3. Использование интрагастральных методов исследования в изучении пищеварения у телят / М. М. Наумов, Н. М. Наумов, М. Р. Швецова [и др.] // Инновационные решения в аграрной науке – взгляд в будущее : материалы XXIII международной научно-производственной конференции, Майский, 28–29 мая 2019 года. – Майский : Белгородский государственный аграрный университет имени В.Я. Горина, 2019. – Т. 2. – С. 38–40.

4. Наумов Н. Способ предупреждения диарейного синдрома у новорожденных телят / Н. Наумов, М. Наумов // Ветеринария сельскохозяйственных животных. – 2021. – № 12. – С. 43–46.

5. Наумов Н. М. Физиолого-биохимические аспекты профилактического применения микрокапсул полигуанидина телятам при нарушении пищеварения / Н. М. Наумов, М. М. Наумов, Г. Ф. Рыжкова [и др.]. – Курск : Курская государственная сельскохозяйственная академия им. И. И. Иванова, 2019. – 212 с.

6. Патент № 136681 U1 Российская Федерация. Устройство для санации воздуха животноводческих помещений / М.М. Наумов, Н.М. Наумов, И.А. Брусенцев ; заявитель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования Курская государственная сельскохозяйственная академия имени профессора И.И. Иванова Министерства сельского хозяйства Российской Федерации. – № 2013130587/13 ; заявл. 02.07.2013 ; опубл. 20.01.2014.

7. Патент № 2561531 C1 Российская Федерация. Способ санации воздуха животноводческих помещений / М.М. Наумов, Н.М. Наумов, И.А. Брусенцев ; заявитель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования Курская государственная сельскохозяйственная академия имени профессора И.И. Иванова Министерства сельского хозяйства Российской Федерации. – № 2014106456/13 ; заявл. 20.02.2014 ; опубл. 27.08.2015.

8. Рудов М. Н. Тиндализация – перспективная технология обработки молока / М. Н. Рудов, М. М. Наумов // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. – 2015. – № 2. – С. 41–42.

9. Способ профилактики расстройств пищеварения у новорожденных телят / М.М. Наумов, Г.Ф. Рыжкова, Н.М. Наумов [и др.] ; заявитель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Курская государственная сельскохозяйственная академия имени И.И. Иванова», Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Курский федеральный аграрный научный центр». – № 2018135218 ; заявл. 04.10.2018 ; опубл. 09.12.2019.

10. Naumov M. Antibiotic resistance is a common problem in medicine and veterinary / M. Naumov, L. Reznichenko, Y. Masalykina [et al.] // BIO Web of Conferences. – 2021. – Vol. 37.

DOI: 10.48612/sbornik-2026-1-28
УДК 619:578.823:636.5:573.6.086.83:57.083.3

ВАЛИДАЦИЯ ИФА-НАБОРА ДЛЯ ОБНАРУЖЕНИЯ АНТИТЕЛ К РЕОВИРУСУ ПТИЦ

Чвала Ирина Александровна, канд. биол. наук
Лазарева Светлана Петровна, канд. биол. наук
Андрейчук Дмитрий Борисович, канд. биол. наук
Чвала Илья Александрович, канд. вет. наук
ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных»,
г. Владимир, Российская Федерация

Реовирусная инфекция птиц вызывает значительные потери в птицеводстве во всем мире, что обуславливает важность проведения мониторинга этого заболевания. С целью контроля за распространением реовируса и оценки эффективности специфической профилактики была проведена работа по валидации усовершенствованного набора «ИФА-АТ-РЕО» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»). Отечественный иммуноферментный набор для выявления антител к реовирусу

птиц подтвердил свою конкурентоспособность в условиях импортозамещения.

Ключевые слова: реовирус птиц; антитела; валидация; набор ИФА

VALIDATION OF ELISA TEST KIT FOR DETECTION OF REOVIRUS ANTIBODIES

Chvala Irina Alexandrovna, PhD Biol. Sci.
Lazareva Svetlana Petrovna, PhD Biol. Sci.
Andreychuk Dmitry Borisovich, PhD Biol. Sci.
Chvala Ilya Alexandrovich, PhD Vet. Sci.
Federal Center for Animal Health, Vladimir, Russian Federation.

Avian reovirus infection causes significant economic losses to the poultry industry worldwide. Disease monitoring is very important task. Validation of «IFA-AT-PEO» test kit (FGBI "ARRIAH") for control the spread of reovirus and assess the effectiveness of their specific prevention was performed. A domestic enzyme-linked immunosorbent assay kit for detecting antibodies to avian reovirus has proven its competitiveness in the context of import substitution.

Keywords: avian reovirus; antibodies; validation; ELISA test-kit

Реовирусы птиц (РЕО) – это патогены рода Orthoreovirus, семейства Reoviridae, участвующие в развитии различных заболеваний, среди которых наиболее актуальными являются вирусный артрит-теносиновит, характеризующийся хромотой, связанной с воспалением сухожилий и суставов конечностей, снижением процента оплодотворяемости яиц, задержкой роста, что особенно актуально для бройлеров, а так же синдром мальабсорбции, способствующий высокой ранней смертности, плохому росту и кроме того снижающий эффективность применения живых вакцин [2, 3]. Восприимчивость к инфекции зависит от возраста, при этом цыплята являются наиболее уязвимыми, а устойчивость быстро возрастает по мере созревания птиц. [4]. Течение инфекционных болезней в скрытой или ассоциированной формах затрудняет проведение как диагностических, так и профилактических мероприятий.

В связи с этим, разработка и усовершенствование средств диагностики с целью повышения их чувствительности и специфичности имеет важное значение для контроля эффективности проводимых профилактических мероприятий и мониторинга невакцинированного поголовья для обеспечения контроля за распространением инфекции. В лабораторной практике для обнаружения антител к реовирусу птиц широко используют иммуноферментный анализ (ИФА). Целью нашей работы была валидация усовершенствованного диагностического набора, для подтверждения возможности использования его для выявления специфических антител к РЕО при скрининговых исследованиях.

Методика исследований. В работе использовали инактивированные референтные (Zoetis (США), GD, (Нидерланды), контрольные (производства ФГБУ «ВНИИЗЖ») и доставленные из птицефабрик в 2025 году сыворотки крови домашних птиц. В работе использовали коммерческие наборы производства ФГБУ «ВНИИЗЖ», IDEXX (США), Zoetis (США). Исследования проводили методом ИФА по общепринятой схеме с небольшими модификациями [1], а также с использованием коммерческих наборов (согласно инструкции производителя). При разработке набора и валидации использовали статистические методы анализа. Рассчитывали среднее значение, среднеквадратичное отклонение, стандартное отклонение, прецизионность (характеризовалась коэффициентом вариации), правильность (характеризовалась относительной величиной систематической погрешности) согласно ГОСТ Р ИСО 21748-2021. Все расчеты проводили в программе Microsoft Office Excel 2016.

Результаты исследований и их обсуждение. Была проведена работа по проверке основных валидационных характеристик усовершенствованного набора производства ФГБУ «ВНИИЗЖ». Проведены испытания по оценке чувствительности и специфичности с гомологичными и гетерологичными пробами сывороток кров и кур (таблица).

Таблица – Результаты исследования сывороток крови кур на наличие антител к РЕО с помощью усовершенствованного набора ИФА

№ пробы	Характеристика / статус образца	Результат эксперимента: титр антител /статус образца		Корреляция
		1 повторность	2 повторность	
1	сыворотки крови от здоровых не вакцинированных против реовируса кур (возраст птиц 60 дн.) (отр.)	67 (отр.)	65 (отр.)	+
2		79 (отр.)	83 (отр.)	+
3		12 (отр.)	13 (отр.)	+
4		49 (отр.)	45 (отр.)	+
5		115 (отр.)	129 (отр.)	+
6	сыворотки крови от кур (возраст птиц 88 дн.), экспериментально иммунизированных антигеном реовируса птиц в составе вакцины РЕО+ИББ (ФГБУ «ВНИИЗЖ»), через 28 суток после иммунизации (пол.)	3021 (пол.)	3252 (пол.)	+
7		816 (пол.)	718 (пол.)	+
8		941 (пол.)	861 (пол.)	+
9		915 (пол.)	931 (пол.)	+
10		816 (пол.)	799 (пол.)	+
11	сыворотки крови от кур (возраст птиц 189 дн.) вакцинированных в птицехозяйстве против реовируса, через 2 месяца после иммунизации (пол.)	2881 (пол.)	2921 (пол.)	+
12		2166 (пол.)	2122 (пол.)	+
13		1486 (пол.)	1502 (пол.)	+
14		2230 (пол.)	2262 (пол.)	+
15		1901 (пол.)	2005 (пол.)	+
16	сыворотки крови от кур (возраст птиц 225 дн.) вакцинированных в птицехозяйстве против реовируса, через 3 месяца после иммунизации (пол.)	1610 (пол.)	1720 (пол.)	+
17		1206 (пол.)	1345 (пол.)	+
18		959 (пол.)	1002 (пол.)	+
19		1153 (пол.)	954 (пол.)	+
20		2230 (пол.)	2185 (пол.)	+
21	гипериммунная сыворотка крови кур к Mycoplasma gallisepticum с. 020525 (ФГБУ «ВНИИЗЖ») (отр.)	89 (отр.)	94 (отр.)	+
22	гипериммунная сыворотка крови кур к Mycoplasma synoviae, с. 020525 (ФГБУ «ВНИИЗЖ») (отр.)	100 (отр.)	120 (отр.)	+
23.	нормальная сыворотка крови кур с. 020525 (ФГБУ «ВНИИЗЖ») (отр.)	87 (отр.)	66 (отр.)	+
24	нормальная сыворотка крови кур (Zoetis, США) (отр.)	55 (отр.)	61 (отр.)	+
25	гипериммунная сыворотка крови кур к вирусу гриппа птиц, с. 020925 (ФГБУ «ВНИИЗЖ») (отр.)	24 (отр.)	36 (отр.)	+
26	гипериммунная сыворотка крови кур к вирусу ньюкаслской болезни птиц, с. 031025 (ФГБУ «ВНИИЗЖ») (отр.)	100 (отр.)	94 (отр.)	+
27	гипериммунная сыворотка крови кур к пневмовирусу птиц, с. 010625 (ФГБУ «ВНИИЗЖ») (отр.)	111 (отр.)	77 (отр.)	+
28	гипериммунная сыворотка крови кур к реовирусу птиц, с. 010725 (ФГБУ «ВНИИЗЖ») (пол.)	812 (пол.)	806 (пол.)	+

Статус проб, доставленных из птицефабрик был предварительно определен в ИФА с применением коммерческих наборов IDEXX (США), Zoetis (США). Рассчитанные чувствительность и специфичность разработанного набора относительно реакции коммерческого набора Zoetis для качественных результатов составили 100 %.

Оценка валидационных характеристик включала проверку правильности исследований, промежуточной прецизионности в условиях повторяемости (сходимости результа-

тов), неопределенности и промежуточной прецизионности в условиях воспроизводимости (воспроизводимость исследований). Правильность оценивали, как точность совпадения заданных и полученных характеристик образцов, она составила 100 %. Для определения показателя сходимости оценивали результаты, полученные при исследовании каждого контрольного образца в десяти повторностях в одних и тех же условиях измерения (оборудование, оператор, лаборатория и короткий промежуток времени, т.е. в условиях повторяемости). Для оценки воспроизводимости показателей измерений контрольные образцы исследовали на протяжении 2 дней на одной и той же серии набора в десяти повторностях каждого, разными исполнителями. Коэффициент вариации для сходимости составил 3,99 %, для воспроизводимости – 6, 52 %.

Для расчета неопределенности в процессе проведения валидационного эксперимента определяли коэффициент вариации, для этого использовали значения титра антител, полученные при исследовании слабоположительной сыворотки крови (статус сыворотки предварительно определен тестированием набором Zoetis), которую исследовали в 10 повторностях. Рассчитанное количественное значение коэффициента вариации составило – 9,8 %, что показывает незначительную изменчивость вариационного ряда: относительно не больший разброс и выравненность исследуемых значений.

Выводы. Проведена работа по оценке основных валидационных характеристик усовершенствованного набора на основе иммуноферментного метода. Анализ результатов показал высокий уровень диагностической и относительной специфичности, чувствительности и эффективности, что позволяет использовать его для серологического мониторинга при оценке поствакцинального иммунитета и проведения скрининговых исследований. Высокая чувствительность и специфичность диагностического набора «ИФА-АТ-РЕО», подтверждает его конкурентоспособность зарубежным аналогам, что дает возможность его использования в условиях импортозамещения.

Список литературы

1. Enzyme-linked immunosorbent assay. Measurement of antibody activity titer against Newcastle disease virus in a single serum dilution / D. G. Snyder, W. W. Marquardt, E. T. Mallinson [et al.] // Avian Diseases. – 1983. – Vol. 27. – P. 161–170.

2. Markis M. Evaluation of Pathogenicity and Antigenicity of Avian Reoviruses and Disease Control Through Vaccination / M. Markis // Avian Diseases. – 2022. – Vol. 66. – P. 435–442.

3. Mirbagheri S. A. Molecular characterization of avian reovirus causing tenosynovitis outbreaks in broiler flocks, Iran / S. A. Mirbagheri, H. Hosseini, A. Ghalyanchilangeroudi // Avian Pathology. – 2020. – Vol. 49. – P. 15–20.

4. Montgomery R. D. Role of route of exposure, age, sex, and type of chicken on the pathogenicity of avian reovirus strain 81-176 / R. D. Montgomery, P. Villegas, S. H. Kleven // Avian Diseases. – 1986. – Vol. 30. – P. 460–467.

DOI: 10.48612/sbornik-2026-1-29
УДК 619:616.98:579.841.93-07

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ МЕТОДОВ ДИАГНОСТИКИ БРУЦЕЛЛЕЗА ЖИВОТНЫХ

Шакибаев Ерден Бахитбекович, докторант
Нургазиев Рысбек Зырылдыкович, д-р вет. наук
Кыдырова Гульзира Несипбековна, докторант
Кобдикова Гульмира Макатаевна, докторант
Орынбаева Бибизада Мухитовна, аспирант
Бойко Галина Викторовна, аспирант
Кыргызский Национальный аграрный универститет им. К. И. Скрябина, г. Бишкек, Кыргызская Республика