов и тесной корреляцией результатов ELISA с реакцией нейтрализации (VN).

Набор ProFLOK® IBD ELISA обладает следующими преимуществами:

- обеспечивает получение достоверных и воспроизводимых результатов анализа;
- лицензирован Министерством сельского хозяйства США (USDA);
- имеет длительный срок хранения – 24 месяца;
- дает возможность одновременного исследования большого количества проб сыворотки крови (900 исследований/набор) по легко воспроизводимой методике;
- сопровождается мощной системой программного обеспечения для управления базой данных и превосходной технической поддержкой.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Набор ProFLOK® IBD ELISA протестирован по следующим показателям: **специфичность, чувствительность и воспроизводимость.**

1. Специфичность

Результаты, представленные в табл. 1, свидетельствуют о высокой специфичности набора ProFLOK® IBD ELISA, поскольку он взаимодействует только с гомологичной сывороткой при отсутствии положительных результатов при исследовании эталонных сывороток, содержащих антитела к ряду возбудителей других инфекционных болезней птиц.

Набор ProFLOK® IBD ELISA, подобно всем наборам ProFLOK® ELISA, обладает высокой специфичностью и обеспечивает получение сопоставимых и воспроизводимых результатов.

Таблица 1. Специфичность

Средние значения отношения оптических плотностей образец/положительный контроль (S/P) и диапазоны S/P для сывороток, исследованных с помощью ProFLOK® IBD ELISA

Антиген	Средние значения S/P ^{a,b}	Результат ^c
Вирус инфекционного бронхита – Mass (IBV)	0,17	-
Вирус инфекционного бронхита – Ark (IBV)	0,10	-
Вирус инфекционного бронхита – Conn (IBV)	0,08	-
Реовирус птиц (REO)	0,14	-
Вирус инфекционного ларинготрахеита (ILT)	0,07	-
Вирус ньюкаслской болезни (NDV)	0,02	-
Вирус инфекционной бурсальной болезни (IBD) D78	0,91	+
Вирус инфекционной бурсальной болезни (IBD) 1:8	0,998	+
Вирус инфекционной бурсальной болезни (IBD) 1:16	0,790	+
Вирус инфекционной бурсальной болезни (IBD) 1:32	0,570	+
Вирус инфекционной бурсальной болезни (IBD) 1:64	0,390	+
Вирус инфекционной бурсальной болезни (IBD) 1:128	0,310	+

2. Чувствительность

Данные, представленные в табл. 2, показывают что набор ProFLOK® IBD ELISA обладает более высокой чувствительностью, в сравнении с стандартной реакцией нейтрализации вируса (VN). Пробы сыворотки крови с известным уровнем вируснейтрализующих антител к ИББ (от 1:290 до 1:10240) исследовали с помощью набора ProFLOK® IBD ELISA.

Таблица 2. Чувствительность

Сравнительные результаты исследования проб сыворотки крови цыплят-бройлеров в ProFLOK® IBD ELISA и в стандартной реакции нейтрализации вируса (VN)

№ пробы сыворотки крови	Титр антител в ProFLOK IBD ^{1,2}	Титр антител в VN ³
1	389	290
2	806	580
3	1225	2560
4	1316	10 240

^a Средние арифметические значения S/P (n=15, 3 повторных теста на 5 планшетах)

^b ОП образца – средн. значение ОП отриц. контроля S/P = средн. значение ОП полож. контроля – средн. значение ОП отриц. контроля

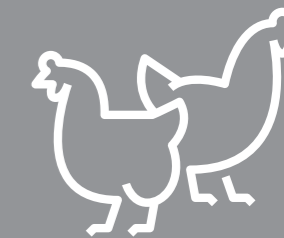
^c Пороговые диапазоны S/P для набора ProFLOK® IBD ELISA: 0,180 и ниже – отрицательный, выше 0,180 – положительный

¹ Log₁₀ титр = (1,464 x Log₁₀ S/P) + 3,197

² Среднее арифметическое значение (n=15).

³ Результаты нейтрализации вируса ИББ, проведенной в коммерческой лаборатории, использующей стандартный штамм, разрешенный Министерством сельского хозяйства США (USDA) в дозе 100 ТЦД₅₀

НАБОРЫ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ БОЛЕЗНЕЙ КУР ИММУНОФЕРМЕНТНЫМ МЕТОДОМ



3. Воспроизводимость

Данные, представленные в табл. 3, показывают высокую воспроизводимость результатов ELISA при исследовании одной пробы сыворотки крови в 30 повторных исследованиях на 5 планшетах набора ProFLOK® IBD ELISA. Все наборы серии ProFLOK® ELISA оптимизированы таким образом, чтобы в течение длительного времени получать сопоставимые и воспроизводимые результаты.

Таблица 3. Воспроизводимость

Средние значения отношения оптических плотностей образец/положительный контроль (S/P) и коэффициенты вариации (CV%), полученные при исследовании одной сыворотки крови в 30 повторных исследованиях на 5 планшетах набора ProFLOK® IBD ELISA (исследования проведены в трех коммерческих лабораториях)

№ планшета ProFLOK® IBD ELISA	Сыворотка с высоким титром антител к вирусу ИББ		Сыворотка со средним титром антител к вирусу ИББ		Сыворотка с низким титром антител к вирусу ИББ	
	S/P ^a	CV(%)	S/P ^a	CV(%)	S/P ^a	CV(%)
1	2,251	4,76	1,104	6,28	0,541	6,65
2	2,291	2,58	1,080	5,13	0,515	6,03
3	2,203	2,83	1,037	5,71	0,493	4,04
4	2,049	3,10	0,947	6,74	0,461	7,91
5	2,204	3,57	1,033	4,25	0,508	4,04
Средн. арифм. значения ^b	2,200	3,37	2,251	5,62	0,500	5,73

^a Среднее арифметическое значение (n=30).

^b Среднее арифметическое значение (n=150, 30 повторных тестов на 5 планшетах)

ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

1. Оценка эффективности вакцинации против ИББ:

- случайным методом отберите и исследуйте в ИФА тесте 30 или более проб сыворотки крови от группы птиц непосредственно перед введением вакцины против ИББ (до вакцинации) и через 2–6 недель после иммунизации.

2. Оценка эпизоотической ситуации по ИББ:

- отберите и проведите исследование в ИФА тесте 30 или более проб сыворотки крови от каждой группы птиц, особенно племенного поголовья. Процедуру проводите регулярно – каждые 4–6 недель.

3. Оценка уровня материнского иммунитета у цыплят.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Оцените результаты теста ProFLOK® IBD ELISA по следующим параметрам:

1. Однородность – по значению коэффициента вариации (CV%).

- Чем ниже значение CV% в стаде, тем выше однородность поствакцинальных титров антител.
- Следует стремиться к максимальной однородности титров антител к вирусу ИББ у цыплят в возрасте 1–3 дня, до начала вакцинации и после нее (т.е. CV должен быть менее 45%).

2. Значения титра антител

Пороговое значение S/P: каждый набор серии ProFLOK® ELISA имеет пороговое значение отношения оптической плотности исследуемого образца сыворотки к среднему значению оптической плотности положительного контроля (S/P), которое четко разделяет пробы сыворотки крови на положительные и отрицательные. Пороговое значение S/P для ProFLOK® IBD ELISA следующее:

Диапазон S/P	Диапазон титра
0,180 или менее	0
0,181 и более	554 и более

Оценка эффективности вакцинации: сравните средние титры антител, определенные в ELISA до и после вакцинации, геометрические средние титры и значения коэффициента вариации (%CV). **Средний геометрический титр у цыплят после вакцинации, равный 3000, считается «защитным».**

Примечание: значения титров антител после вакцинации зависят от разных факторов, таких как используемый вакцинный штамм вируса ИББ, способ введения вакцины, возраст птиц и т.д. Целью любой программы вакцинации является получение максимально однородных положительных значений титров антител (т.е. CV должен быть 45% или менее).

Оценка эпизоотической ситуации по ИББ: рассмотрите профиль антител, определенных с помощью набора ProFLOK® IBD ELISA в группе цыплят и установите корреляцию уровня титров антител с программой вакцинации, производственными показателями (прирост массы тела, конверсия корма, смертность и т.д.) и наличием или отсутствием фактических признаков проявления ИББ.

Литература

Lasher H., Shane S.W., Infectious Bursal Disease // World's Poultry Science Journal. – Vol. 50. July 1994.

НАБОРЫ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ БОЛЕЗНЕЙ КУР ИММУНОФЕРМЕНТНЫМ МЕТОДОМ



ProFLOK® IBD PLUS ELISA (Профлок IBD PLUS)

диагностический набор для выявления антител против вируса инфекционной бурсальной болезни (ИББ)

Набор ProFLOK® IBD PLUS – специфический экспресс-тест на основе твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA) для обнаружения антител к вирусу ИББ – одной из экономически значимых и широко распространенных в промышленном птицеводстве¹. Набор ProFLOK® IBD PLUS ELISA предназначен для оценки уровня антител к вирусу ИББ до и после вакцинации. Набор лицензирован Министерством сельского хозяйства США (USDA).

Набор ProFLOK® IBD PLUS ELISA характеризуется высокой специфичностью в отношении классического вируса ИББ и его вариантных штаммов и тесной корреляцией результатов ИФА с реакцией нейтрализации (VN).

Набор ProFLOK® IBD PLUS ELISA обладает следующими преимуществами:

- обеспечивает получение достоверных и воспроизводимых результатов анализа;
- лицензирован Министерством сельского хозяйства США;
- дает возможность одновременного исследования большого количества проб сыворотки крови (900 исследований/набор) по легко воспроизводимой методике;
- сопровождается мощной системой программного обеспечения для управления базой данных и превосходной технической поддержкой.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Антиген

В лунках полистироловых планшетов сорбирован антиген вируса ИББ.

Набор ProFLOK® IBD PLUS ELISA протестирован по следующим показателям: **специфичность, чувствительность.**

1. Специфичность

Результаты, представленные в табл. 1, свидетельствуют о высокой специфичности набора ProFLOK® IBD PLUS ELISA, поскольку он взаимодействует только с гомологичной сывороткой при отсутствии положительных результатов при исследовании эталонных сывороток, содержащих антитела к ряду возбудителей других инфекционных болезней птиц.

Набор ProFLOK® IBD PLUS ELISA, подобно всем наборам ProFLOK® ELISA, обладает высокой специфичностью и обеспечивает получение сопоставимых и воспроизводимых результатов.

Таблица 1. Специфичность

Средние значения отношения оптических плотностей образец/положительный контроль (S/P) и диапазоны S/P для сывороток, исследованных в ProFLOK® IBD PLUS ELISA

Антиген	Средние значения S/P ^а	Результат S/P ^с
Вирус оспы птиц (APV)	0,010	-
Реовирус птиц (REO)	0,018	-
Вирус ретикулэндотелиоза птиц (REV)	0,004	-
Вирус инфекционного ларинготрахеита (ИЛТ)	0,002	-
<i>Mycoplasma gallisepticum</i> (Mg)	0,002	-
<i>Mycoplasma sinoviae</i> (Ms)	0,096	-
Вирус ньюкаслской болезни (NDV)	0,016	-
Вирус инфекционного бронхита (IBV)	0,022	-
Вирус энцефаломиелита птиц (АЕ)	0,056	-
Вирус инфекционной анемии цыплят (CAV)	0,076	-
Экстраэмбриональная жидкость СПФ-эмбрионов кур	0,004	-
Вирус инфекционной бурсальной болезни (IBD)	3,576	+

^а Средние арифметические значения S/P (n=15, 3 повторных теста на 5 планшетах)
^б ОП образца – средн. значение ОП отриц. контроля S/P = средн. значение ОП полож. контроля – средн. значение ОП отриц. контроля
^с Пороговые диапазоны S/P для набора ProFLOK® IBD PLUS ELISA: 0,299 и ниже – отрицательный, выше 0,299 – положительный

2. Чувствительность

Данные, представленные в табл. 2, показывают, что набор ProFLOK® IBD PLUS ELISA обладает более высокой чувствительностью, в сравнении с общепринятым тестом нейтрализации вируса (VN). Пробы сыворотки крови от цыплят-бройлеров отбирали при достижении ими возраста 1, 6, 7, 8, 13, 14, 15, 20 и 28 дней и исследовали на наличие материнских антител к вирусу ИББ с помощью набора ProFLOK® IBD PLUS ELISA и в реакции нейтрализации вируса (VN) (с использованием стандартного штамма, разрешенного Министерством сельского хозяйства США (USDA)).

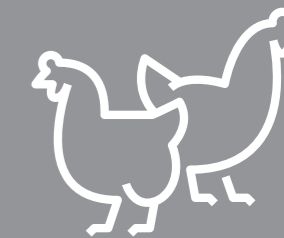
Таблица 2. Чувствительность

Сравнительные результаты исследования проб сыворотки крови цыплят-бройлеров с помощью ProFLOK® IBD PLUS ELISA и в общепринятом тесте нейтрализации вируса (VN)

Возраст, дни	Титр антител в ProFLOK® IBD PLUS ELISA ³	Титр антител в VN ⁴
1	10 036	14,27
6	8628	12,85
7	7936	12,3
8	8261	12,25
13	5649	10
14	4329	9,3
15	5334	8,5
20	3091	7,2
28	653	5,3

³ Log₁₀ титр = (1,464 x Log₁₀ S/P) + 3,197
⁴ Результаты нейтрализации вируса ИББ, проведенной в коммерческой лаборатории, использующей стандартный штамм, разрешенный Министерством сельского хозяйства США (USDA).

НАБОРЫ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ БОЛЕЗНЕЙ КУР ИММУНОФЕРМЕНТНЫМ МЕТОДОМ



На рис. 1 показан типовой профиль антител, определенных с помощью набора ProFLOK® IBD PLUS ELISA при традиционной схеме вакцинации родительского поголовья против ИББ. Все наборы ProFLOK® ELISA оптимизированы таким образом, чтобы получать сопоставимые и воспроизводимые результаты.

Динамика антительного ответа родительского поголовья птиц, привитых против ИББ, определенная по результатам ИФА ProFLOK® IBD PLUS

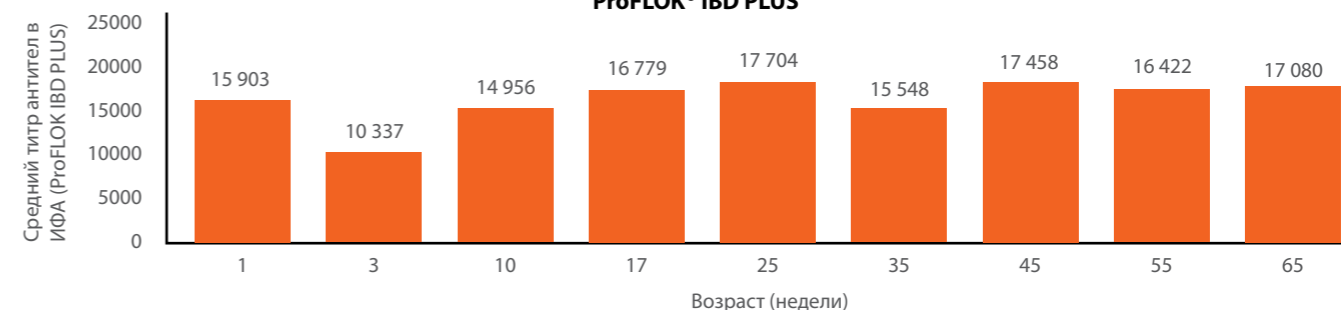


Рис. 1. Средний титр антител, определенный в ProFLOK® IBD PLUS ELISA при обследовании 150 птицеводческих хозяйств, проводящих традиционную программу профилактики ИББ.

ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

1. Оценка эффективности вакцинации против ИББ:

- случайным методом отберите и исследуйте в ИФА 30 или более проб сыворотки крови от группы птиц непосредственно перед введением вакцины против ИББ (до вакцинации) и через 2–6 недель после иммунизации.

2. Оценка эпизоотической ситуации по ИББ:

- отберите и проведите исследование в ИФА 30 или более проб сыворотки крови от каждой группы птиц, особенно племенного поголовья. Процедуру проводите регулярно – каждые 4–6 недель.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Оцените результаты теста ProFLOK® IBD PLUS ELISA по следующим параметрам:

1. Однородность – по значению коэффициента вариации (CV%).

- Чем ниже значение CV% в стаде, тем выше однородность поствакцинальных титров антител.
- Следует стремиться к максимальной однородности титров антител к вирусу ИББ у цыплят в возрасте 1–3 дня, до начала вакцинации и после нее (т.е. CV должен быть менее 45%).

2. Значения титра антител

Пороговое значение S/P: каждый набор серии ProFLOK® ELISA имеет пороговое значение отношения оптической плотности исследуемого образца сыворотки к среднему значению оптической плотности положительного контроля (S/P), которое четко разделяет пробы сыворотки крови на положительные и отрицательные. Пороговое значение S/P для ProFLOK® IBD PLUS ELISA следующее:

Диапазон S/P	Диапазон титра
0,299 или менее	0
0,300 и более	1002 и более

Оценка эффективности вакцинации: сравните средние титры антител, определенные в ELISA до и после вакцинации, геометрические средние титры и значения коэффициента вариации (%CV). **Средний геометрический титр у цыплят после вакцинации, равный 4000, считается «защитным».**

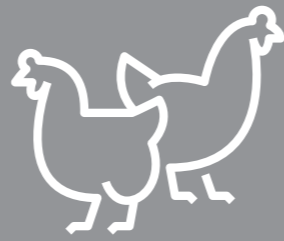
Примечание: значения титров антител после вакцинации зависят от разных факторов, таких как используемый вакцинный штамм вируса ИББ, способ введения вакцины, возраст птиц и т.д. Целью любой программы вакцинации является получение максимально однородных положительных значений титров антител (т.е. CV должен быть 45% или менее).

Оценка эпизоотической ситуации по ИББ: рассмотрите профиль антител, определенных с помощью набора ProFLOK® IBD PLUS ELISA в партии цыплят и установите корреляцию уровня титров антител с программой вакцинации, производственными показателями (прирост массы тела, конверсия корма, смертность и т.д.) и наличием или отсутствием фактических признаков проявления ИББ.

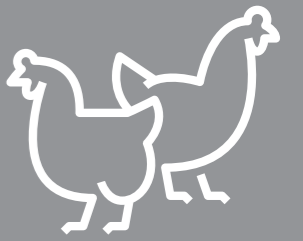
Литература

Lasher H., Shane S.W. Infectious Bursal Disease // World's Poultry Science Journal. – Vol. 50. July 1994.

НАБОРЫ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ БОЛЕЗНЕЙ КУР ИММУНОФЕРМЕНТНЫМ МЕТОДОМ



НАБОРЫ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ БОЛЕЗНЕЙ КУР ИММУНОФЕРМЕНТНЫМ МЕТОДОМ



ProFLOK® LT ELISA (Профлок® LT)

диагностический набор для выявления антител против вируса инфекционного ларинготрахеита

Набор ProFLOK® LT ELISA – специфический экспресс-тест на основе твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA), предназначенный для обнаружения антител к вирусу инфекционного ларинготрахеита (ИЛТ) в сыворотке крови кур. Набор лицензирован Министерством сельского хозяйства США (USDA).

Ларинготрахеит – инфекционная болезнь кур вирусной этиологии, которая проявляется высокой заболеваемостью и смертностью, снижением яйценоскости, что обуславливает значительные экономические потери^{1,2}. Набор ProFLOK® LT ELISA представляет собой надежный серологический тест для мониторинга результатов программы вакцинации против ИЛТ и контроля над распространением данной болезни в птицеводческих хозяйствах.

ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

Набор ProFLOK® LT ELISA имеет следующие преимущества:

- обеспечивает получение достоверных и воспроизводимых результатов анализа;
- имеет длительный срок хранения – 24 месяца;
- дает возможность одновременного исследования большого количества проб сыворотки крови (900 исследований/набор) по легко воспроизводимой методике;
- сопровождается мощной системой программного обеспечения для управления базой данных и отличной технической поддержкой.

1. Оценка эффективности вакцинации против ИЛТ

Случайным методом отберите и исследуйте в ИФА тесте 30 или более проб сыворотки крови от группы птиц непосредственно перед введением вакцины против ИЛТ (до вакцинации) и через 14–28 дней после иммунизации.

2. Оценка эпизоотической ситуации по ИЛТ

Необходимо проводить регулярные исследования в ИФА тесте 30 или более проб сыворотки крови от каждой группы птиц. Ремонтный молодняк, родительское поголовье и несушек промышленного стада исследуют каждые 6–8 недель, бройлеров – в возрасте убоя.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

1. Специфичность

Набор ProFLOK® LT ELISA был протестирован по следующим показателям: **специфичность, чувствительность и воспроизводимость.**

Результаты, представленные в табл. 1, свидетельствуют, что набор ProFLOK® LT ELISA обладает высокой специфичностью, поскольку взаимодействует только с гомологичной сывороткой при отсутствии положительных результатов при исследовании нормальной (контрольной) сыворотки, а также эталонных сывороток, содержащих антитела к ряду возбудителей других инфекционных болезней птиц. Набор ProFLOK® LT ELISA, так же как и все наборы ProFLOK® ELISA, обладает высокой специфичностью и обеспечивает получение сопоставимых и воспроизводимых результатов.

Таблица 1. Специфичность

Средние значения отношения оптических плотностей образец/положительный контроль (SP), диапазоны S/P и значения титров антител для сывороток, исследованных с помощью ProFLOK® LT ELISA

Эталонная сыворотка	Средние значения S/P ^а	Результат S/P ^с	Титр антител ^д
Вирус инфекционной бурсальной болезни (IBD)	0,007	-	0
Вирус ньюкаслской болезни (NDV)	0,005	-	0
Реовирус птиц (REO)	0,012	-	0
Вирус инфекционного бронхита (IBV)	0,082	-	0
Вирус инфекционного энцефаломиелита (AE)	0,017	-	0
Вирус лимфоидного лейкоза (LL)	0,012	-	0
Вирус герпеса индеек (HVT)	0,044	-	0
<i>Mycoplasma synoviae</i> (Ms)	0,018	-	0
<i>Mycoplasma gallisepticum</i> (Mg)	0,008	-	0
Нормальная контрольная сыворотка (NCS)	0,002	-	0
Вирус инфекционного ларинготрахеита (ИЛТ)	0,975	+	5129

^а Средние арифметические значения S/P (n=30, 6 повторных тестов на 5 планшетах)

^б S/P = ОП образца – средн. значение ОП отриц. контроля / средн. значение ОП полож. контроля

^с Пороговые диапазоны S/P ProFLOK® LT ELISA: 0,150 и ниже – отрицательный, выше 0,150 – положительный результат

^д Log₁₀ титр = (1,450 x Log₁₀ S/P) + 3,726

2. Чувствительность

В табл. 2 продемонстрировано, что набор ProFLOK® LT ELISA обладает более высокой чувствительностью, в сравнении с общепринятой реакцией нейтрализации вируса (VN). Повышенная чувствительность теста ProFLOK® LT ELISA обеспечивает более надежный контроль над распространением ИЛТ.

Таблица 2. Чувствительность

Сравнительные результаты исследования проб сыворотки крови цыплят-бройлеров в ИФА с помощью ProFLOK® LT ELISA и в общепринятой реакции нейтрализации вируса (VN) (исследования проведены в коммерческих лабораториях)

Log ₂	Разведение сыворотки	Средние значения S/P ^а	Титр антител ^{а,б}	Титр антител в VN (n=3)			Ср. арифмет.значен. ^д
				1	2	3	
0	цельная	2,36±0,01	18 485	256	128	128	171
-1	1:2	1,67±0,01	11 205	128	32	128	96
-2	1:4	1,18±0,01	6793	16	16	16	16
-3	1:8	0,782±0,01	3801	8	8	8	8
-4	1:16	0,512±0,00	2019	0	0	0	0
-5	1:32	0,287±0,00	872	0	0	0	0
-6	1:64	0,147±0,00	0	0	0	0	0
-7	1:128	0,00±0,00	0	0	0	0	0

^а Среднее арифметическое значение ± стандартное отклонение S/P (n=6)

^б Log₁₀ титр = (1,450 x Log₁₀ S/P) + 3,726

^д Среднее арифметическое значение 3 повторных исследований образцов

3. Воспроизводимость

Данные, представленные в табл. 3, показывают высокую воспроизводимость результатов ИФА при исследовании одной пробы сыворотки крови в 15 повторных тестах на 6 планшетах набора ProFLOK® LT ELISA. Все наборы серии ProFLOK® ELISA оптимизированы таким образом, чтобы в течение длительного времени получать сопоставимые и воспроизводимые результаты.

Таблица 3. Воспроизводимость

Средняя оптическая плотность (OD) и коэффициенты вариации (CV%), полученные при исследовании одной сыворотки крови в 15 повторных тестах на 6 планшетах набора ProFLOK® LT ELISA

№ планшки	Сыворотка с высоким уровнем антител к вирусу ИЛТ		Сыворотка со средним высоким уровнем антител к вирусу ИЛТ		Сыворотка с низким уровнем антител к вирусу ИЛТ	
	OD ^а	CV(%)	OD ^а	CV(%)	OD ^а	CV(%)
1	1,298	5,25	0,679	5,74	0,304	5,49
2	1,273	5,39	0,662	6,71	0,295	6,84
3	1,298	3,25	0,661	4,97	0,306	9,52
4	1,299	2,99	0,674	3,71	0,306	3,85
5	1,222	3,48	0,638	3,84	0,288	4,87
6	1,348	4,20	0,709	5,38	0,319	4,90
Средние арифметические значения ^б	1,290	4,09	0,671	5,06	0,303	5,91

^а Средние арифметические значения (n=15)

^б Средние арифметические значения (n=90, 15 повторностей на 6 планшетах)

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Оцените результаты теста ProFLOK® LT ELISA по следующим параметрам:

1. Однородность – по значению коэффициента вариации (CV%). Чем ниже значение CV% в стаде, тем выше однородность поствакцинальных титров антител. Следует стремиться к максимальной однородности титров антител к вирусу ИЛТ у цыплят в возрасте 1–3 дня, до начала вакцинации и после нее (т.е. CV должен быть менее 50%).

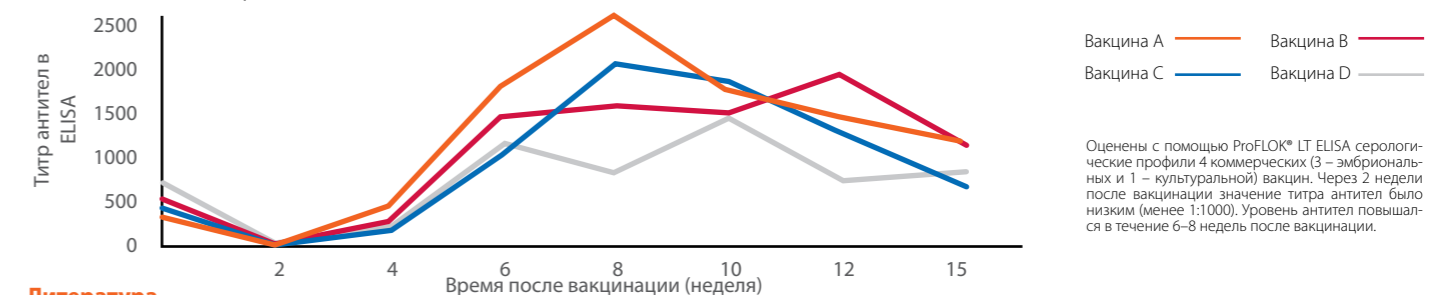
2. Значения титра антител

Пороговое значение S/P: каждый набор серии ProFLOK® ELISA имеет пороговое значение отношения оптической плотности исследуемого образца сыворотки к среднему значению оптической плотности положительного контроля (S/P), которое четко разделяет пробы сыворотки крови на положительные и отрицательные. Пороговое значение S/P для ProFLOK® LT ELISA следующее:

Диапазон S/P	Диапазон титра антител
0,150 или менее	0
0,151 и более	343 и более

Оценка титра: сравните средние титры антител, определенные в ИФА до и после вакцинации, геометрические средние титры и значения коэффициента вариации (%CV). После вакцинации средний титр антител должен быть в пределах 1:1200–1:1700, а средний геометрический титр – 1:600–1:800 (см. рис.1).

Примечание: значения титров антител после вакцинации зависят от разных факторов, таких как используемый вакцинный штамм вируса ИЛТ, способ введения вакцины, возраст птиц и т.д. Целью любой программы вакцинации является получение максимально однородных положительных значений титров антител (т.е. CV должен быть 50% или менее).



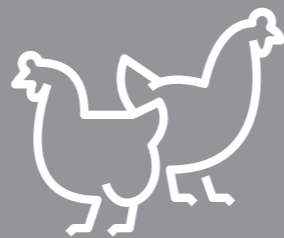
Вакцина А — Вакцина В —
Вакцина С — Вакцина D —

Оценены с помощью ProFLOK® LT ELISA серологические профили 4 коммерческих (3 – эмбриональных и 1 – культуральной) вакцин. Через 2 недели после вакцинации значение титра антител было низким (менее 1:1000). Уровень антител повышался в течение 6–8 недель после вакцинации.

Литература

1. Hanson L.E. Laryngotracheitis. In: Diseases of Poultry, 8th ed. M.S. Hofstad et al eds. Iowa State University, Ames, IA. pp. 444-451. 1988.
2. Whiteman C.E. and Bickford A.A. Infectious laryngotracheitis. In: Avian Diseases Manual H.J. Barnes et al eds. Colorado State University Co. pp. 34-36. 1979.
3. Blankford M. and Davison S. The Efficacy of Four Commercially Available Laryngotracheitis Vaccines Evaluated by ELISA, VN, and Challenge.

НАБОРЫ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ БОЛЕЗНЕЙ КУР ИММУНОФЕРМЕНТНЫМ МЕТОДОМ



НАБОРЫ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ БОЛЕЗНЕЙ КУР ИММУНОФЕРМЕНТНЫМ МЕТОДОМ



ProFLOK® AE ELISA (Профлок® AE)

тест-набор для выявления антител против вируса инфекционного энцефаломиелита у птиц

Набор ProFLOK® AE ELISA – специфический экспресс-тест на основе твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA), предназначенный для обнаружения антител к вирусу инфекционного энцефаломиелита (AE) в сыворотке крови кур. Набор лицензирован Министерством сельского хозяйства США (USDA).

Инфекционный энцефаломиелит – остро протекающая вирусная болезнь, характеризующаяся поражением нервной системы (атаксия, дрожание мышц головы и шеи, парезы и параличи конечностей). У цыплят сопровождается высокой заболеваемостью и летальностью, у взрослых кур – снижением яйценоскости. Распространяется вертикально через яйцо и горизонтально при прямом и опосредованном контакте больных и здоровых птиц^{1,2}.

ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

Предлагаемое применение набора ProFLOK® AE ELISA:

- 1. Контроль уровня материнских антител:** отберите и исследуйте в ProFLOK® AE ELISA 20–25 проб сыворотки крови цыплят в возрасте 1–3 дня.
- 2. Оценка эффективности вакцинации против AE:** случайным методом отберите и исследуйте в ELISA 30 или более проб сыворотки крови от группы птиц непосредственно перед введением вакцины против AE (до вакцинации) и через 6 недель после вакцинации.

Антиген

В лунках полистироловых планшетов сорбирован антиген штамма «Van Roeko» вируса AE.

ХАРАКТЕРИСТИКИ ТЕСТА

Набор ProFLOK® AE ELISA был протестирован по следующим показателям: **специфичность и чувствительность**

1. Специфичность

Результаты, представленные в табл. 1, показывают, что набор ProFLOK® AE ELISA обладает высокой специфичностью, поскольку взаимодействует только с гомологичной сывороткой при отсутствии ложноположительных результатов при исследовании нормальной контрольной сыворотки и эталонных сывороток, содержащих антитела к ряду других возбудителей инфекционных болезней птиц. Набор ProFLOK® AE ELISA, подобно всем наборам ProFLOK® ELISA, обладает высокой специфичностью и обеспечивает получение сопоставимых и воспроизводимых результатов.

Таблица 1. Специфичность

Средние значения отношения оптических плотностей образец/положительный контроль (S/P), диапазоны S/P и значения титров антител для серии специфических сывороток, исследованных с помощью теста ProFLOK® AE ELISA

Эталонная сыворотка	Средние значения S/P ^а	Результат S/P ProFLOK® AE ELISA ^с	Титр антител в ProFLOK® AE ELISA ^б
Вирус оспы птиц (POX)	0,000	-	0
Реовирус птиц (REO)	0,008	-	0
Вирус ретикулоэндотелиоза птиц (REV)	0,008	-	0
Вирус инфекционной бурсальной болезни (IBD)	0,000	-	0
Вирус инфекционного ларинготрахеита (ILT)	0,000	-	0
Вирус лимфолейкоза	0,000	-	0
<i>Mycoplasma synoviae</i> (Ms)	0,006	-	0
<i>Mycoplasma gallisepticum</i> (Mg)	0,002	-	0
Нормальная контрольная сыворотка (NCS)	0,002	-	0
Вирус ньюкаслской болезни (NDV)	0,000	-	0
Аденовирус птиц тип-1 (AD-CELO)	0,002	-	0
Вирус инфекционной анемии цыплят (CAV)	0,000	-	0
Вирус герпеса индеек (HVT)	0,000	-	0
Вирус инфекционного бронхита – ARK (IBV)	0,000	-	0
Вирус инфекционного бронхита – CONN (IBV)	0,056	-	0
Вирус инфекционного бронхита – MASS (IBV)	0,000	-	0
Вирус энцефаломиелита птиц (AE)	0,648	+	5901

^а Средние значения S/P (n=15, 3 повторных теста на 5 планшетах)

^б ОП образца – средн. значение ОП отриц. контроля /P= средн. значение ОП полож. контроля – средн. значение ОП отриц. контроля

^с Пороговые диапазоны S/P для набора ProFLOK® AE ELISA: 0,300 и ниже – отрицательный, выше 0,300 – положительный

^д Log₁₀ титр = (0,717 x Log₁₀ S/P) + 3,906

2. Чувствительность

Данные, приведенные в табл. 2, показывают чувствительность набора ProFLOK® AE ELISA, в сравнении с реакцией диффузионной преципитации (AGP, РДП).

Кроме этого, постановка и учет результатов ИФА осуществляется в течение 3 часов, в то время, как для РДП необходимо более 24 часов.

Таблица 2. Чувствительность

Определение чувствительности набора ProFLOK® AE ELISA, в сравнении с РДП (исследования проведены в коммерческой лаборатории) при исследовании разведенных образцов специфической сыворотки крови

Разведение сыворотки	Средние значения S/P ^{1,2}	Титр антител в ProFLOK® AE ELISA ³	Результаты AGP ⁴
1:2	1,380	10 146	отрицательно
1:4	1,240	9397	+
1:8	1,110	8680	++
1:16	0,990	7996	+++
1:32	0,774	6702	++
1:34	0,554	5275	++
1:128	0,310	3478	+

¹ Средние арифметические значения S/P (n=6)

² Пороговые диапазоны S/P для набора ProFLOK® AE ELISA: 0,300 и ниже – отрицательный, выше 0,300 – положительный

³ Log₁₀ титр = (0,717 x Log₁₀ S/P) + 3,906

⁴ Оценка результатов AGP: от слабо выраженной преципитации (+) до четко выраженной преципитации (+++)

На рис. 1 показан типовой профиль антител, определенных с помощью набора ProFLOK® AE ELISA при традиционной схеме вакцинации племенного поголовья против инфекционного энцефаломиелита. Все наборы серии ProFLOK® ELISA оптимизированы таким образом, чтобы получать сопоставимые и воспроизводимые результаты.

Динамика антительного ответа племенного поголовья птиц, привитых против энцефаломиелита, определенная по результатам ИФА теста



Рис. 1. Средний титр антител, определенный в ProFLOK® AE ELISA при обследовании 125 птицеводческих хозяйств, проводящих профилактику инфекционного энцефаломиелита.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Оцените результаты теста ProFLOK® AE ELISA по следующим параметрам:

1. Однородность – по значению коэффициента вариации (CV%)

- Чем ниже значение CV% в популяции, тем выше однородность поствакцинальных титров антител.
- Следует стремиться к максимальной однородности титров антител к вирусу энцефаломиелита у цыплят в возрасте 1–3 дней, до начала вакцинации и после нее (т.е. CV должен быть менее 50%).

2. Значения титра антител

Пороговое значение S/P: каждый набор серии ProFLOK® ELISA имеет пороговое значение отношения оптической плотности исследуемого образца сыворотки к среднему значению оптической плотности положительного контроля (S/P), которое четко разделяет пробы сыворотки крови на положительные и отрицательные. Пороговое значение S/P для ProFLOK® AE ELISA следующее:

Диапазон S/P	Диапазон титра антител
0,300 или менее	0
0,301 и выше	3397 и более

Оценка титра: сравните средние и средние геометрические титры антител, определенные в ИФА, до и после вакцинации. Диапазоны титров зависят от возраста птиц и оцениваются согласно ниже приведенной таблицы*.

Возраст птиц	Ниже среднего	Средний диапазон	Выше среднего
1–6 дней	< 1000	1000–3500	> 3500
3–10 недель	< 500	500–3000	> 3000
10–20 недель	< 2000	2000–6000	> 6000
20–40 недель	< 4000	4000–6400	> 6400
> 40 недель	< 4000	4000–7000	> 7000

* Информация получена при групповых серологических обследованиях птицепоголовья в ходе проведения лабораторных и полевых испытаний.

Литература

1. Calnek B., Luginbuhl R.E. and Helmboldt C.E. Avian encephalomyelitis. In: Diseases of Poultry. 9th ed. B.W. Calnek et al eds. Iowa University Press, Ames, IA. pp.520-531. 1991.
2. Van der Heide L. Encephalomyelitis. In: A Laboratory Manual for the Isolation and Identification of Avian Pathogens. 3rd ed. AAAP. Kendall/Hunt Publishing Co.Dubuque, IA. pp. 149-151. 1989.

НАБОРЫ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ БОЛЕЗНЕЙ КУР ИММУНОФЕРМЕНТНЫМ МЕТОДОМ



ProFLOK® NDV PLUS ELISA (Профлок® NDV PLUS)

диагностический набор для выявления антител против вируса ньюкаслской болезни

Набор ProFLOK® NDV PLUS – специфический экспресс-тест на основе твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA), предназначенный для обнаружения антител к вирусу ньюкаслской болезни (NDV) в сыворотке крови кур. Набор лицензирован Министерством сельского хозяйства США (USDA).

Ньюкаслская болезнь (НБ) – высококонтагиозная широко распространенная вирусная болезнь птиц, характеризующаяся поражением органов дыхательного, пищеварительного трактов и центральной нервной системы. Формы проявления НБ зависят от степени патогенности штамма вируса, инфицирующего птицу. Так, высокопатогенные (велогенные, висцеротропные) штаммы вызывают массовое поражение поголовья в острой форме с признаками отеков тканей вокруг глаз, диареи и летальным исходом в течение 8 дней после заражения^{1,2}. Инфицирование птиц среднепатогенными (мезогенными) штаммами сопровождается поражением дыхательного тракта и снижением яйценоскости³. Низкопатогенные (лентогенные) штаммы вызывают бессимптомную или легкую респираторную форму болезни.

Набор ProFLOK® NDV PLUS ELISA разработан для оценки эффективности иммунизации птиц против НБ и серологического контроля над распространением возбудителя НБ в популяциях кур. Набор ProFLOK® NDV PLUS ELISA имеет следующие преимущества:

- обеспечивает получение достоверных и воспроизводимых результатов анализа;
- имеет длительный срок хранения – 24 месяца;
- дает возможность одномоментного исследования большого количества проб сыворотки крови (450 исследований/набор) по легко воспроизводимой методике;
- сопровождается мощной системой программного обеспечения для управления базой данных и превосходной технической поддержкой.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Набор ProFLOK® NDV PLUS ELISA был протестирован по следующим показателям: **специфичность и чувствительность**.

1. Специфичность

Результаты, представленные в табл. 1, свидетельствуют, что набор ProFLOK® NDV PLUS ELISA обладает высокой специфичностью, (т.е. отсутствие ложноположительных результатов) при исследовании референтных сывороток, содержащих антитела к ряду возбудителей других инфекционных болезней у птиц.

Набор ProFLOK® NDV PLUS ELISA, так же как и все наборы ProFLOK® ELISA, обладает высокой специфичностью и обеспечивает получение сопоставимых и воспроизводимых результатов.

Таблица 1. Специфичность

Средние значения отношения оптических плотностей образец/положительный контроль (S/P), диапазоны S/P и значения титров антител для сывороток, исследованных в ProFLOK® NDV PLUS ELISA

Эталонная сыворотка	Средние значения S/P ^a	Результат S/P ^c	Титр антител в ProFLOK® NDV+ ELISA ^d
Нормальная контрольная сыворотка (NCS)	0,001	-	0
Вирус инфекционного бурсита (IBD)	0,002	-	0
Реовирус птиц (REO)	0,000	-	0
Вирус ньюкаслской болезни (NDV)	1,420	+	9182
Вирус энцефаломиелита птиц (AE)	0,020	-	0
Вирус инфекционного бронхита – Mass (IBV)	0,000	-	0
Вирус инфекционного бронхита Ark (IBV)	0,010	-	0
Вирус инфекционного бронхита Con (IBV)	0,010	-	0
Вирус инфекционного бронхита JMK (IBV)	0,010	-	0
<i>Mycoplasma gallisepticum</i> (Mg)	0,000	-	0
<i>Mycoplasma synoviae</i> (Ms)	0,000	-	0
Вирус геморрагического энтерита (HEV)	0,000	-	0
Вирус анемии цыплят (CAV)	0,010	-	0

^a Средние арифметические значения S/P (n=15, 3 повторных теста на 5 планшетах)
^b ОП образца – средн. значение ОП отриц. контроля S/P= средн. значение ОП полож. контроля – средн. значение ОП отриц. контроля
^c Пороговые диапазоны S/P для набора ProFLOK® NDV PLUS ELISA: 0,150 и ниже – отрицательный, выше 0,150 – положительный
^d Log₁₀ титр = (1,464 x Log₁₀ S/P) + 3,740

2. Чувствительность

Данные, приведенные на рис. 1, показывают, что набор ProFLOK® NDV PLUS ELISA обладает более высокой чувствительностью, в сравнении с общепринятой реакцией торможения геагглютинации (HI, РТГА). Племенные цыплята мясного направления были привиты дважды против НБ по стандартной программе. Пробы сыворотки крови отбирали после второй вакцинации при достижении цыплятами возраста 5, 7, 8 и 10 недель.

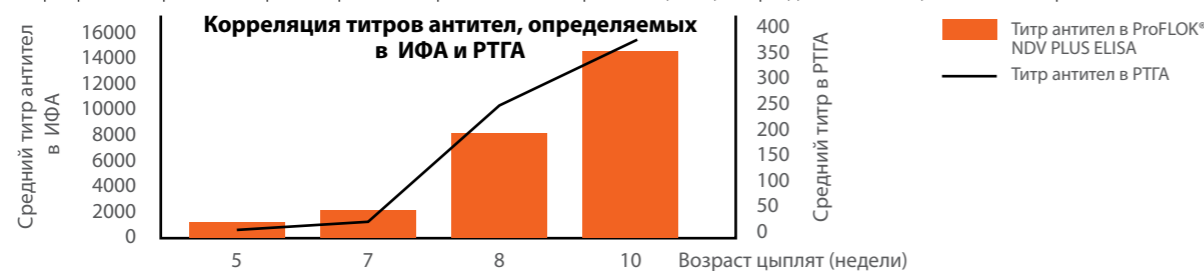
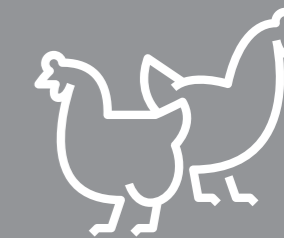


Рис. 1. Чувствительность. Сравнительные результаты исследования проб сыворотки крови в ProFLOK® NDV PLUS ELISA и в РТГА.

НАБОРЫ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ БОЛЕЗНЕЙ КУР ИММУНОФЕРМЕНТНЫМ МЕТОДОМ



На рис. 2 показан типовой профиль антител, определенных с помощью набора ProFLOK® NDV PLUS ELISA при традиционной схеме вакцинации родительского поголовья против НБ. Все наборы серии ProFLOK® ELISA оптимизированы таким образом, чтобы получать сопоставимые и воспроизводимые результаты.

Динамика антительного ответа родительского поголовья птиц, привитых против НБ, определенная по результатам ИФА



Рис. 2. Средний титр антител, определенный в ProFLOK® NDV PLUS ELISA при обследовании 350 птицевладельцев, проводящих традиционную программу профилактики ньюкаслской болезни.

ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

1. Оценка эффективности вакцинации против НБ:

- случайным методом отберите и исследуйте в ИФА 30 или более проб сыворотки крови от группы птиц непосредственно перед введением вакцины против НБ (до вакцинации) и через 4–6 недель после иммунизации.

2. Оценка эпизоотической ситуации по NDV:

- отберите и проведите исследование в ИФА 30 или более проб сыворотки крови от каждой группы птиц, особенно племенного поголовья. Процедуру проводите регулярно – каждые 4–6 недель.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Оцените результаты теста ProFLOK® NDV PLUS ELISA по следующим параметрам:

1. Однородность – по значению коэффициента вариации (CV%).

- Чем ниже значение CV% в популяции, тем выше однородность поствакцинальных титров антител.
- Следует стремиться к максимальной однородности титров антител к вирусу НБ у цыплят в возрасте 1–3 дней, до начала вакцинации и после нее (т.е. CV должен быть менее 45%).

2. Значения титра антител

Пороговое значение S/P: каждый набор серии ProFLOK® ELISA имеет пороговое значение отношения оптической плотности исследуемого образца сыворотки к среднему значению оптической плотности положительного контроля (S/P), которое четко разделяет пробы сыворотки крови на положительные и отрицательные. Пороговое значение S/P для ProFLOK® NDV PLUS ELISA следующее:

Диапазон S/P	Диапазон титра антител
0,150 или менее	0
0,151 и выше	345 и более

Оценка эффективности вакцинации: сравните средние титры антител, определенные в ELISA до и после вакцинации, геометрические средние титры и значения коэффициента вариации (%CV). **Средний геометрический титр у цыплят после вакцинации, равный 1800, считается «защитным».**

Примечание: значения титров антител после вакцинации зависят от разных факторов, таких как используемый вакцинный штамм NDV, способ введения вакцины, возраст птиц и т.д. Целью любой программы вакцинации является получение максимально однородных положительных значений титров антител (т.е. CV должен быть 45% или менее).

Оценка эпизоотической ситуации по IBV: рассмотрите профиль антител, определенных с помощью набора ProFLOK® NDV PLUS ELISA у цыплят и установите корреляцию уровня титров антител с программой вакцинации, данными хозяйственной деятельности (прирост массы тела, конверсия корма, смертность и т.д.) и наличием или отсутствием фактических признаков проявления ньюкаслской болезни.

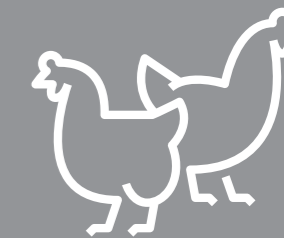
Литература

1. Spalatin J., Hanson R.P. and Joes T.D. Edema of the eyelid and face of chickens exposed to viscerotropic type Newcastle virus. Avian Diseases: 17:623-628. 1973.
2. Utterback W.W. and Schwartz J.H. Epizootiology and velogenic viscerotropic Newcastle disease in Southern California, 1971-73. Am. Vet. Med. Assoc. 163:1080. 1973.
3. Hanson R.P. Newcastle disease. In Diseases of Poultry, 7th edition. Edited by M.S. Hofstad, et. al. Ames, Iowa State University Press, 1978.

НАБОРЫ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ БОЛЕЗНЕЙ КУР ИММУНОФЕРМЕНТНЫМ МЕТОДОМ



НАБОРЫ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ БОЛЕЗНЕЙ КУР ИММУНОФЕРМЕНТНЫМ МЕТОДОМ



ProFLOK® MG ELISA (Профлок® MG)

диагностический набор для выявления антител против микоплазмоза у кур, вызываемого *Mycoplasma gallisepticum*

Набор ProFLOK® MG ELISA – скрининговый высокоспецифический экспресс-тест на основе твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA), предназначенный для обнаружения антител к *Mycoplasma gallisepticum* (Mg) в сыворотке крови кур. Набор одобрен Американской национальной программой оздоровления птицеводческих хозяйств от наиболее значимых болезней (NPIP) и лицензирован Министерством сельского хозяйства США (USDA).

Микоплазмоз птиц, вызываемый Mg, характеризуется медленно развивающимися клиническими признаками в виде хрипов, кашля, выделений из носа, азросаккулитов, которые являются основной причиной вынужденной выбраковки и убоя цыплят¹.

Набор ProFLOK® MG ELISA имеет следующие преимущества:

- обеспечивает получение достоверных и воспроизводимых результатов анализа;
- одобрен NPIP и лицензирован USDA;
- имеет длительный срок хранения –24 месяца;
- дает возможность одномоментного исследования большого количества проб сыворотки крови (900 исследований/набор) по легко воспроизводимой методике;
- сопровождается мощной системой программного обеспечения для управления базой данных и превосходной технической поддержкой.

ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

Набор ProFLOK® MG ELISA разработан для мониторинга эпизоотической ситуации по респираторному микоплазмозу в птицеводческих хозяйствах. Исследованию подлежат 30 или более проб сыворотки крови от группы птиц, отобранных методом случайной выборки с периодичностью каждые 4 недели.

Антиген

В лунках полистироловых планшетов сорбирован антиген штамма «R» *Mycoplasma gallisepticum*.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Набор ProFLOK® MG ELISA был протестирован по следующим показателям: **специфичность, чувствительность и воспроизводимость.**

1. Специфичность

Результаты, представленные в табл. 1, свидетельствуют о высокой специфичности набора ProFLOK® MG ELISA, поскольку он взаимодействует только с гомологичной сывороткой при отсутствии положительных результатов при исследовании нормальной (контрольной) сыворотки, эталонных сывороток, содержащих антитела к ряду возбудителей других инфекционных болезней птиц, включая болезни, вызванные *M. synoviae*, *S. aureus*, а также сыворотки, содержащей антитела к коммерческой инактивированной вакцине. При исследовании аналогичных антителосодержащих материалов с наборами MG ELISA других изготовителей были получены ошибочные положительные результаты.

Набор ProFLOK® MG ELISA, так же как и все наборы ProFLOK® ELISA, обладает высокой специфичностью и обеспечивает получение сопоставимых и воспроизводимых результатов.

Таблица 1. Специфичность

Средние значения отношения оптических плотностей образец/положительный контроль (S/P), диапазоны S/P и значения титров антител для сывороток, исследованных в ProFLOK® MG ELISA

Эталонная сыворотка	Средние значения S/P ^{AB}	Результат S/P ^C	Титр антител в ProFLOK® MG ELISA ^D
Вирус инфекционной бурсальной болезни (IBD)	0,011	-	0
Вирус ньюкаслской болезни (NDV)	0,012	-	0
Реовирус птиц (REO)	0,012	-	0
Вирус инфекционного бронхита (IBV)	0,006	-	0
Вирус инфекционного ларинготрахеита (ILT)	0,101	-	0
Вирус инфекционного энцефаломиелита (AE)	0,070	-	0
<i>Pasteurella multocida</i> (PM)	0,012	-	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,055	-	0
<i>Mycoplasma meleagridis</i> (Mm)	0,016	-	0
<i>Mycoplasma synoviae</i> (Ms); титр в РТГА 1:40	0,000	-	0
<i>Mycoplasma synoviae</i> (Ms); титр в РТГА 1:160	0,059	-	0
<i>Mycoplasma gallisepticum</i> (Mg); титр в РТГА 1:40	1,088	+	1781
<i>Mycoplasma gallisepticum</i> (Mg); титр в РТГА 1:160	1,565	+	3032
Нормальная контрольная сыворотка (NCS)	0,000	-	0
Среда для культивирования микоплазм	0,017	-	0
Коммерческая инактивированная вакцина	0,033	-	0

2. Чувствительность

Данные, приведенные в табл. 2, показывают, что набор ProFLOK® MG ELISA обладает более высокой чувствительностью, в сравнении с реакцией торможения гемагглютинации (HI, РТГА), которую используют в коммерческих лабораториях. Повышенная чувствительность теста ProFLOK® MG ELISA обеспечивает более надежный контроль над распространением Mg.

Таблица 3. Чувствительность

Определение чувствительности набора ProFLOK® MG ELISA при исследовании разведенных образцов специфической сыворотки, средние значения отношения оптических плотностей образец/положительный контроль (S/P), диапазоны S/P, значения титров антител, определенных в ProFLOK® MG ELISA и РТГА (исследования проведены в двух коммерческих лабораториях).

Log ₂	Разведение сыворотки	Средние значения S/P ProFLOK® MG ^A	Результат S/P ProFLOK® MG ^{AB}	Титр антител в ProFLOK® MG ^{AD}	Средний титр антител в РТГА	
					Лаборатория А ^C	Лаборатория В ^C
-1	1:2	3,371	+	9325	186,7	146,7
-2	1:4	3,005	+	7881	66,7	80,0
-3	1:8	2,218	+	5052	66,7	60,0
-4	1:16	1,600	+	3132	53,3	40,0
-5	1:32	1,000	+	1574	26,7	33,3
-6	1:64	0,560	?	674	20,0	20,0
-7	1:128	0,320	?	297	13,3	13,3

^A Средние арифметические значения S/P (n=6)

^B Пороговые диапазоны S/P для набора ProFLOK® MG ELISA: 0,199 и ниже – отрицательный, 0,2–0,599 – сомнительный, выше 0,6 – положительный

^C Средние арифметические значения (n=3)

^D Log₁₀ титр = (1,464 x Log₁₀ S/P) + 3,197

3. Воспроизводимость

Данные, представленные в табл. 3, показывают высокую воспроизводимость результатов ELISA при исследовании одной пробы сыворотки крови в 84 повторных тестах на 10 планшетах набора ProFLOK® MG ELISA. Все наборы серии ProFLOK® ELISA оптимизированы таким образом, чтобы в течение длительного времени получать сопоставимые и воспроизводимые результаты.

Таблица 3. Воспроизводимость

Средняя оптическая плотность и коэффициент вариации (CV%), полученные при исследовании одной сыворотки крови в 84 повторных тестах на 10 планшетах набора ProFLOK® MG ELISA

№ планшета ProFLOK® MG ELISA	Средняя оптическая плотность ^A	CV(%)	Среднее значение CV(%) ^B
1	0,642 ± 0,007	7,49	5,88
2	0,687 ± 0,033	4,81	
3	0,575 ± 0,040	6,95	
4	0,605 ± 0,005	8,73	
5	0,590 ± 0,005	6,05	
6	0,686 ± 0,005	4,44	
7	0,703 ± 0,006	5,28	
8	0,617 ± 0,005	4,75	
9	0,634 ± 0,005	4,58	
10	0,621 ± 0,006	5,68	

^A Среднее арифметическое значение ± стандартное отклонение, полученное при исследовании в 84 повторных тестах на одном планшете одной положительной к Mg сыворотки крови цыпленка.
^B Среднее значение % коэффициента вариации (CV%), полученное при исследовании на каждом из 10 планшетов в 84 повторных тестах одной положительной к Mg сыворотки крови цыпленка.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

При интерпретации результатов необходимо помнить, что ProFLOK® MG ELISA предназначен только для группового серологического обследования поголовья, а не для индивидуальных анализов (менее 10 проб сыворотки крови).

Результаты исследований сыворотки крови в ProFLOK® MG ELISA оцениваются следующим образом:

Диапазон S/P	Диапазон титров антител	Статус сыворотки
0,199 или ниже	0	отрицательная(-) ^a
0,200–0,599	149–743	сомнительная(?) ^{b,c}
0,600 и выше	744 и выше	положительная (+) ^c

а. Поголовье, не инфицированное Mg

Образцы сыворотки крови с S/P-отношением менее 0,200 считаются отрицательными. Однако существует ряд факторов, приводящих к появлению ложноотрицательных результатов в ИФА. Например, циркуляция в стаде штаммов Mg, обладающих атипичными биологическими и/или антигенными свойствами^{1,2} и широта их распространения, регулярность и правильность отбора проб сыворотки крови.

Поэтому поголовье считается не инфицированным Mg только при его систематическом серологическом обследовании и многократном получении отрицательных результатов исследования в ИФА, SPA (реакции агглютинации в чашке) и HI (реакции торможения гемагглютинации), а также при отсутствии выделения Mg на питательных средах.

б. Поголовье, сомнительное по инфицированию Mg

При S/P-отношении 0,200–0,599 (уровень антител 1:149–1:743) сыворотки считаются сомнительными. При исследовании их в SPA и HI результаты также получаются неоднозначные. В этом случае необходимо проводить многократные повторные исследования сыворотки крови, а также подтвердить или исключить циркуляцию Mg путем выделения чистой культуры.

с. Поголовье, инфицированное Mg

Поголовье признается инфицированным Mg только при его систематическом серологическом обследовании и многократном получении положительных результатов исследования в ELISA, SPA и HI, а также при положительных результатах выделения Mg на питательных средах².

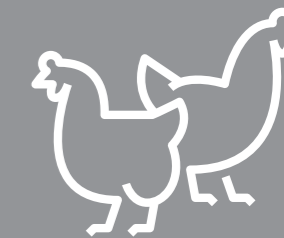
Литература

1. Yoder H.W. Jr., Mycoplasma gallisepticum Infection. In: Diseases of Poultry. 8th ed. M.S. Hofstad et al eds. Iowa State University, Ames, IA. pp. 190-202. 1988.
2. Avakian A.P., Kleven S.H. and Glisson J.R. Evaluation of the specificity and sensitivity of two commercial enzymelinked immunosorbent assay kits, the serum plate agglutination test, and the hemagglutination-inhibition test for antibodies formed in response to Mycoplasma gallisepticum. Avian Diseases 32: 262-272. 1988.

НАБОРЫ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ БОЛЕЗНЕЙ КУР ИММУНОФЕРМЕНТНЫМ МЕТОДОМ



НАБОРЫ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ БОЛЕЗНЕЙ КУР ИММУНОФЕРМЕНТНЫМ МЕТОДОМ



ProFLOK® ALV PLUS Ag ELISA (Профлок® ALV PLUS)

диагностический набор для выявления антигена вируса лейкоза у птиц

Набор ProFLOK® ALV PLUS Ag представляет собой специфичный и чувствительный экспресс-метод для обнаружения антигена p27 в образцах сыворотки крови и белка яиц.

Лимфоидный лейкоз вирусной природы представляет собой коварное и экономически значимое заболевание кур. Вирус лейкоза передается вертикально от курицы цыпленку через яйцо и горизонтально от птицы птице при прямом или непрямом контакте. Набор ProFLOK® для определения антигена вируса лейкоза методом ИФА обеспечивает быстрое и точное обнаружение инфекции ALV у кур и имеет следующие особенности:

1. Специфичность

Результаты, приведенные в табл. 1, представленной ниже, показывают, что набор ProFLOK® для определения антигена вируса лейкоза методом ИФА демонстрирует отличную специфичность к пробам, содержащим антиген ALV, но значимо не реагирует с антигенами других возбудителей инфекций. Набор ProFLOK® для обнаружения антигена вируса лейкоза методом ИФА, подобно всем наборам ProFLOK® ELISA, обладает высокой специфичностью для обеспечения достоверных, воспроизводимых результатов теста.

Таблица 1. Специфичность

Средние значения отношения образец/положительный контроль (SP) для ряда образцов для определения специфичности к антигену, проанализированных с помощью теста ProFLOK® для определения антигена ALV методом ИФА

Антиген	Средние значения отношения SP ^{A,B}	Результат SP ProFLOK® ALV-J ELISA ^C
<i>Mycoplasma gallisepticum</i> (Mg)	0,000	-
<i>Mycoplasma synoviae</i> (Ms)	0,000	-
Вирус инфекционной бурсальной болезни (IBD)	0,002	-
Вирус ньюкаслской болезни (NDV)	0,004	-
Парамиксовирус (Yucapira) (PMV-2)	0,004	-
Вирус инфекционного бронхита (IBV)	0,000	-
Вирус инфекционного ларинготрахеита (ILT)	0,000	-
Вирус птичьего гриппа (AIV)	0,000	-
Вирус птичьего энцефаломиелита (AE)	0,002	-
Птичий реовирус (ARV)	0,012	-
Птичий аденовирус типа -1 (AD-CELO)	0,000	-
Птичий вирус оспы (APV)	0,000	-
Вирус болезни Марекка (MDV)	0,006	-
Вирус ретикулоэндотелиоза (REV)	0,000	-
Вирус саркомы Рауса А (RAV-A)	1,420	+
Вирус саркомы Рауса В (RAV-B)	1,158	+

^A Значения представляют собой среднее арифметическое 15 повторных образцов (3 повторных теста/ 5 планшетов ELISA).
^B Отношение SP образцов = оптическая плотность (ОП) образца – ср. ОП нормального контроля ср. ОП положительного контроля – ср. ОП нормального контроля.
^C Пороговые диапазоны SP ProFLOK® ALV ELISA: отрицательно (-) = ≤ 0,199. Положительно (+) = > 0,199.

2. Чувствительность

Данные, представленные в табл. 2, приведенной ниже, показывают, что набор ProFLOK® для определения антигена вируса лейкоза птиц методом ИФА может обнаруживать намного более низкие концентрации антигена p27 (около 1,2 нг/мл), чем общепринятый тест COFAL (4 нг/мл). Повышенная чувствительность набора ProFLOK® для определения антигена ALV методом ИФА, по сравнению с COFAL, обеспечивает возможность более эффективного обнаружения кур, инфицированных ALV.

Таблица 2. Чувствительность

Сравнение значения отношения ОП образец/положительный контроль (SP) при использовании набора ProFLOK® для определения антигена ALV методом ИФА, и COFAL* для серии образцов для определения чувствительности к ALV, проанализированных с помощью набора ProFLOK® для определения антигена ALV методом ELISA и общепринятого теста COFAL в промышленной лаборатории *COFAL = реакция связывания комплемента для вирусов лейкоза птиц

Log ₂	p27 конц.* (нг/мл)	Значения SP ProFLOK® ^{A,B}	Результат ИФА ProFLOK® ^{A,B}	Результаты теста COFAL ^C
0	32,0	1,807	+	+
-1	16,0	1,420	+	+
-2	8,0	0,980	+	+
-3	4,0	0,593	+	+
-4	2,0	0,340	+	-
-5	1,0	0,180	-	-
-6	0,5	0,103	-	-

^A Значения представляют собой среднее арифметическое 18 повторных тестов образцов (3 повторных теста/ 6 планшетов ELISA).
^B Пороговые диапазоны SP ProFLOK® для определения антигена ALV методом ELISA: отрицательно (-) = ≤ 0,199. Положительно (+) = > 0,199.
^C Значения представляют собой среднее арифметическое 3 повторных образцов.
^{*} На основании анализа концентрации белка по Лоури

Данные, представленные на рис. 1, показывают, что набор ProFLOK® для определения антигена вируса лейкоза птиц методом ИФА способен обнаруживать тот же уровень или более низкие концентрации антигена p27, что и тест-система блокирующего формата ELISA. Более высокая чувствительность набора ProFLOK® для определения антигена ALV методом ИФА позволяет более эффективно выявлять птиц, инфицированных ALV.

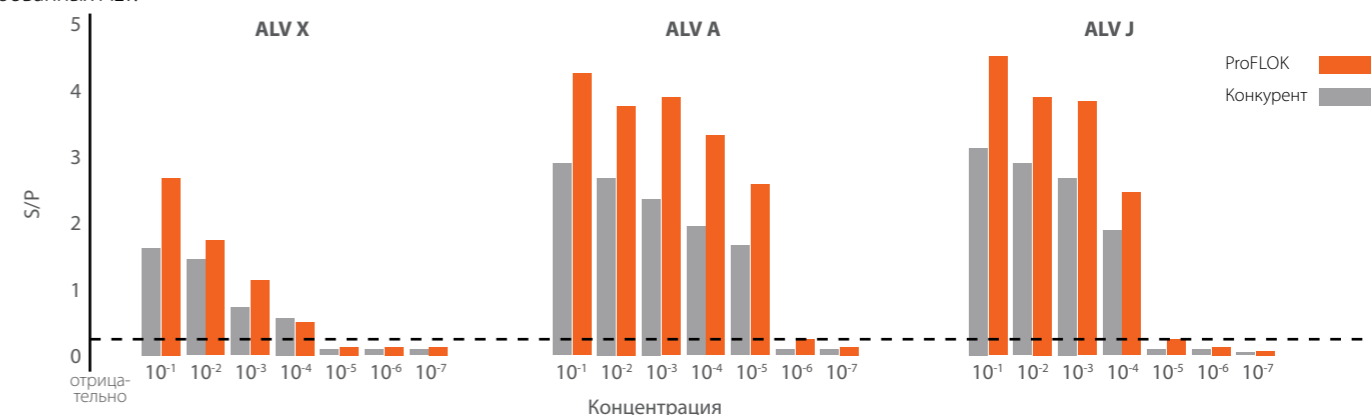


Рис. 1. Чувствительность и специфичность

Сравнение значения отношения образец/положительный контроль (SP) при использовании набора ProFLOK® для определения антигена ALV методом ИФА с таковыми показателями определения антигена ALV методом конкурентного ELISA. Образцы, показавшие положительный результат на ALV, разбавляют десятикратно и анализируют на двух системах ELISA. На графиках пунктирная красная линия представляет значение границы SP (значения ниже линии отрицательны).

3. Преимущества

Набор ProFLOK® для определения антигена ALV методом ИФА имеет следующие преимущества и особенности:

- достоверные устойчивые результаты;
- тест-система лицензирована Министерством сельского хозяйства США;
- стандартизированные реактивы для теста, которые обеспечивают отличную специфичность, чувствительность и воспроизводимость теста;
- возможность анализа больших объемов, легкий в использовании формат;
- длительный срок хранения. Все наборы ProFLOK® имеют срок хранения 24 месяца;
- достоверные, стабильные результаты;
- мощная система программного обеспечения для управления базой данных;
- отличная техническая поддержка с ориентацией на работу в полевых условиях.

ПРЕДЛАГАЕМОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ

Стандартный мониторинг. – Регулярно отбирайте 30 или более образцов сыворотки крови или белка яиц от поголовья птиц и проведите анализ (каждые 4 недели).

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Оцените результаты ALV ELISA по следующим параметрам:

значения титра:

порог SP: каждый набор ProFLOK® ELISA имеет пороговое значение образец/положительный контроль (SP), которое четко разделяет положительные образцы от отрицательных. Отрицательным является образец, который значимо не отличается от отрицательной контрольной сыворотки (NCS), которая не содержит антиген p27. Пороговое значение SP для ALV ELISA следующее:

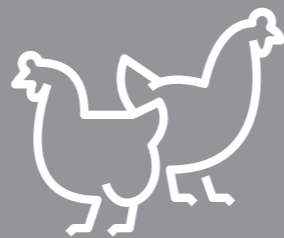
Диапазон SP	Диапазон титра
0,199 или менее	0
0,200 и более	1006 и более

Оценка титра: титры, полученные с помощью набора ProFLOK® для определения антигена ALV методом ИФА, могут использоваться для примерного перевода в концентрацию пикограмм на мл антигена p27 в образцах. Например, титр 1004, первый положительный титр, полученный по значению SP 0,199, эквивалентен 1000 пикограмм антигена p27 на мл по методу определения концентрации белка Лоури³. Значения SP менее 0,199 представляют образцы с незначительными уровнями антигена p27 и должны рассматриваться как отрицательные по антигену p27.

Литература

1. Коттрал Г.Е., Бурмистер Б.Р. и Уотерс Н.Ф. Передача птичьего лимфоматоза через яйца. Наука о домашней птице (Poultry Sci). 33 : 1174-84. 1954.
2. Фрадли А.М. Лейкоз и саркомы В: Изоляция и идентификация патогенов птиц. 3-е изд. Х.Г. Пурчейс, Л.Х. Арп, К.Х. Домермут и Дж. Е. Пирсон (ред.) Кендал Хант Паблшинг Ко., Дюбуки, Айова С35-142. 1990.
3. Лоури О.Х., Розебруг Н.Дж., Фарр А.Л., Рандалл Р.Дж. (1951) Измерение концентрации белка с помощью фенольного реактива Фолина. Журнал биологической химии (J. Biol. Chem.) 93, 265-275.

НАБОРЫ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ БОЛЕЗНЕЙ КУР ИММУНОФЕРМЕНТНЫМ МЕТОДОМ



НАБОРЫ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ БОЛЕЗНЕЙ КУР ИММУНОФЕРМЕНТНЫМ МЕТОДОМ



ProFLOK® ALV-J Ab ELISA (Профлок® ALV-J)

диагностический набор для выявления антител против вируса лейкоза, подгруппы J

Набор ProFLOK® для определения антител к вирусу птичьего лейкоза, подгруппы J (ALV-J) методом ИФА (ELISA) представляет собой специфичный и чувствительный экспресс-анализ для обнаружения антител к ALV-J в сыворотке кур.

Вирус птичьего лейкоза подгруппы J (ALV-J) является недавно обнаруженным представителем группы ретровирусов, вызывающих лейкоз и саркому у птиц¹. Вирус вызывает миелоцитарный миелоидный лейкоз (ML) и обладает большей тропностью к клеткам миелоидного, а не лимфоидного ростка². Оболочка вируса обладает уникальными свойствами и анализ последовательности нуклеотидов показал, что домен gp85 вируса подгруппы J примерно на 40% идентичен соответствующим областям других подгрупп ALV³.

Антиген планшета

Среди кодируемых белков ALV-J, белок gp85 оболочки вируса содержит мишени для нейтрализующих антител, а также участки, которые могут быть важны при взаимодействиях с рецептором хозяина. Белок gp85 используется при ИФА (ELISA) для обнаружения антител, специфичных к ALV-J.

ПРЕДПОЛАГАЕМОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ

Скрининг стад для контроля горизонтальной передачи вируса.

Мониторинг родительских стад: важно, чтобы родительское стадо было серонегативным при определении антител к ALV-J перед началом их племенного использования. Проведите анализ 30 или более отобранных случайным методом образцов сыворотки от каждого стада. Родительское стадо необходимо тестировать постоянно в весь период использования.

Проведены широкие испытания набора ProFLOK® ALV-J ELISA по следующим параметрам: **стабильность и эффективность.**

1. Стабильность

Наборы ProFLOK® ALV-J ELISA имеют срок хранения 24 месяца с даты производства. Срок годности каждого набора четко указан на этикетке коробки набора.

2. Эффективность

Результаты, представленные в табл. 1, приведенной ниже, показывают, что набор ProFLOK® ALV-J ELISA обнаруживает очень высокую специфичность (т.е. отсутствие ложноположительных реакций) к эталонным сывороткам для множества возбудителей инфекций домашней птицы и других подгрупп ALV. Набор ALV-J ELISA, подобно всем наборам ProFLOK® ELISA, обладает высокой специфичностью для обеспечения получения достоверных, воспроизводимых результатов теста.

Таблица 1. Специфичность

Средние значения отношения образец/положительный контроль (SP), диапазоны SP и значения титров для ряда сывороток для определения специфичности, исследованных с помощью теста ProFLOK® ALV-J ELISA.

Антиген	Средние значения отношения SP ^{АВ}	Результат SP ProFLOK® ALV-J ELISA ^С
Вирус оспы птиц (APV)	0,010	-
Птичий реовирус (REO)	0,000	-
Вирус ретикулоэндотелиоза (REV)	0,000	-
Вирус инфекционной бурсальной болезни (IBD)	0,000	-
Вирус инфекционного ларинготрахеита (ILT)	0,000	-
Лимфоидный лейкоз A (LLA)	0,000	-
Лимфоидный лейкоз B (LLB)	0,040	-
Вирус птичьего лейкоза A (ALV-A)	0,090	-
Вирус птичьего лейкоза B (ALV-B)	0,080	-
Вирус птичьего лейкоза C (ALV-C)	0,170	-
Вирус птичьего лейкоза D (ALV-D)	0,090	-
Вирус птичьего лейкоза E (ALV-E)	0,080	-
Вирус птичьего лейкоза J (ALV-J)	0,600	+

^А Значения представляют собой среднее арифметическое 15 повторных тестов образцов (3 повторения / 5 пластинок ELISA)

^В Отношение SP образцов = оптическая плотность (ОП) образца – ср. ОП нормального контроля / ср. ОП положительного контроля – ср. ОП нормального контроля

^С Пороговые диапазоны SP ProFLOK® ALV-J ELISA : отрицательно (-) ≤ 0,399. Положительно (+) > 0,399.

Проведено исследование с целью сравнить относительную чувствительность и специфичность ProFLOK® ALV-J ELISA с реакцией нейтрализации (VN). Образцы, специфичные к разным штаммам ALV-J, тестировали методом определения антител к ALV-J ProFLOK® ELISA и VN против штамма HC1. Набор ProFLOK® для выявления антител к ALV-J методом ИФА позволяет обнаружить более широкий спектр изолятов ALV-J при сохранении уровней чувствительности, эквивалентных таковым метода VN.



Рис. 2. Специфичность и чувствительность

Сравнение теста ProFLOK® ALV-J ELISA и реакции нейтрализации.

Двадцать образцов от 8 стад, имеющих клинические проявления лейкоза ALV-J, исследовали на антитела к вирусу ALV-J с использованием набора ProFLOK® и набора конкурента для иммуноферментного анализа методом ELISA. Все стада показали положительные результаты теста на антиген P27 при использовании образцов альбумина.

Таблица 3. Специфичность и чувствительность

Сравнение теста ProFLOK® ALV-J ELISA и набора ELISA конкурента. Процентное соответствие между результатом теста ProFLOK® и фактическим статусом стада равно 100%. Процентное соответствие между результатами теста конкурента и фактическим статусом стада равно 62%.

	Число стад	ИФА набор конкурентов	ProFLOK® ALV-J ELISA	Статус стада по лейкозу
	5	+	+	+
	3	-	+	+
Общее число стад	8	5	8	8

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Оцените результаты теста ProFLOK® ALV-J ELISA на основе следующих указаний:

1. Определите количество образцов, считающихся отрицательными или положительными, используя диапазоны в таблице, приведенной ниже.

Примечание: используйте Отчет по статистике исследования планшетов в программе ProFILE или Обобщающий отчет +/- для определения статуса образца

Антитела	Диапазон SP	Диапазон титра
Отрицательный (-)	Менее 0,400	0
Положительный (+)	0,400 и более	2360 и более

2. На основании следующих указаний, установите статус стада в отношении наличия антител к вирусу лейкоза. Заметьте, что ИФА представляет собой метод оценки стада, и стадо птиц не следует оценивать по индивидуальным образцам или по очень малому числу образцов (т.е. менее 10 образцов от стада).

Результаты оценки методом ИФА	Предполагаемый статус стада	Рекомендуемое действие
а. 10% или меньше птиц в стае показали положительный результат	Антител к ALV-J нет	Постоянный мониторинг (например, каждые 4-6 недель). Статус стада в отношении наличия ALV-J следует подтвердить дополнительными серологическими тестами и изоляцией вируса.
б. 10–15% птиц в поголовье показали положительный результат	Подозрение на антитела к ALV-J	Необходим тщательный контроль поголовья
в. 15% или более птиц в поголовье показали положительный результат	Стадо считается предположительно положительным на антитела к ALV-J	

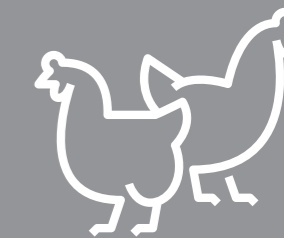
Литература

1. Пайне Л.Н., Браун С.Р., Бамшted Н., Ховес К., Фрацлер Дж.А. и Тоулес М.Е. (1991). Новая подгруппа вируса экзогенного птичьего лейкоза у куо, Журнал генетики и вирусологии (J. Gen. Virol), 72:801- 807.
2. Баи Дж.Л., Пайне Н. и Скиннер М.А. (1995). HPRS-103 (вирус экзогенного птичьего лейкоза, подгруппа J) имеет ген Env, связанный с эндогенными элементами EAV-0 и E51 и элементом E, выявленными ранее только у вируса саркомы. Журнал генетики и вирусологии (J. Gen. Virol.) 69:779-784.
3. Венугопал К., Ховес К., Барон Г.С. и Пайне Л.Н. (1997). Рекомбинантный env-gp85 вируса птичьего лейкоза HRP-103 (подгруппа J): Антигенные характеристики и польза в качестве диагностического реагента. Болезни птиц (Avian Dis.) 41:283-288.
4. Леймишхон К.М., Фадлей А., Ли Л., Джером, Аденикину Б. (1998). Развитие вируса птичьего лейкоза подгруппы J. ELISA для выявления специфичных антител. Материалы Четвертой Азиатско-Тихоокеанской конференции по здоровью домашней птицы, Австралийская ветеринарная ассоциация птицеводства, Мельбурн, Австралия, 22-26 ноября 1998 г.

НАБОРЫ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ БОЛЕЗНЕЙ КУР ИММУНОФЕРМЕНТНЫМ МЕТОДОМ



НАБОРЫ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ БОЛЕЗНЕЙ КУР ИММУНОФЕРМЕНТНЫМ МЕТОДОМ



ProFLOK® CAV PLUS ELISA (Профлок® CAV PLUS)

диагностический набор для выявления антител против вируса инфекционной анемии у цыплят (ИАЦ)

Набор ProFLOK®CAV ELISA –высокоспецифический экспресс-тест на основе твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA), предназначенный для обнаружения в сыворотке крови антител к вирусу инфекционной анемии у цыплят (CAV)

Вирус CAV принадлежит к недавно классифицированному семейству *Circoviridae*, для представителей которого характерно наличие кольцевой ДНК и отсутствие штаммовой вариабельности. У восприимчивых кур вирус вызывает анемию, иммуносупрессию, сопровождающуюся повышением восприимчивости к другим патогенным микроорганизмам, которые могут вызвать вирусные, бактериальные и грибковые инфекции. Инфицирование поголовья CAV сопровождается существенными экономическими потерями, высоким уровнем заболеваемости и смертности, а также слабым и неравномерным ростом цыплят.

ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

- 1. Серологический мониторинг племенного поголовья:** перед передачей цыплят на выращивание очень важно определить количество серопозитивных на CAV особей. Методом случайной выборки отбирают 30 или более проб сыворотки крови от цыплят в возрасте 8–14 недель и тестируют с помощью набора CAV ELISA. Необходимо также регулярно проверять племенные стада птиц для контроля однородности и уровня антител к CAV после вакцинации или после воздействия полевого вируса.
- 2. Серологический мониторинг бройлеров:** в партиях бройлеров различного возраста определяют уровень и однородность материнских антител к CAV. Отбирают и оценивают 30 проб сыворотки крови от партии.
- 3. Контроль эффективности иммунизаций против инфекционной анемии цыплят:** CAV ELISA может использоваться для оценки эффективности вакцинаций против CAV. Исследуют 30 проб сыворотки крови от партии непосредственно перед вакцинацией и через 4–6 недель после нее.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Набор ProFLOK®CAV ELISA был протестирован по следующим показателям: **специфичность, чувствительность и стабильность.**

1. Специфичность

Данные, представленные в табл. 1 и 2, показывают, что набор ProFLOK® CAV ELISA обладает высокой специфичностью и чувствительностью, в сравнении с реакцией непрямой флюоресценции (IFA) и реакцией нейтрализации (VN).

Набор ProFLOK® CAV ELISA был протестирован на различных образцах сыворотки крови и зарекомендовал себя высокоспецифичным тестом. Результаты, представленные в табл. 1 и 2, получены с помощью набора ProFLOK® CAV ELISA и тесно коррелируют с IFA и VN.

Таблица 1. Специфичность

Сравнительные результаты исследования 208 проб сыворотки крови с помощью ProFLOK® CAV ELISA и в реакции непрямой иммунофлюоресценции (IFA). Корреляция результатов IFA и ELISA составила 94,7%*. IFA выполнен компанией «SPAFAS, Inc.» (Storrs, CT)

Количество исследованных сывороток	Результаты IFA	Результаты реакции непрямой флюоресценции
113	+	+
84	-	-
11	+	-
2	-	-
Итого: 210		

*% согласования (113 + 84 / 208) x 100 = 94,7%

Сравнение ProFLOK® CAV ELISA и реакции нейтрализации (VN)

Таблица 2. Специфичность

Сравнительные результаты исследования 53 проб сыворотки крови с помощью ProFLOK® CAV ELISA и реакции нейтрализации (VN). Корреляция результатов VN и ELISA составила 98%*. VN выполнен компанией «Intervet America, Inc.» (Millsboro, DE)

Количество исследованных сывороток	Результаты IFA ^а	Результаты VN ^б
23	+	+
29	-	-
1	+	-
Итого: 53		

*% согласования (23 + 29 / 53) x 100 = 98,1%

Результаты CAV ELISA

^а ОП образца – средн. значение ОП отриц. контроля S/P = средн. значение ОП полож. контроля – средн. значение ОП отриц. контроля. Пороговые диапазоны S/P для набора ProFLOK® CAV ELISA: 0,349 и ниже – отрицательный, 0,350 – положительный.

Результаты VN

^б Индекс нейтрализации ниже 4 – результат отрицательный, 4 и выше – результат положительный.

2. Чувствительность

Набор ProFLOK® CAV ELISA также был протестирован по чувствительности. Как показано на рис. 1, с его помощью удавалось определять антитела к CAV спустя неделю после воздействия полевого вируса.



Рис. 1. Чувствительность

Пробы сыворотки крови от 15-недельных цыплят были отрицательные на антитела к CAV при исследовании набором ProFLOK® ELISA. Затем цыплята были помещены в CAV-инфицированную среду и тестированы на наличие антител с помощью набора ProFLOK® ELISA в течение четырех недель с 7-ми дневным интервалом. Результаты показаны в % положительно реагирующих цыплят.

3. Стабильность

Набор ProFLOK® CAV ELISA имеет длительный срок хранения –18 месяцев.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Оцените результаты теста ProFLOK® CAV ELISA по следующим параметрам:

1. Однородность – по значению коэффициента вариации (CV%).

- Чем ниже значение CV% в популяции, тем выше однородность титров антител.
- Следует стремиться к максимальной однородности титров антител к CAV у цыплят в возрасте 1–3 дней, до начала вакцинации и после нее (т.е. CV должен быть менее 50%).

2. Значения титра антител

Пороговое значение S/P: каждый набор серии ProFLOK® ELISA имеет пороговое значение соотношения оптической плотности исследуемого образца сыворотки к среднему значению оптической плотности положительного контроля (S/P), которое четко разделяет пробы сыворотки крови на положительные и отрицательные. Пороговое значение S/P для ProFLOK® CAV ELISA следующее:

Диапазон S/P	Диапазон титров антител	Статус сыворотки
0,349 или менее	0	Отрицательная
0,350 и выше	1472 и выше	Положительная

Оценка эффективности вакцинации: сравните средние титры антител, определенные в ELISA до и после вакцинации, геометрические средние титры и значения коэффициента вариации (%CV).

Средний титр антител у вакцинированных цыплят должен иметь значения не ниже 1500–2500, оптимальным является средний титр от 3000 до 5000.*

Целью любой программы вакцинации является получение максимально однородных положительных значений титров антител.

Мониторинг эпизоотической ситуации: при серологическом мониторинге стад образцы сыворотки крови, содержащие незначительный уровень специфических антител к CAV, оцениваются как отрицательные (см. выше **Пороговое значение S/P**).

Поэтому, у цыплят, невакцинированных против CAV или не подвергавшихся воздействию полевого вируса, титры специфических к CAV антител должны быть равны нулю.

* Указанные титры антител получены при введении моновалентной живой вакцины против CAV в перепонку крыла цыплятам в возрасте 10–12 недель. Оценку уровня антителного ответа проводили через 6 недель после иммунизации.

НАБОРЫ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ БОЛЕЗНЕЙ КУР ИММУНОФЕРМЕНТНЫМ МЕТОДОМ



ProFLOK® MS ELISA (Профлок® MS)

диагностический набор для выявления антител против микоплазмоза у кур, вызываемого *Mycoplasma synoviae*

Набор ProFLOK® MS ELISA – скрининговый высокоспецифический экспресс-тест на основе твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA), предназначенный для обнаружения антител к *Mycoplasma synoviae* (Ms) в сыворотке крови кур. Набор одобрен Американской национальной программой оздоровления птицеводческих хозяйств от наиболее значимых болезней (NPIP) и лицензирован Министерством сельского хозяйства США (USDA).

Mycoplasma synoviae является возбудителем инфекционного синовита, который проявляется хромотой, отеком суставов, снижением среднесуточных привесов¹.

Набор ProFLOK® MS ELISA имеет следующие преимущества:

- обеспечивает получение достоверных и воспроизводимых результатов анализа;
- одобрен NPIP и лицензирован USDA;
- имеет длительный срок хранения – 24 месяца;
- дает возможность одномоментного исследования большого количества проб сыворотки крови (900 исследований/набор) по легкой воспроизводимой методике;
- сопровождается мощной системой программного обеспечения для управления базой данных и превосходной технической поддержкой.

ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

Набор ProFLOK® MS ELISA разработан для мониторинга эпизоотической ситуации по Ms в птицеводческих хозяйствах. Исследованию подлежат 30 или более проб сыворотки крови от группы птиц, отобранных методом случайной выборки с периодичностью каждые 4–6 недель.

ХАРАКТЕРИСТИКИ ТЕСТА

Набор ProFLOK® MS ELISA протестирован по следующим показателям: **специфичность, чувствительность и воспроизводимость.**

1. Специфичность

Результаты, представленные в табл. 1, свидетельствуют о высокой специфичности набора ProFLOK® MS ELISA, поскольку взаимодействует только с гомологичной сывороткой при отсутствии положительных результатов при исследовании нормальной (контрольной) сыворотки, эталонных сывороток, содержащих антитела к ряду возбудителей других инфекционных болезней птиц, а также сыворотки, содержащей антитела к коммерческой инактивированной вакцине. Набор ProFLOK® MS ELISA, подобно всем наборам ProFLOK® ELISA, обладает высокой специфичностью и обеспечивает получение сопоставимых и воспроизводимых результатов.

Таблица 1. Специфичность

Средние значения отношения оптических плотностей образец/положительный контроль (S/P), диапазоны S/P и значения титров антител для сывороток, исследованных в ProFLOK® MS ELISA

Эталонная сыворотка	Средние значения S/P ^а	Диапазон S/P ^с	Титр антител в ProFLOK® MS ELISA
Нормальная контрольная сыворотка (NCS)	0,030	-	0
Вирус оспы птиц (APV)	0,040	-	0
Реовирус птиц (ARV)	0,042	-	0
Вирус ретикулоэндотелиоза птиц (REV)	0,026	-	0
Вирус герпеса индеек (HVT)	0,036	-	0
Вирус болезни Марекка (MDV)	0,048	-	0
Вирус инфекционной анемии цыплят (CAV)	0,102	-	0
Коммерческая инактивированная вакцина 1	0,078	-	0
Коммерческая инактивированная вакцина 2	0,054	-	0
Коммерческая инактивированная вакцина 3	0,122	-	0
Вирус инфекционной бурсальной болезни (IBD)	0,054	-	0
Вирус инфекционного ларинготрахеита (ILT)	0,038	-	0
Вирус лейкоза птиц (APV)	0,044	-	0
Вирус ньюкаслской болезни (NDV)	0,036	-	0
Вирус инфекционного энцефаломиелимита птиц (AE)	0,070	-	0
Вирус инфекционного бронхита кур (IBV)	0,130	-	0
<i>Mycoplasma gallisepticum</i> (Mg)	0,040	-	0
<i>Mycoplasma synoviae</i> (Ms), титр в РТГА 1:80	2,446	+	5830

2. Чувствительность

Данные, представленные в табл. 2, показывают, что набор ProFLOK® MS ELISA обладает более высокой чувствительностью, в сравнении с реакцией торможения гемагглютинации (РТГА), которую используют в коммерческих лабораториях. Повышенная чувствительность теста ProFLOK® MS ELISA обеспечивает более надежный контроль за распространением Ms.

НАБОРЫ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ БОЛЕЗНЕЙ КУР ИММУНОФЕРМЕНТНЫМ МЕТОДОМ

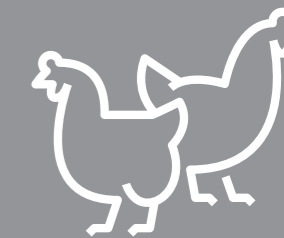


Таблица 2. Чувствительность

Определение чувствительности набора ProFLOK® MS ELISA при исследовании разведенных образцов специфической сыворотки крови, средние значения отношения оптических плотностей образец/положительный контроль (S/P), диапазоны S/P, значения титров антител, определенных с помощью ProFLOK® MS ELISA и РТГА (исследования проведены в двух коммерческих лабораториях).

Log ₂	Разведение сыворотки	Среднее значение S/P ^а	Результат S/P ^б	Титр антител в ProFLOK® MS ELISA ^{ае}	Прогнозируемый титр ^д	Средний титр антител в РТГА ^с
0	цельная	3,33	+	9159	320	30
-1	1:2	3,05	+	8054	160	20
-2	1:4	2,23	+	5092	80	10
-3	1:8	1,33	+	2390	40	7,5
-4	1:16	0,72	+	973	20	5
-5	1:32	0,43	+	458	10	5
-6	1:64	0,20	?	149	5	5

^а Средние арифметические значения S/P (n=30)

^б Пороговые диапазоны S/P для набора ProFLOK® MS ELISA: 0,299 и ниже – отрицательный, 0,3–0,599 – сомнительный, 0,6 и выше – положительный

^с Средние арифметические значения 3 повторных образцов

^д Средние арифметические значения 2 повторных образцов

^е Log₁₀ титр = (1,464 x Log₁₀ S/P) + 3,197

3. Воспроизводимость

Данные, представленные в табл. 3, показывают высокую воспроизводимость результатов ELISA при исследовании одной пробы сыворотки крови в 15 повторных тестах на 5 планшетах набора ProFLOK® MS ELISA. Все наборы серии ProFLOK® ELISA оптимизированы таким образом, чтобы в течение длительного времени получать сопоставимые и воспроизводимые результаты.

Таблица 3. Воспроизводимость

Средняя оптическая плотность (OD) и коэффициенты вариации (CV%), полученные при исследовании одной сыворотки крови в 15 повторных тестах на 5 планшетах набора ProFLOK® MS ELISA.

№ планшета ProFLOK® MS ELISA	Сыворотка крови с высоким уровнем антител к Ms		Сыворотка крови со средним высоким уровнем антител к Ms		Сыворотка крови с низким уровнем антител к Ms	
	OD ^а	CV(%)	OD ^а	CV(%)	OD ^а	CV(%)
1	1,322	3,80	0,657	3,70	0,391	3,40
2	1,357	3,20	0,678	3,80	0,401	4,30
3	1,285	3,20	0,630	5,20	0,302	3,60
4	1,250	3,60	0,607	5,30	0,366	4,40
5	1,309	3,70	0,645	6,40	0,385	5,10
Средние арифметические значения ^б	1,305	3,50	0,642	4,88	0,385	4,16

^а Среднее арифметическое значение (n=15).

^б Средние арифметические значения (n=75, 15 повторных теста на 5 планшетах)

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

При интерпретации результатов необходимо помнить, что ProFLOK® MS ELISA предназначен только для группового серологического обследования поголовья, а не для индивидуальных анализов (менее 10 проб сыворотки крови).

Результаты исследований сыворотки крови в ProFLOK® MS ELISA оцениваются следующим образом:

Диапазон S/P	Диапазон титров антител	Статус сыворотки
0,299 или менее	0	отрицательная (-) ^а
0,300–0,599	270–743	сомнительная (?) ^б ^с
0,600 и выше	744 и выше	положительная (+) ^с

а. Поголовье, не инфицированное Ms

Образцы сыворотки крови с S/P-отношением менее 0,300 считаются отрицательными. Однако существует ряд факторов, приводящих к появлению ложноотрицательных результатов в ИФА. Например, циркуляция в стаде штаммов Ms, обладающих атипичными биологическими и/или антигенными свойствами^{1,2} и широта их распространения, регулярность и правильность отбора проб сыворотки крови. Поэтому поголовье считается не инфицированным Ms только при его систематическом серологическом обследовании и многократном получении отрицательных результатов исследования в ELISA, SPA (реакции агглютинации) и HI (реакции торможения гемагглютинации), а также при отсутствии выделения Ms на питательных средах.

б. Поголовье, сомнительное по инфицированию Ms

При S/P-отношении 0,300–0,599 (уровень антител 1:270–1:743) сыворотки считаются сомнительными. При исследовании их в SPA и HI результаты также получаются неоднозначные. В этом случае, необходимо проводить многократные повторные исследования сыворотки крови, а также подтверждать или исключать циркуляцию Ms путем выделения возбудителя.

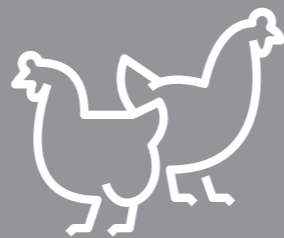
с. Поголовье, инфицированное Ms

Поголовье признается инфицированным Ms только при его систематическом серологическом обследовании и многократном получении положительных результатов исследования в ELISA, SPA и HI, а также при положительных результатах выделения Ms на питательных средах².

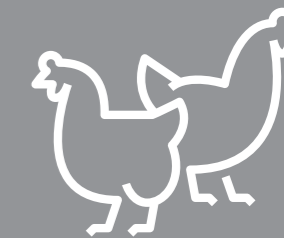
Литература

1. Kleven S.H., Rowl G.N. *iseases of Poultry*, 9th ed., Am. Assoc. Avian Path. Iowa St. Univ. Press, Ames, Iowa, pp. 223-231, 1991
2. Kleven S.H. and Yoder H.W. Jr., *Mycoplasmosis In: A Laboratory Manual for the Isolation and Identification of Avian Pathogens*, 3rd ed., American Association of Avian Pathologists. Kendall/Hunt Publishing Company, Dubuque, IA, pp. 57-62, 1989

НАБОРЫ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ БОЛЕЗНЕЙ КУР ИММУНОФЕРМЕНТНЫМ МЕТОДОМ



НАБОРЫ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ БОЛЕЗНЕЙ КУР ИММУНОФЕРМЕНТНЫМ МЕТОДОМ



ProFLOK® IBV ELISA (Профлок® IBV)

диагностический набор для выявления антител против вируса инфекционного бронхита у кур (ИБК)

Набор ProFLOK® IBV ELISA – специфический экспресс-тест на основе твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA), предназначенный для обнаружения антител к вирусу инфекционного бронхита (IBV) в сыворотке крови кур. Набор лицензирован Министерством сельского хозяйства США (USDA).

Вирус инфекционного бронхита вызывает высококонтагиозную болезнь у кур, которая проявляется в виде респираторных инфекций (у молодых кур), нефрозов и снижения производства и качества яиц (у несушек)¹.

Набор ProFLOK® IBV ELISA имеет следующие преимущества:

- обеспечивает получение достоверных и воспроизводимых результатов анализа;
- имеет длительный срок хранения – 24 месяца;
- дает возможность одновременного исследования большого количества проб сыворотки крови (900 исследований/набор) по легкой воспроизводимой методике;
- сопровождается мощной системой программного обеспечения для управления базой данных и отличной технической поддержкой.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Набор ProFLOK® IBV ELISA был протестирован по следующим показателям: **специфичность и чувствительность**.

1. Специфичность

Результаты, представленные в табл. 1, свидетельствуют, что набор ProFLOK® IBV ELISA обладает высокой специфичностью, поскольку взаимодействует только с гомологичной сывороткой при отсутствии положительных результатов при исследовании нормальной (контрольной) сыворотки, а также эталонных сывороток, содержащих антитела к ряду возбудителей инфекционных болезней птиц.

Набор ProFLOK® IBV ELISA, так же как и все наборы ProFLOK® ELISA, обладает высокой специфичностью и обеспечивает получение сопоставимых и воспроизводимых результатов.

Таблица 1. Специфичность

Средние значения отношения оптических плотностей образец/положительный контроль (S/P), диапазоны S/P и значения титров антител для сывороток, исследованных в ProFLOK® IBV ELISA

Эталонная сыворотка	Средние значения S/P ^{ав}	Диапазон S/P ^с	Титр антител ^д
Нормальная контрольная сыворотка (NCS)	0,000	-	0
Вирус инфекционной бурсальной болезни (IBD)	0,001	-	0
Реовирус птиц (REO)	0,010	-	0
Вирус ньюкаслской болезни (NDV)	0,007	-	0
Вирус энцефаломиелита птиц (AE)	0,021	-	0
Вирус инфекционного бронхита кур – Mass (IBV)	0,604	+	754
Вирус инфекционного бронхита – Ark (IBV)	0,290	+	253
Вирус инфекционного бронхита – Cop (IBV)	0,340	+	318
Вирус инфекционного бронхита – JMK (IBV)	0,151	+	62
Вирус инфекционного бронхита – H52 (IBV)	0,640	+	814
Вирус инфекционного бронхита – M41 (IBV)	1,200	+	2060
<i>Mycoplasma gallisepticum (Mg)</i>	0,036	-	0
<i>Mycoplasma synoviae (Ms)</i>	0,061	-	0
<i>Pasteurella multocida (PM)</i>	0,001	-	0
Инфекционный ларинготрахеит (ILT)	0,002	-	0
Вирус гриппа птиц (AIV)	0,042	-	0
Вирус анемии цыплят (CAV)	0,032	-	0

^а Средние арифметические значения S/P (n=15, 3 повторных теста на 5 планшетах)

^б S/P = ОП образца – средн. значение ОП отриц. контроля / средн. значение ОП полож. контроля – средн. значение ОП отриц. контроля

^с Пороговые диапазоны S/P для набора ProFLOK® IBV ELISA : 0,150 и ниже – отрицательный, выше 0,150 – положительный

^д Log₁₀ титр = (1,642 x Log₁₀ S/P) + 3,568

2. Чувствительность

Данные, приведенные в табл. 2, показывают, что набор ProFLOK® IBV ELISA обладает более высокой чувствительностью, в сравнении с общепринятой реакцией торможения гемагглютинации (HI, РТГА).

Таблица 2. Чувствительность

Сравнительные результаты исследования проб сыворотки крови в ProFLOK® IBV ELISA и в РТГА^б

№ образца	S/P при использовании ProFLOK® IBV ELISA ^а	Титр антител в ProFLOK® IBV ELISA ^а	Титр антител в РТГА ^б
1	2,565	6240	832
2	1,683	3372	395
3	1,010	1574	128
4	0,582	714	96
5	0,302	274	32

^а Log₁₀ титр = (1,642 x Log₁₀ S/P) + 3,568

^б Результаты РТГА получены в коммерческой лаборатории с 8 ГАЕ вируса

На рис. 1 показан типовой профиль антител, определенных с помощью набора ProFLOK® IBV ELISA при традиционной схеме вакцинации родительского поголовья против инфекционного бронхита у кур. Все наборы серии ProFLOK® ELISA оптимизированы таким образом, чтобы получать сопоставимые и воспроизводимые результаты.

Динамика антительного ответа родительского поголовья птиц, привитых против ИБК, определенная по результатам ИФА



Рис. 1. Типичный профиль антител. Средний титр антител, определенный с помощью набора ProFlok® IBV ELISA при обследовании 450 птицеводческих хозяйств, проводящих традиционную программу профилактики ИБК.

ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

1. Оценка эффективности вакцинации против ИБК:

- случайным методом отберите и исследуйте в ELISA 30 или более проб сыворотки крови от группы птиц непосредственно перед введением вакцины против инфекционного бронхита у кур (до вакцинации) и через 2–6 недель после иммунизации.

2. Оценка эпизоотической ситуации по ИБК:

- отберите и проведите исследование в ELISA 30 или более проб сыворотки крови от каждой группы птиц, особенно племенного поголовья. Процедуру проводите регулярно – каждые 4–6 недель.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Оцените результаты теста ProFLOK® IBV ELISA по следующим параметрам:

1. Однородность – по значению коэффициента вариации (CV%).

- Чем ниже значение CV% в популяции, тем выше однородность поствакцинальных титров антител.
- Следует стремиться к максимальной однородности титров антител к вирусу IBV у цыплят в возрасте 1–3 дней, до начала вакцинации и после нее (т.е. CV должен быть менее 45%).

2. Значения титра антител

Пороговое значение S/P: каждый набор серии ProFLOK® ELISA имеет пороговое значение отношения оптической плотности исследуемого образца сыворотки к среднему значению оптической плотности положительного контроля (S/P), которое четко разделяет пробы сыворотки крови на положительные и отрицательные. Пороговое значение S/P для ProFLOK® IBV ELISA следующее:

Диапазон S/P	Диапазон титра
0,150 или менее	0
выше 0,150	165 и более

Оценка эффективности вакцинации: сравните средние титры антител, определенные в ELISA до и после вакцинации, геометрические средние титры и значения коэффициента вариации (%CV). **Средний геометрический титр у цыплят после вакцинации, равный 5000, считается «защитным».**

Примечание: значения титров антител после вакцинации зависят от разных факторов, таких как используемый вакцинный штамм вируса ИБК, способ введения вакцины, возраст птиц и т.д. Целью любой программы вакцинации является получение максимально однородных положительных значений титров антител (т.е. CV должен быть 45% или менее).

Оценка эпизоотической ситуации по ИБК: рассмотрите профиль антител, определенных с помощью набора ProFLOK® IBV ELISA в партии цыплят и установите корреляцию уровня титров антител с программой вакцинации, данными хозяйственной деятельности (прирост массы тела, конверсия корма, смертность и т.д.) и наличием или отсутствием фактических признаков проявления инфекционного бронхита.

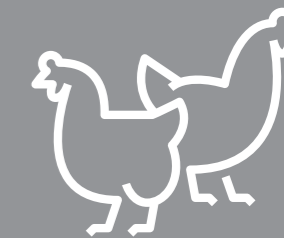
Литература

Hofstad M.S. Avian Infectious Bronchitis. In: Diseases of Poultry (Editorial Committee of the American Association pathologists) 6th ed. Iowa State University Press, Ames, IA, 1973

НАБОРЫ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ БОЛЕЗНЕЙ КУР ИММУНОФЕРМЕНТНЫМ МЕТОДОМ



НАБОРЫ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ БОЛЕЗНЕЙ КУР ИММУНОФЕРМЕНТНЫМ МЕТОДОМ



ProFLOK® REO ELISA (Профлок® REO)

диагностический набор для выявления антител против реовируса у птиц

Набор ProFLOK® REO ELISA – специфический экспресс-тест на основе твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA) для обнаружения антител к реовирусу (REO) в сыворотке крови кур. Набор лицензирован Министерством сельского хозяйства США (USDA). Реовирус был изолирован от цыплят с признаками артрита (теносиновитов), диареи и задержки роста¹. Было обнаружено, что к болезни, обозначенной как «реовирусный артрит», восприимчивы куры и индейки¹. Чаще поражаются цыплята-бройлеры 35–49-суточного возраста, но может болеть птица более старшего возраста. Болезнь проявляется воспалением синовиальных оболочек и сухожильных влагалищ.

Набор ProFLOK® REO ELISA имеет следующие преимущества:

- обеспечивает получение достоверных и воспроизводимых результатов анализа;
- имеет длительный срок хранения – 18 месяцев;
- лицензирован Министерством сельского хозяйства США (USDA);
- дает возможность одномоментного исследования большого количества проб сыворотки крови (900 исследований/набор) по легко воспроизводимой методике;
- сопровождается мощной системой программного обеспечения для управления базой данных и превосходной технической поддержкой.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Набор ProFLOK® REO ELISA был протестирован по следующим показателям: **специфичность и чувствительность**.

1. Специфичность

Результаты, представленные в табл. 1, показывают, что набор ProFLOK® REO ELISA обладает высокой специфичностью, поскольку взаимодействует только с гомологичной сывороткой при отсутствии положительных результатов при исследовании нормальной контрольной сыворотки и эталонных сывороток, содержащих антитела к ряду возбудителей инфекционных болезней птиц. Набор ProFLOK® REO ELISA, подобно всем наборам ProFLOK® ELISA, обладает высокой специфичностью и обеспечивает получение сопоставимых и воспроизводимых результатов.

Таблица 1. Специфичность

Средние значения отношения оптических плотностей образцов/положительный контроль (S/P), диапазоны S/P и значения титров антител для сывороток, исследованных в ProFLOK® REO ELISA

Эталонная сыворотка	Средние значения S/P ^а	Диапазон S/P ^с	Титр антител в ProFLOK® REO ELISA
Нормальная контрольная сыворотка (NCS)	0,000	-	0
Вирус инфекционной бурсальной болезни (IBD)	0,010	-	0
Вирус энцефаломиелита (AE)	0,050	-	0
Реовирус птиц (REO)	0,824	+	1185
Вирус ньюкаслской болезни (NDV)	0,110	-	0
Вирус инфекционного бронхита -Mass (IBV)	0,010	-	0
Вирус инфекционного бронхита Ark (IBV)	0,010	-	0
Вирус инфекционного бронхита Con (IBV)	0,090	-	0
Вирус инфекционного бронхита - JMK (IBV)	0,010	-	0
Вирус инфекционного бронхита - H52 (IBV)	0,100	-	0
Вирус инфекционного бронхита - M41 (IBV)	0,030	-	0
<i>Mycoplasma gallisepticum</i> (Mg)	0,070	-	0
<i>Mycoplasma synoviae</i> (Ms)	0,040	-	0
Инфекционный ларинготрахеит (ILT)	0,110	-	0

^а Средние арифметические значения S/P (n=15, 3 повторных теста на 5 планшетах)

^б ОП образца – средн. значение ОП отриц. контроля S/P = средн. значение ОП полож. контроля – средн. значение ОП отриц. контроля

^с Пороговые диапазоны S/P для набора ProFLOK® REO ELISA: 0,150 и ниже – отрицательный, выше 0,150 – положительный

^д Log₁₀ титр = (1,077 x Log₁₀ S/P) + 3,460

2. Чувствительность

Данные, представленные в табл. 2, показывают, что набор ProFLOK® REO ELISA обладает более высокой чувствительностью, в сравнении с общепринятой реакцией нейтрализации вируса (VN). Пробы сыворотки крови с известным уровнем вируснейтрализующих антител к REO исследовали с помощью набора ProFLOK® REO ELISA.

Таблица 2. Чувствительность

Сравнительные результаты исследования проб сыворотки крови в ProFLOK® REO ELISA и в общепринятой нейтрализации реовируса (VN)

№ образца	Титр антител в VN ^б	Титр антител в ProFLOK® REO ELISA ^а
1	597	3652
2	395	2072
3	128	1574
4	96	994
5	32	581
-5	1:32	0,46
-6	1:64	0,27
-7	1:128	0,15

^а Log₁₀ титр = (1,077 x Log₁₀ S/P) + 3,460

^б Реакция нейтрализации реовируса проводилась в коммерческой лаборатории, использующей разрешенный стандартный штамм

Данные, представленные на рис. 1, показывают типовой профиль антител, полученных с помощью набора ProFLOK® REO ELISA при выполнении типовой программы вакцинации против REO. Все наборы серии ProFLOK® ELISA оптимизированы таким образом, чтобы получать сопоставимые и воспроизводимые результаты.

Динамика антительного ответа родительского поголовья птиц, привитых против REO, определенная по результатам ИФА

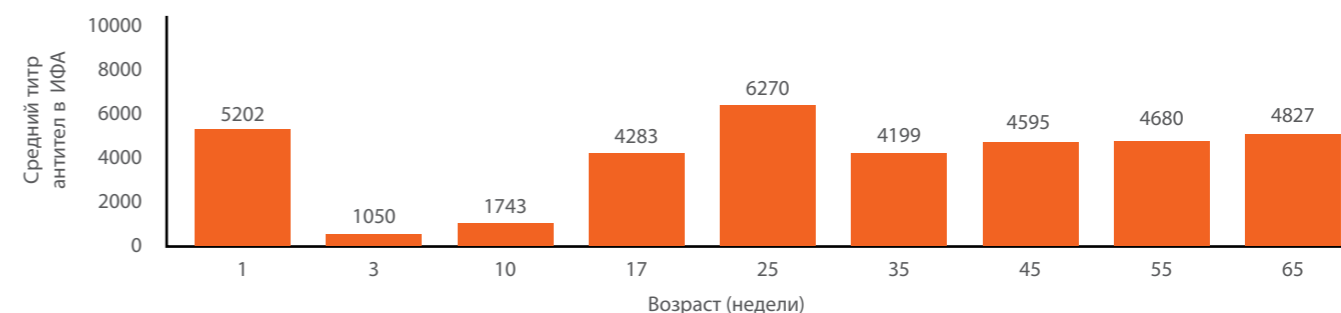


Рис. 1. Типовой профиль антител. Средний титр антител, определенный в ProFLOK® REO ELISA при обследовании 200 птицеводств, проводящих традиционную программу вакцинации против REO.

ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

1. Оценка эффективности вакцинации против REO:

- случайным методом отберите и исследуйте в ИФА 30 или более проб сыворотки крови от группы птиц непосредственно перед введением вакцины против REO (до вакцинации) и через 2–6 недель после иммунизации.

2. Оценка эпизоотической ситуации по REO:

- отберите и проведите исследование в ИФА 30 или более проб сыворотки крови от каждой группы птиц, особенно племенного поголовья. Процедуру проводите регулярно – каждые 4–6 недель.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Оцените результаты теста ProFLOK® REO ELISA по следующим параметрам:

1. Однородность – по значению коэффициента вариации (CV%)

- Чем ниже значение CV% в популяции, тем выше однородность поствакцинальных титров антител.
- Следует стремиться к максимальной однородности титров антител к вирусу REO у цыплят в возрасте 1–3 дней, до начала вакцинации и после нее (т.е. CV должен быть менее 45%).

2. Значения титра антител

Пороговое значение S/P: каждый набор серии ProFLOK® ELISA имеет пороговое значение отношения оптической плотности исследуемого образца сыворотки к среднему значению оптической плотности положительного контроля (S/P), которое четко разделяет пробы сыворотки крови на положительные и отрицательные. Пороговое значение S/P для ProFLOK® REO ELISA следующее:

Диапазон S/P	Диапазон титра антител
0,150 или менее	0
0,151 и выше	376 и более

Оценка эффективности вакцинации: сравните средние титры антител, определенные в ELISA до и после вакцинации, геометрические средние титры и значения коэффициента вариации (%CV). **Средний геометрический титр у цыплят после вакцинации, равный 1700, считается «защитным».**

Примечание: значения титров антител после вакцинации зависят от разных факторов, таких как используемый вакцинный штамм вируса REO, способ введения вакцины, возраст птиц и т.д. Целью любой программы вакцинации является получение максимально однородных положительных значений титров антител (т.е. CV должен быть 45% или менее).

Оценка эпизоотической ситуации по REO: рассмотрите профиль антител, определенных с помощью набора ProFLOK® REO ELISA в партии цыплят и установите корреляцию уровня титров антител с программой вакцинации, данными хозяйственной деятельности (прирост массы тела, конверсия корма, смертность и т.д.) и наличием или отсутствием фактических признаков проявления реовирусной инфекции.

Литература

1. Olson N.O. Reovirus Infection. In: Diseases of Poultry. 7th edition (edited by M.S.Hofstad, et al.) Ames, Iowa, Iowa State University Press, 1978.

zoetis



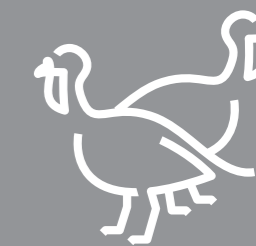
НАБОРЫ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ БОЛЕЗНЕЙ
ИНДЕЕК ИММУНОФЕРМЕНТНЫМ МЕТОДОМ

zoetis

НАБОРЫ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ БОЛЕЗНЕЙ ИНДЕЕК ИММУНОФЕРМЕНТНЫМ МЕТОДОМ



НАБОРЫ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ БОЛЕЗНЕЙ ИНДЕЕК ИММУНОФЕРМЕНТНЫМ МЕТОДОМ



ProFLOK® MM ELISA (Профлок® MM Turkey)

диагностический набор для выявления антител против микоплазмоза у индеек, вызываемого *Mycoplasma meleagridis*

Набор ProFLOK® MM ELISA – скрининговый высокоспецифический экспресс-тест на основе твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA), предназначенный для обнаружения антител к наиболее распространенным штаммам *Mycoplasma meleagridis* (Mm) в сыворотке крови индеек. Набор одобрен Американской национальной программой оздоровления птицеводческих хозяйств от наиболее значимых болезней (NPIP) и лицензирован Министерством сельского хозяйства США (USDA).

В стадах, инфицированных Mm, наблюдаются аэросаккулиты, снижение выводимости индюшат, неправильное развитие скелета, снижение показателей роста². Набор ProFLOK® MM ELISA – это скрининговый высокоспецифический экспресс-тест для обнаружения антител к Mm при исследовании большого количества проб сыворотки крови индеек.

Набор ProFLOK® MM ELISA обладает следующими преимуществами:

- обеспечивает получение достоверных и воспроизводимых результатов анализа;
- одобрен NPIP и лицензирован USDA;
- имеет длительный срок хранения – 24 месяца;
- дает возможность одновременного исследования большого количества проб сыворотки крови (900 исследований/набор) по легко воспроизводимой методике;
- сопровождается мощной системой программного обеспечения для управления базой данных и превосходной технической поддержкой.

ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

Набор ProFLOK® MM ELISA разработан для мониторинга эпизоотической ситуации по Mm в индейководческих хозяйствах. Исследованию подлежат 30 или более проб сыворотки крови от группы птиц, отобранных случайным методом с периодичностью каждые 4 недели.

ХАРАКТЕРИСТИКИ ТЕСТА

Набор ProFLOK® MM ELISA был протестирован по следующим показателям: **специфичность, чувствительность и воспроизводимость.**

1. Специфичность

Результаты, представленные в табл. 1, свидетельствуют о высокой специфичности набора ProFLOK® MM ELISA, поскольку взаимодействует только с гомологичной сывороткой при отсутствии положительных результатов при исследовании эталонных сывороток, содержащих антитела к ряду возбудителей инфекционных болезней индеек.

Набор ProFLOK® MM ELISA, так же как и все наборы ProFLOK® ELISA, обладает высокой специфичностью и обеспечивает получение сопоставимых и воспроизводимых результатов.

Таблица 1. Специфичность

Средние значения отношения оптических плотностей образец/положительный контроль (S/P), диапазоны S/P и значения титров антител для сывороток, исследованных в ProFLOK® MM ELISA

Эталонная сыворотка	Средние значения S/P ^{AB}	Диапазон S/P ^C	Титр антител ^D
Экстраэмбриональная жидкость СФФ-эмбрионов кур	0,005	-	0
<i>Bordetella avium</i> (BA)	0,110	-	0
Вирус геморрагического энтерита (HEV)	0,105	-	0
Вирус ньюкаслской болезни (NDV), титр в РТГА 1:160	0,010	-	0
Вирус гриппа птиц (AIV)	0,058	-	0
<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i> (ER)	0,155	-	0
<i>Pasteurella multocida</i> (PM)	0,033	-	0
Ротавирус	0,143	-	0
Коронавирус	0,000	-	0
Астровирус	0,015	-	0
<i>Mycoplasma gallisepticum</i> (Mg) титр в РТГА 1:80	0,080	-	0
<i>Mycoplasma synoviae</i> (Ms)	0,088	-	0
<i>Mycoplasma synoviae</i> (Ms) титр в РТГА 1:160	0,111	-	0
<i>Mycoplasma meleagridis</i> (Mm)	1,400	+	2576
<i>Mycoplasma meleagridis</i> (Mm) титр в РТГА 1:20	3,230	+	8759

^A Средние арифметические значения S/P (n=12)
^B S/P = ОП образца – средн. значение ОП отриц. контроля средн. значение ОП полож. контроля – средн. значение ОП отриц. контроля
^C Пороговые диапазоны S/P для набора ProFLOK® MM ELISA: 0,299 и ниже – отрицательный, 0,300–0,599 – сомнительный, 0,600 и выше – положительный
^D Log₁₀ титр = (1,464 x Log₁₀ SP) + 3,197

2. Чувствительность

Данные, приведенные в табл. 2, показывают, что набор ProFLOK® MM ELISA обладает более высокой чувствительностью, в сравнении с реакцией торможения гемагглютинации (HI, РТГА), которую используют в коммерческих лабораториях. Кроме того, набор ProFLOK® MM ELISA оснащен стандартизированными реагентами, что обеспечивает стабильность получаемых в различных лабораториях результатов.

Таблица 2. Чувствительность

Определение чувствительности набора ProFLOK® MM ELISA при исследовании разведенных образцов специфической сыворотки, средние значения отношения оптических плотностей образец/положительный контроль (S/P), диапазоны S/P, значения титров антител, определенных в ProFLOK® MM ELISA и РТГА (исследования проведены в двух коммерческих лабораториях)

Log ₂	Разведение сыворотки	Средние значения S/P ^A	Диапазон S/P ^{AB}	Титр антител ^{AD}	Средний титр антител в РТГА	
					Лаборатория А ^C	Лаборатория В ^E
-1	1:2	3,601	+	10 272	160	107
-2	1:4	2,825	+	7199	80	53
-3	1:8	2,116	+	4714	80	33
-4	1:16	1,531	+	2936	40	13
-5	1:32	1,031	+	1647	30	4
-6	1:64	0,829	+	1196	20	4
-7	1:128	0,405	?	419	0	4
-8	1:256	0,254	-	0	0 r ² = 0,88	0 r ² = 0,85

^A Средние арифметические значения S/P (n=30)
^B Пороговые диапазоны S/P ProFLOK® MM ELISA: 0,299 и ниже – отрицательный, 0,300–0,599 – сомнительный, 0,600 и выше – положительный
^C Средние арифметические значения (n=2)
^D Log₁₀ титр = (1,464 x Log₁₀ SP) + 3,197
^E Средние арифметические значения (n=3)

3. Воспроизводимость

Данные, представленные в табл. 3, показывают высокую воспроизводимость результатов ELISA при исследовании одной пробы сыворотки крови в 42 повторных тестах на 5 планшетах набора ProFLOK® MM ELISA. Все наборы серии ProFLOK® ELISA оптимизированы таким образом, чтобы в течение длительного времени получать сопоставимые и воспроизводимые результаты.

Таблица 3. Воспроизводимость

Средняя оптическая плотность (OD) и коэффициенты вариации (CV%), полученные при исследовании одной сыворотки крови в 42 повторных тестах на 5 планшетах набора ProFLOK® MM ELISA

№ планшета ProFLOK® MM ELISA	OD ^A	CV(%)	Среднее значение CV (%) ^B	Среднее значение CV (%) ^C
1	0,573	7,40	7,31	5,84
2	0,532	7,33		
3	0,515	6,67		
4	0,538	7,77		
5	0,605	7,36		

^A Среднее арифметическое значение оптической плотности, полученное при исследовании в 42 повторных тестах на одном планшете одной положительной к Mm сыворотки крови индейки.
^B Среднее значение коэффициента вариации (CV%), полученное при исследовании в 42 повторных тестах на одном планшете одной положительной к Mm сыворотки крови индейки.
^C Среднее значение коэффициента вариации (CV%), полученное при исследовании на каждом из 5 планшетов набора ProFLOK® MM ELISA в 42 повторных тестах одной положительной к Mm сыворотки крови индейки.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

При интерпретации результатов необходимо помнить, что ProFLOK® MM ELISA предназначен только для группового серологического обследования поголовья, а не для индивидуальных анализов (менее 10 проб сыворотки крови).

Результаты исследований сыворотки крови в ProFLOK® MM ELISA оцениваются следующим образом:

Диапазон S/P	Диапазон титров антител	Статус сыворотки
0,299 или менее	0	отрицательная (-) ^a
0,300–0,599	270–743	сомнительная (?) ^{b,c}
0,600 и выше	744 и выше	положительная (+) ^c

a. Поголовье, не инфицированное Mm

Образцы сыворотки крови с S/P-отношением менее 0,300 считаются отрицательными. Однако существует ряд факторов, приводящих к появлению ложноотрицательных результатов ELISA. Например, циркуляция в стаде штаммов Mm, обладающих атипичными биологическими и/или антигенными свойствами^{1,2} и широта их распространения, регулярность и правильность отбора проб сыворотки крови.

Поэтому поголовье считается не инфицированным Mm только при его систематическом серологическом обследовании и многократном получении отрицательных результатов исследования в ELISA, SPA (реакции агглютинации) и HI (реакции торможения гемагглютинации), а также при отсутствии выделения Mm на питательных средах.

b. Поголовье, сомнительное по инфицированию Mm

При S/P-отношении 0,300–0,599 (уровень антител 1:270–1:743) сыворотки считаются сомнительными. При исследовании их в SPA и HI результаты также получаются неоднозначные. В этом случае необходимо проводить многократные повторные исследования сыворотки крови, а также подтверждать или исключать циркуляцию Mm путем выделения чистой культуры.

c. Поголовье, инфицированное Mm

Поголовье признается инфицированным Mm только при его систематическом серологическом обследовании и многократном получении положительных результатов исследования в ELISA, SPA и HI, а также при положительных результатах выделения Mm на питательных средах².

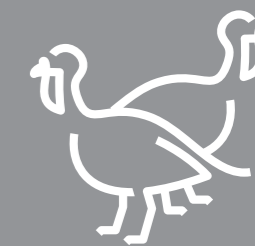
Литература

1. Kleven S.H. and Yoder W.H. Jr. Mycoplasmosis. In: A Laboratory Manual for the Isolation and Identification of Avian Pathogens, 3rd ed. Am. Assoc. Avian. Path.Kendal/Hunt Publ. Co. Dubuque, IA pp. 57-62. 1989
2. Yamamoto R. Mycoplasma meleagridis infection. In:Diseases of Poultry, 9th ed. Am. Assoc. of Avian Path.Iowa State Univ. Press, Ames IA pp. 212-223. 1991.

НАБОРЫ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ БОЛЕЗНЕЙ ИНДЕЕК ИММУНОФЕРМЕНТНЫМ МЕТОДОМ



НАБОРЫ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ БОЛЕЗНЕЙ ИНДЕЕК ИММУНОФЕРМЕНТНЫМ МЕТОДОМ



ProFLOK® BA ELISA (Профлок® BA Turkey)

диагностический набор для выявления антител против бордетеллеза у индеек, вызываемого *Bordetella avium*

Набор ProFLOK® BA ELISA представляет собой специфичный и чувствительный экспресс-иммуноанализ для обнаружения антител к *Bordetella avium* в образцах сыворотки индеек методом ИФА (ELISA).

Bordetella avium (BA) вызывает бордетеллез, который обычно называют согуза индеек¹. Бордетеллез представляет собой высококонтагиозное заболевание с поражением верхних дыхательных путей индеек, которое характеризуется внезапным появлением чихания, выделением экссудата из глаз и носа, задержкой роста и предрасположенностью к другим инфекционным заболеваниям². Также характерна высокая заболеваемость и низкая смертность³.

Антиген планшета

Лунки полистироловых планшетов покрыты инактивированным, непатогенным вакцинным штаммом *Bordetella avium*.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Проведены широкие испытания набора ProFLOK® BA ELISA по следующим параметрам: **стабильность, специфичность и чувствительность**.

1. Стабильность

Наборы ProFLOK® BA ELISA имеют срок хранения 24 месяца с даты производства. Срок годности каждого набора четко указан на этикетке коробки набора.

2. Специфичность

Результаты, представленные в табл. 1, приведенной ниже, показывают, что набор ProFLOK® BA ELISA обнаруживает очень высокую специфичность к образцам, содержащим антитела к BA, но при этом не реагирует с антителами к другим возбудителям инфекций.

Набор ProFLOK® BA ELISA, подобно всем наборам ProFLOK® ELISA, обладает высокой специфичностью для обеспечения получения достоверных воспроизводимых результатов теста.

Таблица 1. Специфичность

Средние значения отношения образец/положительный контроль (SP) для серии образцов для определения специфичности антигена, исследованной с помощью теста ProFLOK® BA ELISA.

Антиген	Средние значения отношения SP ^{а,в}	Результат SP ProFLOK® BA ELISA ^с
Вирус инфекционного бронхита (IBV) Массачусетс	0,030	-
Вирус инфекционного бронхита (IBV) Арканзас	0,010	-
Вирус инфекционного бронхита (IBV) Коннектикут	0,040	-
Реовирус (REO)	0,010	-
Вирус инфекционного ларинготрахеита (ILT)	0,010	-
Вирус Ньюкаслской болезни (NDV)	0,000	-
Вирус инфекционной бурсальной болезни (IBD)	0,010	-
<i>Bordetella avium</i>	3,291	+

^а Значения представляют собой среднее арифметическое 15 повторных тестов (3 повторов / 5 пластинок ELISA)

^б Отношение SP образцов = оптическая плотность (ОП) образца – ср. ОП нормального контроля / ср. ОП положительного контроля – ср. ОП нормального контроля

^с Пороговые диапазоны SP ProFLOK® BA ELISA: отрицательно (-) = ≤ 0,299 – положительно (+) = > 0,299

3. Чувствительность

Проводилось исследование с целью изучить относительную чувствительность ProFLOK® BA ELISA. Стадо индеек вакцинировали в возрасте 3 недель и повторно в возрасте 6 недель. У всех птиц каждую неделю брали образец крови. Реакция на вакцину в динамике показана на рис. 1 ниже.

Реакция на инфицирование BA в зависимости от времени

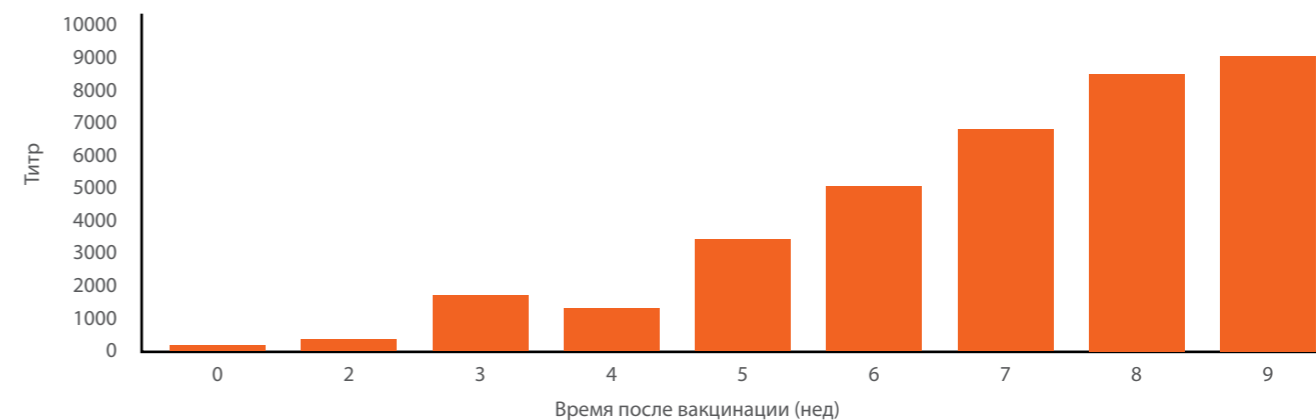


Рис. 1. Чувствительность

Динамика серологического ответа на введение *B. avium*, измеренная с помощью теста ProFLOK® BA ELISA.

ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

1. Оценка вакцинации против BA:

- случайным методом отберите и проанализируйте 30 или более образцов сыворотки от стада непосредственно перед введением вакцины BA (до вакцинации) и через 14–18 дней после вакцинации.

2. Стандартная оценка стаи по BA:

- отберите и проведите анализ 30 или более образцов сыворотки крови от стада, особенно от родительских стад; процедуру проводите регулярно (т.е. каждые 4–6 недель).

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Оцените результаты теста ProFLOK® BA ELISA по следующим параметрам:

1. Однородность

- Оценивается по значению коэффициента вариации (CV%).
- Чем ниже значение CV%, тем выше однородность значений титра.
- Следует стремиться в наибольшей однородности значения титра BA в возрасте 1–3 дня, до вакцинации и после вакцинации (т.е. CV менее 45%).

2. Значения титра

Пороговое значение S/P: каждый набор ProFLOK® ELISA имеет пороговое значение образец/положительный контроль (SP), которое четко разделяет положительные образцы от отрицательных. Отрицательным является образец, который значимо не отличается от нормальной контрольной сыворотки набора. Пороговое значение SP для BA ELISA следующее:

Диапазон S/P	Диапазон титра
0,299 или менее	0
0,300 и более	270 и более

Оценка вакцинации: сравните средние титры, измеренные методом ИФА в стаде (ELISA) до и после вакцинации, геометрические средние титры и значения коэффициента вариации (%CV). **Средний геометрический титр стада после вакцинации, равный 2000, считается «защитным».**

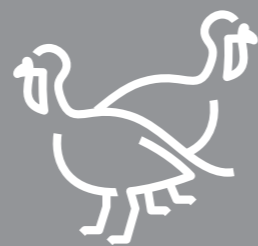
Примечание: значения, оцененные методом BA ELISA, после вакцинации зависят от разных факторов, таких как вакцинный штамм BA, способ введения, возраст птиц и т.д. Целью любой программы вакцинации должно являться достижение максимально возможных однородных значений титра после вакцинации в каждом вакцинированном стаде (т.е. CV 45% или менее).

Оценка профиля стада: рассмотрите профили стада по методу ELISA и соотнесите полученные уровни титров антител с программой вакцинации, производственными показателями (среднесуточный привес, конверсия корма, сохранность и т.д.) и наличием или отсутствием фактических признаков инфекции.

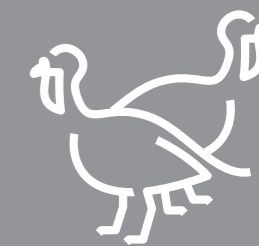
Литература

- Керстес К., Хинц К.Х., Гертле А., Сегерс П., Ливенс А., Зигман О. и Де Лей Дж. 1984. *Bordetella avium* sp. nov. выделенный из дыхательных путей индеек и других птиц Int J Syst Bacteriol 34:55-70.
- Эйрл Л.Х., Скилс Дж.К. Бордетеллез (Turkey Coryza). В: Болезни домашней птицы. 9-е изд. (ред. Б.В.Калнек, и др.). Университет штата Айова Пресс, Эймс, Айова, 1991.
- Сейф У.М., Мурхед П.Д., Дирс Р.Н. и Джекувуд Д.Дж. 1980. Наблюдения инфекции *Alcaligenes faecalis* У индеек, Болезни птиц (Avian Dis) 24: 665-684.

НАБОРЫ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ БОЛЕЗНЕЙ ИНДЕЕК ИММУНОФЕРМЕНТНЫМ МЕТОДОМ



НАБОРЫ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ БОЛЕЗНЕЙ ИНДЕЕК ИММУНОФЕРМЕНТНЫМ МЕТОДОМ



ProFLOK® NDV ELISA Turkey (Профлок® NDV Turkey)

диагностический набор для выявления антител против вируса ньюкаслской болезни у индеек

Набор ProFLOK® NDV ELISA Turkey – специфический экспресс-тест на основе твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA), предназначенный для обнаружения антител к вирусу ньюкаслской болезни (NDV) в сыворотке крови индеек. Набор лицензирован Министерством сельского хозяйства США (USDA).

Формы проявления ньюкаслской болезни (НБ) зависят от степени патогенности штамма вируса, инфицирующего птицу, и могут варьировать от легкой субклинической инфекции до серьезных заболеваний с высокой степенью смертности¹.

Набор ProFLOK® NDV ELISA Turkey разработан для оценки эффективности иммунизации против НБ и серологического контроля над распространением возбудителя НБ в популяциях индеек.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Набор ProFLOK® NDV ELISA Turkey был протестирован по следующим показателям: **специфичность, чувствительность и воспроизводимость.**

1. Специфичность

Результаты, представленные в табл. 1, показывают, что набор ProFLOK® NDV ELISA Turkey обладает высокой специфичностью, поскольку взаимодействует только с гомологичной сывороткой при отсутствии положительных результатов при исследовании нормальной (контрольной) сыворотки, а также эталонных сывороток, содержащих антитела к ряду возбудителей инфекционных болезней индеек. Набор ProFLOK® NDV ELISA Turkey, подобно всем наборам ProFLOK® ELISA, обладает высокой специфичностью и обеспечивает получение сопоставимых и воспроизводимых результатов

Таблица 1. Специфичность

Средние значения отношения оптических плотностей образец/положительный контроль (S/P), диапазоны S/P и значения титров антител для сывороток, исследованных с помощью ProFLOK® NDV ELISA Turkey

Эталонная сыворотка индеек	Средние значения S/P ^{ав}	Диапазон S/P ^с	Титр антител ^д
Нормальная контрольная сыворотка индейки (NTS)	0,000	-	0
Экстраэмбриональная жидкость СПФ-эмбрионов	0,000	-	0
<i>Bordetella avium</i> (BA)	0,007	-	0
Вирус геморрагического энтерита (HEV)	0,018	-	0
Вирус гриппа птиц (AIV)	0,035	-	0
Вирус гриппа птиц (AIV)	0,000	-	0
<i>Mycoplasma meleagridis</i> (Mm), титр в РТГА 1:20	0,007	-	0
<i>Mycoplasma synoviae</i> (Ms), NA HI	0,016	-	0
<i>Mycoplasma gallisepticum</i> (Mg), титр в РТГА 1:80	0,010	-	0
Вирус ньюкаслской болезни (NDV), титр в РТГА 1:20	1,000	+	8054
Вирус ньюкаслской болезни (NDV), NA HI	1,330	+	9881
Вирус ньюкаслской болезни (NDV), титр в РТГА 1:160	2,720	+	16 503

^а Средние значения S/P (n=15, 3 повторных теста на 5 микропланшетах)
^б S/P = ОП образца – средн. значение ОП отриц. контроля / средн. значение ОП полож. контроля – средн. значение ОП отриц. контроля
^с Пороговые диапазоны S/P для набора ProFLOK® NDV ELISA Turkey: 0,15 и ниже – отрицательный, выше 0,150 – положительный
^д Log₁₀ титр = (0,717 x Log₁₀ SP) + 3,906

2. Чувствительность

Данные, приведенные в табл. 2, показывают, что ProFLOK® NDV ELISA Turkey обладает более высокой чувствительностью, в сравнении с общепринятой реакцией торможения гемагглютинации (РТГА) (результаты получены из двух лабораторий). Кроме того, набор ProFLOK® NDV ELISA Turkey оснащен стандартизированными реагентами, что обеспечивает стабильность получаемых в различных лабораториях результатов.

Таблица 2. Чувствительность

Определение чувствительности набора ProFLOK® NDV ELISA Turkey при исследовании разведенных образцов специфической сыворотки, средние значения отношения оптических плотностей образец/положительный контроль (S/P), диапазоны S/P, значения титров антител, определенных с помощью ProFLOK® NDV ELISA Turkey и РТГА (исследования проведены в двух коммерческих лабораториях)

Log ₂	Разведение сыворотки	Средние значения S/P ^а	Результат S/P ^б	Титр антител A ^в	Средний титр антител в РТГА	
					Лаборатория A ^с	Лаборатория B ^д
0	цельная	2,66	+	16 198	128	160
-1	1:2	1,98	+	13 143	128	160
-2	1:4	1,52	+	10 874	64	93
-3	1:8	1,07	+	8454	64	40
-4	1:16	0,72	+	6364	32	20
-5	1:32	0,46	+	4615	16	10
-6	1:64	0,27	+	3150	8	10
-7	1:128	0,15	-	0	8 r ² = 0,90	5 r ² = 0,88

^а Средние арифметические значения S/P (n=30)
^б Пороговые диапазоны S/P для набора ProFLOK® NDV ELISA Turkey: 0,15 и ниже – отрицательный, выше 0,150 – положительный
^с Среднее арифметическое значение 2 повторных образцов
^д Среднее арифметическое значение 3 повторных образцов
^е Log₁₀ титр = (0,717 x Log₁₀ SP) + 3,906

3. Воспроизводимость

Данные, представленные в табл. 3, показывают высокую воспроизводимость результатов ELISA при исследовании одной пробы сыворотки крови индейки в 42 повторных тестах на 5 планшетах набора ProFLOK® NDV ELISA Turkey. Все наборы ProFLOK® ELISA оптимизированы таким образом, чтобы в течение длительного времени получать сопоставимые и воспроизводимые результаты.

Таблица 3. Воспроизводимость

Средняя оптическая плотность (OD) и коэффициенты вариации (CV%), полученные при исследовании одной сыворотки крови индеек в 42 повторных тестах на 5 планшетах набора ProFLOK® NDV ELISA Turkey

№ планшета ProFLOK® NDV ELISA Turkey	OD ^а	CV(%)	Среднее значение CV(%) ^б	Среднее значение CV(%) ^с
1	0,694	4,21	4,53	3,77
2	0,548	4,54		
3	0,573	4,04		
4	0,545	4,67		
5	0,537	5,19		
Средн. арифм. значения ^д				

^а Среднее арифметическое значение оптической плотности, полученное при исследовании в 42 повторных тестах на одном планшете одной положительной к вирусу НБ сыворотки крови индейки.
^б Среднее значение коэффициента вариации (CV%), полученное при исследовании в 42 повторных тестах на одном планшете одной положительной к вирусу НБ сыворотки крови индейки.
^с Среднее значение коэффициента вариации (CV%), полученное при исследовании на каждом из 5 планшетов набора ProFLOK® NDV ELISA Turkey в 42 повторных тестах одной положительной к вирусу НБ сыворотки крови индеек.

ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

1. Оценка эффективности вакцинации против НБ:

- случайным методом отберите и исследуйте в ИФА 30 или более проб сыворотки крови от группы птиц непосредственно перед введением вакцины против НБ (до вакцинации) и через 2–6 недель после иммунизации.

2. Оценка эпизоотической ситуации по НБ:

- отберите и проведите исследование в ИФА 30 или более проб сыворотки крови от каждой группы индеек, особенно племенного поголовья. Процедуру проводите регулярно каждые 4–6 недель.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Оцените результаты теста ProFLOK® NDV ELISA Turkey по следующим параметрам:

1. Однородность – по значению коэффициента вариации (CV%).

- Чем ниже значение CV% в исследованной популяции, тем выше однородность поствакцинальных титров антител.
- Следует стремиться к максимальной однородности титров антител к вирусу НБ у индеек в возрасте 1–3 дней, до начала вакцинации и после нее (т.е. CV должен быть менее 45%).

2. Значения титра антител

Пороговое значение S/P: каждый набор серии ProFLOK® ELISA имеет пороговое значение отношения оптической плотности исследуемого образца сыворотки к среднему значению оптической плотности положительного контроля (S/P), которое четко разделяет пробы сыворотки крови на положительные и отрицательные. Пороговое значение S/P для ProFLOK® NDV ELISA Turkey следующее:

Диапазон S/P	Диапазон титра
0,150 или менее	0
0,151 и более	2076 и более

Оценка эффективности вакцинации: сравните средние титры антител, определенные в ELISA до и после вакцинации, геометрические средние титры и значения коэффициента вариации (%CV). **Средний геометрический титр у цыплят после вакцинации, равный 7000, считается «защитным».**

Примечание: значения титров антител после вакцинации зависят от разных факторов, таких как используемый вакцинный штамм вируса НБ, способ введения вакцины, возраст птиц и т.д. Целью любой программы вакцинации является получение максимально однородных положительных значений титров антител (т.е. CV должен быть 45% или менее).

Оценка эпизоотической ситуации по НБ: рассмотрите профиль антител, определенных с помощью набора ProFLOK® NDV ELISA Turkey в партии цыплят и установите корреляцию уровня титров антител с программой вакцинации, данными хозяйственной деятельности (прирост массы тела, конверсия корма, смертность и т.д.) и наличием или отсутствием фактических признаков проявления НБ.

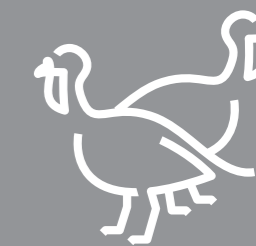
Литература

1. Beard C.W. and Hanson R.P. Newcastle Disease In: Diseases of Poultry, 8th ed. Am.Assoc. of Avian Path. Iowa State Univ. Press, Ames, IA pp. 212-220.1984.

НАБОРЫ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ БОЛЕЗНЕЙ ИНДЕЕК ИММУНОФЕРМЕНТНЫМ МЕТОДОМ



НАБОРЫ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ БОЛЕЗНЕЙ ИНДЕЕК ИММУНОФЕРМЕНТНЫМ МЕТОДОМ



ProFLOK® MS ELISA Turkey (Профлок® MS Turkey)

диагностический набор для выявления антител против микоплазмоза у индеек, вызываемого *Mycoplasma synoviae*

Набор ProFLOK® MS ELISA Turkey – скрининговый высокоспецифический экспресс-тест на основе твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA), предназначенный для обнаружения антител к наиболее распространенным штаммам *Mycoplasma synoviae* (например, к WVU-1853) в образцах сыворотки крови индеек. Набор одобрен Американской национальной программой оздоровления птицеводческих хозяйств от наиболее значимых болезней (NPIP) и лицензирован Министерством сельского хозяйства США (USDA).

Mycoplasma synoviae является возбудителем инфекционного синовита, который проявляется хромотой, отеком суставов, снижением ежесуточных привесов¹.

Набор ProFLOK® MS ELISA Turkey имеет следующие преимущества:

- обеспечивает получение достоверных и воспроизводимых результатов анализа;
- одобрен NPIP и лицензирован USDA;
- имеет длительный срок хранения – 24 месяца;
- дает возможность одномоментного исследования большого количества проб сыворотки крови (900 исследований/набор) по легко воспроизводимой методике;
- сопровождается мощной системой программного обеспечения для управления базой данных и превосходной технической поддержкой.

ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

Набор ProFLOK® MS ELISA Turkey разработан для мониторинга эпизоотической ситуации по *Ms* в индейководческих хозяйствах. Исследованию подлежат 30 или более проб сыворотки крови от группы птиц, отобранных методом случайной выборки с периодичностью каждые 4 недели.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Набор ProFLOK® MS ELISA Turkey протестирован по следующим показателям: **специфичность, чувствительность и воспроизводимость**.

1. Специфичность

Результаты, представленные в табл. 1, показывают, что набор ProFLOK® MS ELISA Turkey обладает высокой специфичностью, поскольку взаимодействует только с гомологичной сывороткой при отсутствии положительных результатов при исследовании эталонных сывороток, содержащих антитела к ряду возбудителей инфекционных болезней индеек, а также сыворотки, содержащей антитела на коммерческую инактивированную вакцину.

Набор ProFLOK® MS ELISA Turkey, подобно всем наборам ProFLOK® ELISA, обладает высокой специфичностью и обеспечивает получение сопоставимых и воспроизводимых результатов.

Таблица 1. Специфичность

Средние значения отношения оптических плотностей образец/положительный контроль (S/P), диапазоны S/P и значения титров антител для сывороток, исследованных в ProFLOK® MS ELISA Turkey

Эталонная сыворотка	Средние значения S/P ^{AB}	Диапазон S/P ^C	Титр антител ^D
Вирус оспы птиц (APV)	0,000	-	0
Реовирус птиц (REO)	0,040	-	0
Вирус ретикулэндотелиоза птиц (REV)	0,010	-	0
Вирус болезни Марекка (MDV)	0,000	-	0
Коммерческая инактивированная вакцина <i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i> (ER)	0,030	-	0
<i>Pasteurella multocida</i> (PM)	0,003	-	0
Ротавирус	0,000	-	0
Коронавирус	0,075	-	0
Астровирус	0,000	-	0
<i>Mycoplasma gallisepticum</i> (Mg)	0,025	-	0
<i>Mycoplasma gallisepticum</i> (Mg): титр в РТГА 1:80	0,111	-	0
<i>Mycoplasma meleagridis</i> (Mm): титр в РТГА 1:20	0,170	-	0
<i>Mycoplasma synoviae</i> (Ms)	0,380	?	382
<i>Mycoplasma synoviae</i> (Ms): титр в РТГА 1:20	2,030	+	4438

^A Средние арифметические значения S/P (n=12)
^B ОП образца – средн. значение ОП отриц. контроля S/P= средн. значение ОП полож. контроля – средн. значение ОП отриц. контроля
^C Пороговые диапазоны S/P для набора ProFLOK® T-MS ELISA: 0,299 и ниже – отрицательный, 0,300–0,599 – сомнительный, 0,600 и выше – положительный
^D Log₁₀ титр = (1,464 x Log₁₀ S/P) + 3,197

2. Чувствительность

Данные, приведенные в табл. 2, показывают, что набор ProFLOK® MS ELISA Turkey обладает более высокой чувствительностью, в сравнении с реакцией торможения гемагглютинации (РТГА), которую используют в коммерческих лабораториях. Кроме того, набор ProFLOK® MS ELISA Turkey оснащен стандартизированными реагентами, что обеспечивает стабильность получаемых в различных лабораториях результатов.

Таблица 2. Чувствительность

Определение чувствительности набора ProFLOK® MS ELISA Turkey при исследовании разведенных образцов специфической сыворотки, средние значения отношения оптических плотностей образец/положительный контроль (S/P), диапазоны S/P, значения титров антител, определенных с помощью ProFLOK® MS ELISA Turkey и РТГА (исследования проведены в двух коммерческих лабораториях)

Log ₂	Разведение сыворотки	Средние значения S/P ^A	Диапазон S/P ^{AB}	Титр антител ^{AD}	Средний титр антител в РТГА	
					Лаборатория А ^C	Лаборатория В ^E
0	цельная	3,820	+	1119	120	80
-1	1:2	3,080	+	8170	80	20
-2	1:4	2,112	+	4735	40	20
-3	1:8	1,570	+	3046	30	6
-4	1:16	1,018	+	1616	20	0
-5	1:32	0,604	+	752	0	0
-6	1:64	0,356	?	347	0 r ² = 0,92	0 r ² = 0,85

^A Средние арифметические значения S/P (n=30)
^B Пороговые диапазоны S/P для набора ProFLOK® MS ELISA Turkey: 0,299 и ниже – отрицательный, 0,300–0,599 – сомнительный, 0,600 и выше – положительный
^C Значения равны среднему арифметическому 2 повторных образцов.
^D Log₁₀ титр = (1,464 x Log₁₀ S/P) + 3,197
^E Значения равны среднему арифметическому 3 повторных образцов.

3. Воспроизводимость

Данные, представленные в табл. 3, показывают высокую воспроизводимость результатов ELISA при исследовании одной пробы сыворотки крови индейки в 42 повторных тестах на 5 планшетах набора ProFLOK® MS ELISA Turkey. Все наборы ProFLOK® ELISA оптимизированы таким образом, чтобы в течение длительного времени получать сопоставимые и воспроизводимые результаты.

Таблица 3. Воспроизводимость

Средняя оптическая плотность (OD) и коэффициенты вариации (CV%), полученные при исследовании одной сыворотки крови индеек в 42 повторных тестах на 5 планшетах набора ProFLOK® MS ELISA Turkey

№ планшета ProFLOK® MS ELISA Turkey	OD ^A	CV(%)	Среднее значение CV (%) ^B	Среднее значение CV (%) ^C
1	0,558	4,66	4,60	6,93
2	0,627	5,47		
3	0,535	4,17		
4	0,513	4,59		
5	0,547	4,13		

^A Среднее арифметическое значение оптической плотности, полученное при исследовании в 42 повторных тестах на одном планшете одной положительной к *MS* сыворотки крови индейки.
^B Среднее значение коэффициента вариации (CV%), полученное при исследовании в 42 повторных тестах на одном планшете одной положительной к *MS* сыворотки крови индейки.
^C Среднее значение коэффициента вариации (CV%), полученное при исследовании на каждом из 5 планшетов набора ProFLOK® MS ELISA Turkey в 42 повторных тестах одной положительной к *MS* сыворотки крови индеек

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

При интерпретации результатов необходимо помнить, что набор ProFLOK® MS ELISA Turkey предназначен только для группового серологического обследования поголовья, а не для индивидуальных анализов (менее 10 проб сыворотки крови).

Результаты исследований сыворотки крови в ProFLOK® MS ELISA Turkey оцениваются следующим образом:

Диапазон S/P	Диапазон титров антител	Статус сыворотки
0,299 или менее	0	отрицательная (-) ^a
0,300–0,599	270–743	сомнительная (?) ^{b,c}
0,600 и выше	744 и выше	положительная (+) ^c

a. Поголовье, не инфицированное *Ms*

Образцы сыворотки крови с S/P-отношением 0,299 или менее считаются отрицательными. Однако существует ряд факторов, приводящих к появлению ложноотрицательных результатов ELISA. Например, циркуляция в стаде штаммов *Ms*, обладающих атипичными биологическими и/или антигенными свойствами^{1,2} и широта их распространения, регулярность и правильность отбора проб сыворотки крови.

Поэтому поголовье считается не инфицированным *Ms* только при его систематическом серологическом обследовании и многократном получении отрицательных результатов исследования в ELISA, SPA (реакции агглютинации) и HI (реакции торможения гемагглютинации), а также при отсутствии выделения *Ms* на питательных средах.

b. Поголовье, сомнительное по инфицированию *Ms*

При S/P-отношении 0,300–0,599 (уровень антител 1:270–1:743) сыворотки считаются сомнительными. При исследовании их в SPA и HI результаты также получаются неоднозначные². В этом случае необходимо проводить многократные повторные исследования сыворотки крови индеек, а также подтверждать или исключать циркуляцию *Ms* путем обнаружения возбудителя.

c. Поголовье, инфицированное *Ms*

Поголовье индеек признается инфицированным *Ms* только при его систематическом серологическом обследовании и многократном получении положительных результатов исследования в ELISA, SPA и HI, а также при положительных результатах выделения *Ms* на питательных средах².

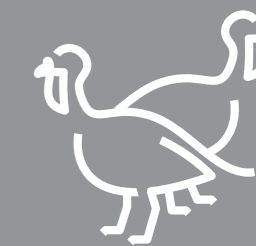
Литература

1. Kleven S.H., Rowland G.N. and Olson N.O. *Mycoplasma synoviae* Infection. Diseases of Poultry, 9th ed., Am. Assoc. Avian Path. Iowa St. Univ. Press, Ames, Iowa, pp. 223-231. 1991
2. Kleven S.H. and Yoder W.H. Jr. *Mycoplasma* In : A Laboratory Manual for the Isolation and Identification of Avian Pathogens, 3rd ed. Am. Assoc. Avian. Path. Kendall/Hunt Publ. Co. Dubuque, IA pp. 57-62. 1989

НАБОРЫ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ БОЛЕЗНЕЙ ИНДЕЕК ИММУНОФЕРМЕНТНЫМ МЕТОДОМ



НАБОРЫ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ БОЛЕЗНЕЙ ИНДЕЕК ИММУНОФЕРМЕНТНЫМ МЕТОДОМ



ProFLOK® MG ELISA Turkey (Профлок® MG Turkey)

диагностический набор для выявления антител против респираторного микоплазмоза у индеек, вызываемого *Mycoplasma gallisepticum*

Набор ProFLOK® MG ELISA Turkey – скрининговый высокоспецифический экспресс-тест на основе твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA), предназначенный для обнаружения антител к наиболее распространенным штаммам *Mycoplasma gallisepticum* (Mg) (например, S-6, R) в сыворотке крови индеек. Набор одобрен Американской национальной программой оздоровления птицеводческих хозяйств от наиболее значимых болезней (NPIP) и лицензирован Министерством сельского хозяйства США (USDA).

Микоплазмоз птиц, вызываемый Mg, характеризуется медленно развивающимися клиническими признаками в виде хрипов, кашля, выделений из носа, синуситов¹.

Набор ProFLOK® MG ELISA Turkey имеет следующие преимущества:

- обеспечивает получение достоверных и воспроизводимых результатов анализа;
- одобрен NPIP и лицензирован USDA;
- имеет длительный срок хранения – 24 месяца;
- дает возможность одномоментного исследования большого количества проб сыворотки крови (900 исследований/набор) по легкой воспроизводимой методике;
- сопровождается мощной системой программного обеспечения для управления базой данных и превосходной технической поддержкой.

ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

Набор ProFLOK® MG ELISA Turkey разработан для мониторинга эпизоотической ситуации по Mg в индейководческих хозяйствах. Исследования подлежат 30 или более проб сыворотки крови от группы птиц, отобранных методом случайной выборки с периодичностью каждые 4–6 недель.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Набор ProFLOK® MG ELISA Turkey протестирован по следующим показателям: **специфичность, чувствительность и воспроизводимость**.

1. Специфичность

Результаты, представленные в табл. 1, показывают, что набор ProFLOK® MG ELISA Turkey обладает высокой специфичностью, поскольку взаимодействует только с гомологичной сывороткой при отсутствии ложноположительных результатов при исследовании эталонных сывороток, содержащих антитела к ряду возбудителей инфекционных болезней индеек. Набор ProFLOK® MG ELISA Turkey, подобно всем наборам ProFLOK® ELISA, обладает высокой специфичностью и обеспечивает получение сопоставимых и воспроизводимых результатов.

Таблица 1. Специфичность

Средние значения отношения оптических плотностей образец/положительный контроль (S/P), диапазоны S/P и значения титров антител для сывороток, исследованных в ProFLOK® MG ELISA Turkey

Эталонная сыворотка	Средние значения S/P ^{ав}	Диапазон S/P ^с	Титр антител ^д
Экстраэмбриональная жидкость СПФ-эмбрионов (SPF)	0,000	-	0
<i>Bordetella avium</i> (BA)	0,058	-	0
Вирус геморрагического энтерита (HEV)	0,015	-	0
Вирус ньюкаслской болезни (NDV) титр в РТГА 1:160	0,023	-	0
Вирус гриппа птиц (AIV)	0,068	-	0
<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i> (ER)	0,035	-	0
<i>Pasteurella multocida</i> (PM)	0,005	-	0
Ротавирус	0,058	-	0
Коронавирус	0,000	-	0
Астровирус	0,000	-	0
<i>Mycoplasma meleagridis</i> (Mm)	0,040	-	0
<i>Mycoplasma synoviae</i> (Ms)	0,033	-	0
<i>Mycoplasma synoviae</i> (Ms) титр в РТГА 1:160	0,050	-	0
<i>Mycoplasma gallisepticum</i> (Mg)	1,873	+	3945
<i>Mycoplasma gallisepticum</i> (Mg), титр в РТГА 1:80	3,260	+	8879

^а Средние значения S/P (n=12)
^б ОП образца – средн. значение ОП отриц. контроля
^в S/P = средн. значение ОП полож. контроля - средн. значение ОП отриц. контроля
^с Пороговые диапазоны S/P для набора ProFLOK® MG ELISA Turkey: 0,199 и ниже – результат отрицательный, 0,200–0,599 – сомнительный, 0,600 и выше – положительный
^д Log₁₀ титр = (1,464 x Log₁₀ S/P) + 3,197

2. Чувствительность

Данные, приведенные в табл. 2, показывают, что набор ProFLOK® MG ELISA Turkey обладает более высокой чувствительностью, в сравнении с реакцией торможения гемагглютинации (РТГА), которую используют в коммерческих лабораториях. Кроме того, набор ProFLOK® MG ELISA Turkey оснащен стандартизированными реагентами, что обеспечивает стабильность получаемых в различных лабораториях результатов.

Таблица 2. Чувствительность

Определение чувствительности набора ProFLOK® MG ELISA Turkey при исследовании разведенных образцов специфической сыворотки, средние значения отношения оптических плотностей образец/положительный контроль (S/P), диапазоны S/P, значения титров антител, определенных с помощью ProFLOK® MG ELISA Turkey и РТГА (исследования проведены в двух коммерческих лабораториях).

Log ₂	Разведение сыворотки	S/P ^а	Результат S/P ^б	Титр антител ^в	Средний титр антител в РТГА	
					Лаборатория А ^д	Лаборатория В ^д
-1	1:2	4,343	+	13 512	160	133
-2	1:4	3,405	+	9463	80	80
-3	1:8	2,693	+	6713	80	33
-4	1:16	1,864	+	3933	40	27
-5	1:32	0,986	+	1541	20	0
-6	1:64	0,787	?	1109	20	0
-7	1:128	0,542	?	642	0	0
-8	1:256	0,250	?	0	0 r ² = 0,81	0 r ² = 0,94

^а Средние арифметические значения S/P (n=6).
^б Пороговые диапазоны S/P для набора ProFLOK® MG ELISA Turkey: 0,199 и ниже – отрицательный, 0,200–0,599 – сомнительный, 0,600 и выше – положительный
^в Значения равны среднему арифметическому 2 повторных образцов.
^д Log₁₀ титр = (1,464 x Log₁₀ S/P) + 3,197

3. Воспроизводимость

Данные, представленные в табл. 3, показывают высокую воспроизводимость результатов ELISA при исследовании одной пробы сыворотки крови индейки в 84 повторных тестах на 5 планшетах набора ProFLOK® MG ELISA Turkey. Все наборы ProFLOK® ELISA оптимизированы таким образом, чтобы в течение длительного времени получать сопоставимые и воспроизводимые результаты.

Таблица 3. Воспроизводимость

Средняя оптическая плотность (OD) и процентный коэффициент вариации (CV%), полученные при исследовании одной сыворотки крови индеек в 84 повторных тестах на 5 планшетах набора ProFLOK® MG ELISA Turkey.

№ планшета ProFLOK® MG ELISA Turkey	Средняя оптическая плотность ^а	CV(%) ^б	Среднее значение CV(%) ^б	Среднее значение CV(%) ^с
1	0,417	5,75	5,61	3,34
2	0,429	5,60		
3	0,393	5,10		
4	0,422	7,71		
5	0,399	5,88		

^а Среднее арифметическое значение оптической плотности, полученное при исследовании в 84 повторных тестах на одной планшете одной положительной к Mg сыворотки крови индейки.
^б Среднее значение коэффициента вариации (CV%), полученное при исследовании на каждой из 5 планшетов набора ProFLOK® MG ELISA Turkey в 84 повторных тестах одной положительной к Mg сыворотки крови индейки.
^с Среднее значение коэффициента вариации (CV%), полученное при исследовании на каждой из 5 планшетов набора ProFLOK® MG ELISA Turkey в 84 повторных тестах одной положительной к Mg сыворотки крови индейки.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

При интерпретации результатов необходимо помнить, что ProFLOK® MG ELISA Turkey предназначен только для группового серологического обследования поголовья, а не для индивидуальных анализов (менее 10 проб сыворотки крови).

Результаты исследований сыворотки крови в ProFLOK® MG ELISA Turkey оцениваются следующим образом:

Диапазон S/P	Диапазон титров антител	Статус сыворотки
0,299 или менее	0	отрицательная (-) ^а
0,300–0,599	270–743	сомнительная (?) ^б
0,600 и выше	744 и выше	положительная (+) ^с

а. Поголовье, не инфицированное Mg

Образцы сыворотки крови с S/P-отношением 0,299 или менее считаются отрицательными. Однако существует ряд факторов, приводящих к появлению ложноположительных результатов ELISA. Например, циркуляция в стаде штаммов Mg, обладающих атипичными биологическими и/или антигенными свойствами^{1,2} и широта их распространения, регулярность и правильность отбора проб сыворотки крови.

Поэтому поголовье считается не инфицированным Mg только при его систематическом серологическом обследовании и многократном получении отрицательных результатов исследования в ELISA, SPA (реакции агглютинации) и HI (реакции торможения гемагглютинации), а также при отсутствии выделения Mg на питательных средах.

б. Поголовье, сомнительное по инфицированию Mg

При S/P-отношении 0,300–0,599 (уровень антител 1:270–1:743) сыворотки считаются сомнительными. При исследовании их в SPA и HI результаты также получаются неоднозначные². В этом случае, необходимо проводить многократные повторные исследования сыворотки крови индеек, а также подтверждать или исключать циркуляцию Mg путем обнаружения возбудителя.

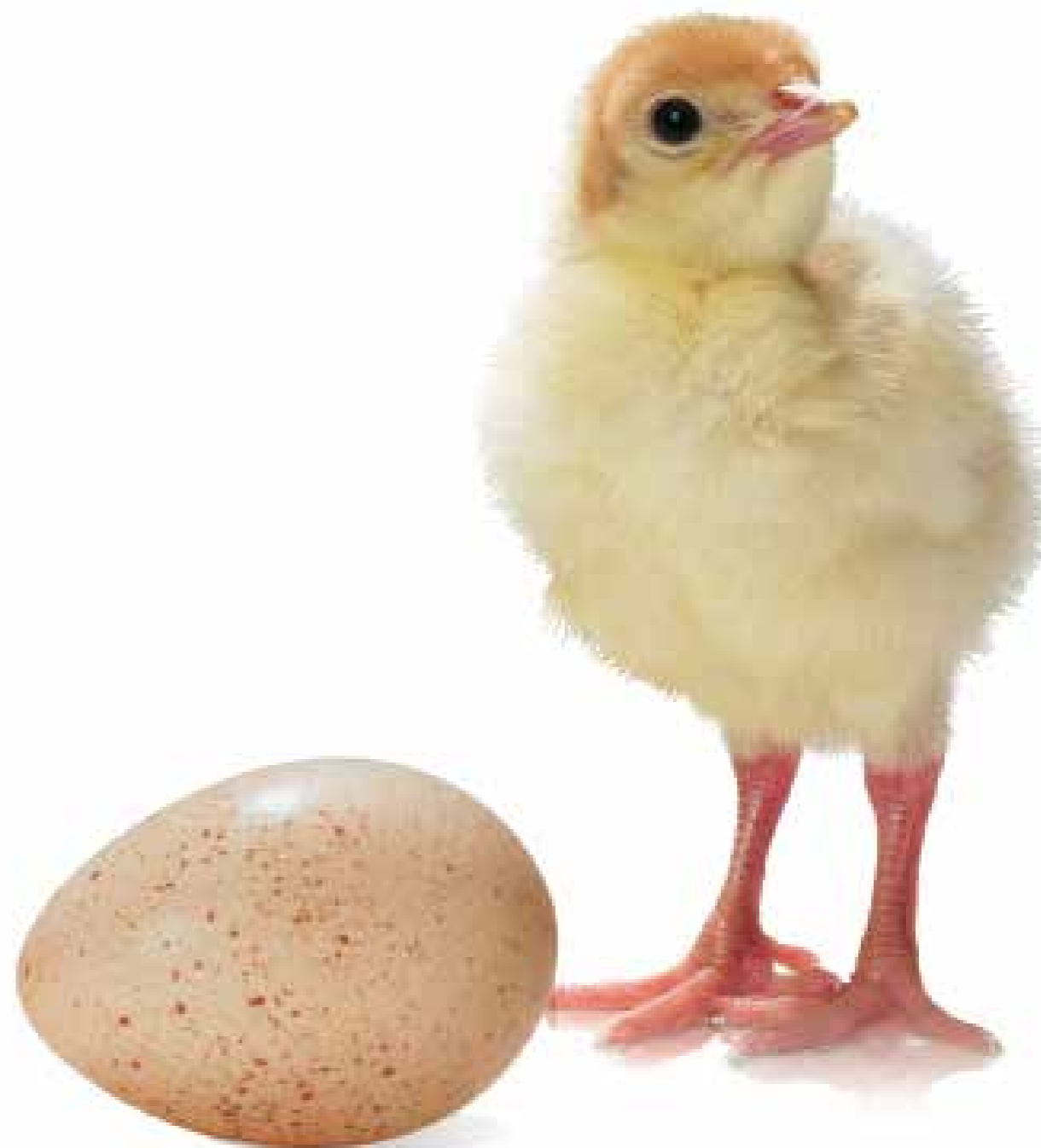
с. Поголовье, инфицированное Mg

Поголовье индеек признается инфицированным Mg только при его систематическом серологическом обследовании и многократном получении положительных результатов исследования в ELISA, SPA и HI, а также при положительных результатах выделения Mg на питательных средах².

Литература

1. Kleven S.H., Morrow C.J. and Whitear K.G. Comparison of *Mycoplasma gallisepticum* strains by hemagglutination-inhibition and restriction endonuclease analysis. Avian Dis. 32:731-741. 1988
2. Kleven S.H. and Yoder W.H. Jr. Mycoplasmosis. In: A Laboratory Manual for the Isolation and Identification of Avian Pathogens, 3rd ed. Am. Assoc. Avian. Path. Kendall/Hunt Publ. Co. Dubuque, IA pp. 57-62. 1989
3. Ley D.H., McLaren J.M., Dingfelder R.S. and McBride M.A.T. Pathogenicity, transmissibility and immunogenicity of atypical *M. gallisepticum* isolates from turkeys. Recent Advances in Mycoplasmaology. Proc. 7th Congress Internat. Org. for Mycoplasmaology. Zbl. Bakt. Suppl. 20 Gustav Fischer Verlag. 1990.
4. Yoder H.W. Jr. *Mycoplasma gallisepticum* Infection. In: Disease of Poultry, 9th ed., American Assn. of Avian Path. Iowa St. Univ. Press, Ames, IA, pp. 198-212. 1991

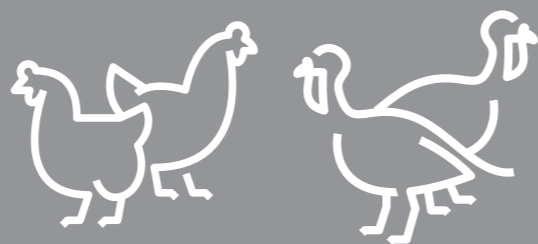
zoetis



НАБОРЫ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ
БОЛЕЗНЕЙ КУР И ИНДЕЕК

zoetis

НАБОРЫ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ БОЛЕЗНЕЙ КУР И ИНДЕЕК



ProFLOK® AIV PLUS ELISA (Профлок® AIV PLUS)

тест-набор для выявления антител против вируса гриппа птиц

Набор ProFLOK® AIV PLUS – специфический экспресс-тест на основе твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA), предназначенный для обнаружения антител ко всем известным подтипам вируса гриппа (AIV) типа А птиц в сыворотке крови кур. Набор лицензирован Министерством сельского хозяйства США (USDA).

Вирус гриппа вызывает болезнь у диких и домашних птиц различной степени тяжести – от слабых признаков поражения органов дыхания до резкого снижения яйценоскости и высокой смертности¹. Вирусы гриппа типа А, вызывающие заболевание, относятся к семейству *Orthomyxoviridae*. Вследствие быстрого и, зачастую, бессимптомного распространения AIV, раннее обнаружение специфических антител является необходимым мероприятием при организации профилактики и контроля данной болезни.

ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

Оценка эпизоотической ситуации по гриппу птиц

Случайным методом отберите и исследуйте в ELISA 30 или более проб сыворотки крови от группы птиц с периодичностью каждые 4–6 недель, особенно в случаях обнаружения птиц с признаками респираторных болезней.

Антиген

В лунках полистироловых планшет сорбирован антиген вируса гриппа птиц H9N2.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ НАБОРА

Набор ProFLOK® AIV ELISA был протестирован по следующим параметрам: **стабильность, специфичность и чувствительность**.

1. Стабильность

Наборы ProFLOK® AIV ELISA имеют длительный срок хранения – 12 месяцев.

2. Специфичность

Результаты, представленные в табл. 1, показывают, что набор ProFLOK® AIV PLUS ELISA обладает высокой специфичностью при исследовании проб сыворотки крови ко всем подтипам вируса гриппа типа А птиц.

Таблица 1. Специфичность

Средние значения отношения оптических плотностей образцов/положительный контроль (S/P), диапазоны S/P и значения титров антител для сывороток, исследованных в ProFLOK® AIV PLUS ELISA.

Штамм вируса AIV	Минимальное разведение	Средние значения SP ^а	Профлок® AIV PLUS значение титра ^с	Профлок® AIV PLUS уровень титра ^с
H1N1	1:256	0,49	+	561
H2N2	1:128	0,64	+	819
N3N2	1:128	0,60	+	746
H4N8	1:64	0,63	+	798
H5N9	1:128	0,43	+	453
H6N2	1:32	1,45	+	2710
H7N3	1:256	0,69	+	908
H8N4	1:128	0,49	+	554
H9N2	1:128	0,37	+	367
H10N7	1:256	0,61	+	760
H11N9	1:256	0,45	+	483
H12N5	1:512	0,38	+	382
H13N6	1:4	0,40	+	413
H14N5	1:256	0,48	+	537
H15N6	1:128	0,59	+	722

^а Средние арифметические значения S/P (n=9).
^б S/P = ОП образца – средн. значение ОП отриц. контроля / средн. значение ОП полож. контроля – средн. значение ОП отриц. контроля
^с Пороговые диапазоны S/P для набора ProFLOK® AIV ELISA: 0,349 и ниже – отрицательный; 0,35 и выше – положительный
^д Log₁₀ титр = (1,464 x Log₁₀ SP) + 3,197

3. Чувствительность

Проводились сравнительные испытания чувствительности тестов ProFLOK® AIV PLUS ELISA, реакции торможения геагглютинации (HI, РТГА) и реакции диффузионной преципитации (AGP, РДП). SPF-цыплята в возрасте четырех недель были сформированы в 4 группы. Птицам группы 1 вводили аллантоисную жидкость (контроль), группу 2 прививали живым штаммом H5N2 (изолят Mexico), а цыплят групп 3 и 4 иммунизировали инактивированным штаммом H5N2 AIV. От всех контрольных и подопытных птиц еженедельно получали сыворотку крови и исследовали ее в ELISA, HI и AGP на наличие антител, специфичных AIV. На 21-й день после начала опыта проводили контрольное заражение цыплят высокопатогенным штаммом H5N2.

Результаты опыта представлены в табл. 2.

НАБОРЫ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ БОЛЕЗНЕЙ КУР И ИНДЕЕК

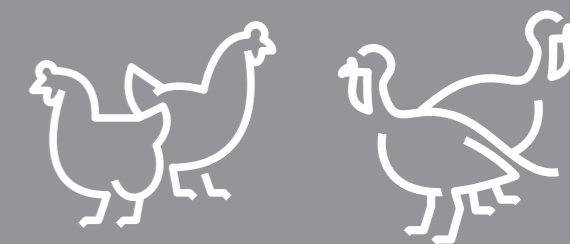


Таблица 2. Чувствительность

Сравнительная чувствительность ProFLOK® AIV PLUS ELISA, HI и AGP при исследовании сыворотки крови на наличие антител к AIV (% положительно реагирующих проб)

Дни после контрольного заражения	Дни после вакцинации	Группа 1			Группа 2 (живая вакцина)			Группа 3 (инактивированная вакцина)			Группа 4 (инактивированная вакцина)		
		ELISA ^а	HI ^б	AGP	ELISA	HI	AGP	ELISA	HI	AGP	ELISA	HI	AGP
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	14	0	0	0	100	100	100	22	0	55	44	0	77
0	21	0	0	0	100	100	100	44	0	55	77	33	77
7	28	70	100	100	100	100	100	88	100	100	88	88	100
14	35	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

^а Сыворотка оценивается в ELISA положительно при SP > 0,299

^б Сыворотка оценивается в HI положительно при титре ≥ 1:10

AGP и ELISA показали сопоставимую чувствительность при обнаружении антител против вируса гриппа птиц через две недели после вакцинации. Положительные результаты в HI были зарегистрированы через три недели после вакцинации в группах 3 и 4, что указывает на меньшую чувствительность HI, по сравнению с AGP или ELISA.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Оцените результаты ProFLOK® AIV PLUS ELISA на основе следующих указаний:

1. Определите количество отрицательных, сомнительных и/или положительных проб сыворотки крови, используя диапазоны, приведенные в таблице ниже.

Примечание: для определения статуса сыворотки используйте Statistics Reports и Summary Reports программы ProFile3.

Диапазон S/P	Диапазон титра	Статус сыворотки
Менее 0,300	0,573	7,40
0,301–0,499	0,532	7,33
0,500 и более	0	6,67
270–569	0,538	7,77
570 и более	Отрицательная (-)	7,36

2. Установите статус стада в отношении наличия антител к AIV.

При интерпретации результатов необходимо помнить, что ProFLOK® AIV PLUS ELISA предназначен только для группового серологического обследования поголовья, а не индивидуальных анализов (менее 10 проб сыворотки крови).

Результаты оценки методом ELISA	Предполагаемый статус стада	Рекомендуемое действие
а. Все пробы сыворотки крови отрицательные	Антитела к AIV типа А отсутствуют	Проводить постоянный серологический мониторинг (например, каждые 4–6 недель)
б. Пробы отрицательные и сомнительные	Возможно отсутствие или наличие антител к AIV	Провести повторное серологическое обследование стада через 7–10 дней
в. Наличие хотя бы одной положительной пробы сыворотки крови	Антитела к AIV типа А присутствуют	Статус стада в отношении наличия AIV следует подтвердить дополнительными серологическими тестами и изоляцией вируса. Для подтверждения положительных результатов ELISA в США законодательно принято направлять сыворотки, положительные на AIV, в лабораторию Национальной ветеринарной службы (NVSL)

Литература

Easterday B.C. and Hinshaw V.S. Influenza, In: Diseases of Poultry (Editorial Committee of the American Association of Avian Pathologists). 9th ed. Iowa State university Press, Ames, Iowa. pp.532-551. 1991

Dotted lines for taking notes.

Dotted lines for taking notes.

ООО «Зоэтис»

123112, Москва, Пресненская набережная, 10, блок С

Тел: +7 (499) 922-30-22

Факс: +7 (499) 922-30-21