

Полтав. держ. аграр. акад. – Полтава, 2005. – 54 с. 13. Методичні рекомендації щодо застосування розчину полтавського бішофиту у ветеринарній медицині та тваринництві [Текст] / В.П. Бердник [та ін.]. – Полтава, 2012. – 19 с. 14. Тітаренко О.В. Поширення, біологічні властивості збудника та удосконалення профілактики сальмонельозу свиней [Текст] [Текст] : автореф. дис. ... канд. вет. наук / О.В. Тітаренко. – Полтава, 2005. – 20 с. 15. Экспериментально-клиническое обоснование применения минерала бишофит в дерматологической практике [Текст] / А.А. Спасов [и др.] // Вестн. дерматологии и венерологии. – 2001. – № 1. – С. 24–28. 16. Энтеробактерии [Текст] : рук. для врачей / И.В. Голубьева [и др.] ; под ред. В.И. Покровского. – М. : Медицина, 1985. – 321 с.

## THE RESULTS OF EXPERIMENTAL STUDIES OF THE PROPERTIES OF THE SOLUTION OF THE POLTAVA BISHOFITA AS THE DRUG FOR USE IN VETERINARY MEDICINE

*Berdnik V.P., Kit A.A., Rakovska J.O.*

*Poltava State Agrarian Academy, Poltava*

*Were presented the final results of experimental studies in the Poltava State Agrarian Academy of Poltava bishofita properties of the solution as a drug for use in veterinary medicine.*

УДК 619:616.98:578.831.31

## РОЗРОБЛЕННЯ Й ВИПРОБУВАННЯ ТЕСТ-НАБОРУ «РЕПРОСУІСКРИН-ІЕКВМ» ДЛЯ СЕРОМОНІТОРИНГУ ЕМЕРДЖЕНТНИХ ІНФЕКЦІЙ СВИНЕЙ

*Бузун А.І., Прохорятова О.В., Кучеряевко Р.О., Заремба О.В., Стегній М.Ю., Герілович А.П., Солоніна Н.Л.*

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

*Северин Р.В.*

*Харківська державна зооветеринарна академія, м. Харків*

Приховане носійство свинями збудників репродуктивно-респіраторного синдрому (РРСС), цирковірусної (ЦВІС), пестивірусних інфекцій – класичної чуми свиней (КЧС) і вірусної діареї ВРХ (ВД), а також хвороб Ауескі (ХА), Тешена (ХТ) й інших, пов'язано з наростанням титру відповідних антитіл до та після інфікування чи видужання окремих особин, та реєструється за феноменом сероконверсії стада [1]. На цьому феномені засновано концепцію «виявив-вилучив», з англ. «Test-and-removal», на засадах якої проводяться сучасні протиепізоотичні заходи [2]. Проте у свинарстві України цей підхід використовується дуже вибірково та майже виключно за умов епізоотичного спалаху. Згідно з концепціями емерджентної репродуктивно-неонатальних інфекцій (РНІС) та вірусних нейроінфекцій свиней [3, 4], що розроблені в ННЦ «ІЕКВМ», останнє створює сприятливі умови для формування у свиногосподарстві сталих асоціацій зазначених збудників з місцевою мікрофлорою: а отже для поширення у свинарстві України емерджентних мікс-інфекцій – хвороб свиней, стійких до традиційних протиепізоотичних заходів.

Рішення проблеми ліквідації осередків емерджентних РНІС ми бачимо, зокрема, на шляху впровадження на рівні свиногосподарств та/або районних діагностичних лабораторій простих і бюджетно доступних діагностичних тестів – аналогів «back-yard tests», що активно використовуються закордонною ветслужбою. З широкого розмаїття відомих на сьогодні експрес-тестів, ми зупинили вибір на реакції пасивної гемаглютинації (РПГА), визнаній в Україні ще у 1960–1980-х роках за простий, високо чутливий та доступний за собівартістю (бюджетощадний) діагностичний тест. Відомими недоліками РПГА є деяка нестандартність діагностикумів, що зумовлює проблеми з відтворюваністю результатів і стоїть на заваді широкого використання цієї реакції [5].

**Метою** нашої роботи було створення набору «РепроСуіСкрин-ІЕКВМ» для серомоніторингу РНІС на основі РПГА, але з урахуванням методичних підходів, що забезпечують стандартність та відтворюваність результатів на рівні твердофазового імуноферментного аналізу.

**Матеріали та методи досліджень. Віруси та вірусні антигени.** Вірус репродуктивно-респіраторного синдрому свиней (РРСС), штам «Lelystad», накопичений у титрі 7,0 ІД<sub>50/см<sup>3</sup></sub> у альвеолярних макрофагах свині (АМС). Нуклеокапсидний антиген вірусу РРСС виготовляли за протоколом, розробленим Cho HJ та ін. (1996) у нашій модифікації [6]. Другий тип цирковірусу свиней (ЦВС-2), штам «1010», накопичений у титрі 7,0 ІД<sub>50/см<sup>3</sup></sub> в АМС. Антиген ЦВС-2 виготовляли за тою ж процедурою, що й антиген вірусу РРСС. Вірус хвороби Ауескі (ВХА), штам «18в-УНДІ-ЕВ», з інфекційною активністю 7,5 ІД<sub>50/см<sup>3</sup></sub>, що адаптовані до перещеплюваної лінії культури клітин нирки ембріона свині – РК-15 та культури клітин тестікул поросят – ПТП. Нуклеокапсидний антиген вірусу ХА виготовляли за методом Scherba G. та ін. (1983) [12] у модифікації О.М. Цимбала та ін. (1992) [13]. Вірус класичної чуми свиней (ВКЧС), штам «К лапінізований» (вакцина «АСВ»), з інфекційною активністю 6,0 ІД<sub>50/см<sup>3</sup></sub>, адаптований до перещеплюваних клітин РК-15 та ПТП. В якості антигену використовували надосад клітинного детриту, зібраного на 4–5 добу після зараження моношару ПТП. Вірус діареї великої рогатої худоби (ВД), штам «ВК-1», з інфекційною активністю 7,0 ІД<sub>50/см<sup>3</sup></sub>, адаптований до перещеплюваних клітин ПТП. В якості антигену використовували надосад клітинного детриту, зібраного після появи у моношарі клітин перших ознак цитопатичної дії (ЦПД).

**Сироватки.** референтні сироватки РРСС, КЧС, ЦВІС та ХА, позитивні й негативні отримано з Референс-центру МЕБ-ФАО по КЧС, РРСС та ХА при Національному центрі ветеринарних досліджень (м. Пулава, Польща). Специфічні сироватки проти вірусів РРСС, ЦВІС та ХА (позитивні контролю РПГА) виготовляли на 3-х групах поросят 1–1,5-місячного віку зі стада, вільного від ХА, ЦВІС та РРСС, шляхом їх гіперімуназації відповідними вірусними антигенами, зазначеними вище, у суміші з оливним ад'ювантом (спосіб патентується). Суміш сироваток цих поросят, відібраних до процедури імуназації, слугувала негативним контролем РПГА. Польові сироватки отримували у перебігу обстеження свиногосподарств Одеської, Херсонської, Миколаївської, Запорізької, Донецької, Харківської та Луганської областей, неблагополучних щодо репродуктивно-неонатальних інфекцій. Їх використовували для перевірки в РПГА після дослідження комерційними діагностикумами для імуноферментного аналізу (ELISA).

**Діагностикуми.** Набори діагностикумів ELISA для хвороби Ауескі та цирковірусної інфекції свиней виробництва НВО «НАРВАК» (Російська Федерація), а також репродуктивно-респіраторного синдрому свиней та КЧС виробництва IDEXX (Сполучені Штати Америки) використовували згідно з чинними настановами.

Еритроцитарний діагностикум (ЕД) для виявлення антитіл до збудників РРСС, ЦВІС, КЧС, ВД та ХА готували, як описано раніше [5, 6], за виключенням того, що з метою підвищення фізичної витривалості та запобігання посилення самоаглютинації в перебігу зберігання еритроцити додатково обробляли аніліновим барвником (спосіб патентується). До складу набору «РепроСуіСкрин-ІЕКВМ» крім еритроцитарних діагностикумів РРСС, ЦВІС, пестивірусних інфекцій (КЧС і ВД) та ХА входили сироватки крові свиней проти збудників зазначених хвороб (позитивні сироватки), а також нормальна сироватка крові свиней (негативна сироватка), сорбент для адсорбції проб сироваток (10 % суспензія еритроцитів), буферна сольова суміш, спеціально підготовані стандартні 96-лунокві полістиролові U-планшети.

Перед постановкою РПГА досліджувані проби сироваток розбавляли фізіологічним розчином (ФР) 1:5 – шляхом внесення 25 мкл проби в лунки стандартного U-планшету, наповнені ФР у обсязі 100 мкл/лунку. Потім у ці лунки вносили по 25 мкл 10 % суспензії еритроцитів і очікували до їх повного осідання (приблизно півгодини). З надосадів у кожній лунці з адсорбованими пробями сироватки у решті лунок планшета робили їх двократні серійні розведення на РПГА-розчиннику, приготованому з буферно-сольової суміші набору та внесеному по 50мкл/лунку. Потім у кожну лунку з розведеннями сироваток у обсязі 25 мкл вносили еритроцитарний діагностикум у робочому розведенні. Для приготування робочого розведення відповідного еритроцитарного діагностикуму на кожні його 2,5 мл (обсяг, необхідний для оброблення одного планшету) 2,0 мл РПГА-розчинника змішували з 0,5 мл концентрованого діагностикуму з набору, який зберігався за температури мінус (8–10) °С. На кінцевому етапі постановки РПГА планшет вручну струшували та ставили у горизонтальному положенні до повного осідання еритроцитів. Контролями реакції слугували ряди лунок з розведеннями негативної (контроль специфічності діагностикуму) й позитивної сироваток (контроль чутливості й відтворюваності реакції), а також 4 лунки з РПГА-розчинником (контроль впливу на реакцію розчинника).

Корелятивний аналіз отриманих результатів проводили засобами пакету комп'ютерних програм «Microsoft Office Excel 2003».

**Результати досліджень.** Стандартність діагностикумів і відтворюваність результатів ELISA забезпечується за рахунок: по-перше, фізичної стабільності кон'югатів за умов зберігання (фізичної витривалості), по-друге, інертності твердої фази (планшетів) щодо баластних речовин проби, по третє, застосуванням у буферних системах субстанцій, що запобігають неспецифічній взаємодії антигену з антитілом. Тож найважливішими завданнями розроблення тест-набору «РепроСупіСкрин-ІЕКВМ» були: 1 – удосконалення синтезу еритроцитарних діагностикумів шляхом перетворення еритроцитів на напівсинтетичний ліганд, який ковалентно зв'язує антитіла, максимально позбавлено здатності до самоаглютинації в широкому діапазоні кислотності, сольової молярності розчинів і різновидів води, а також є витривалим до зберігання за умов побутового холодильника за температури (4±0,5) °С; 2 – модифікація планшетів для РПГА з метою створення імунохімічно інертної реакційної поверхні лунок; 3 – підбір складу РПГА-розчинника, який би забезпечував максимальну специфічність реакції «антиген-антитіло».

У таблиці 1 узагальнено результати контролювання самоаглютинації 1 %-вих еритроцитів, що модифіковані різними хімікатами і зберігалися 9 міс. за умов побутового холодильника за температури від мінус 10 °С до мінус 12 °С. Антифризом для зберігання еритроцитів за негативних температур слугував 30–50 % р-н гліцерину.

**Таблиця 1 – Результати контролювання самоаглютинації 1%-вих еритроцитів**

№№ з/п	Спосіб фіксації еритроцитів	Кількість серій	Результати випробування еритроцитів після зберігання за температури через							
			4 °С				мінус 10 °С			
			0 міс.	1 міс.	3 міс.	9 міс.	0 міс.	1 міс.	3 міс.	9 міс.
1	Формалін	3	0000	0000	0000	++++	0000	0000	0000	++++
2	Акролеїн	2	0000	0000	0000	++++	0000	0000	0000	0000
3	Глутаральдегід	5	0000	0000	0000	++++	0000	0000	0000	0000
4	Аніліновий барвник 1	3	0000	++++	++++	++++	0000	0000	++++	++++
5	Аніліновий барвник 2	2	0000	++++	++++	++++	0000	0000	++++	++++
6	Аніліновий барвник 3	5	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000

**Примітка:** 0000 – утворення еритроцитарного осаду у вигляді «парасольки»; ++++ – утворення еритроцитарного осаду у вигляді «гудзика».

З таблиці видно, що еритроцити, які оброблені аніліновим барвником № 3 за умов зберігання у побутовому холодильнику (за температури (4±0,5) °С) як за позитивних, так і негативних температур (від мінус 10 до мінус 12 °С) упродовж 9 місяців (термін спостереження), мали таку ж витривалість проти гемолізу (у воді), як і еритроцити зафіксовані альдегідами. Методом мікроскопії виявлено, що їх поверхня більш гладка, ніж у еритроцитів, які були оброблені будь-яким з використаних альдегідів. У таблиці 1 наведено результати контролювання аутоаглютинації еритроцитів у ФР. У забуференому фізрозчині з компонентами, які зазвичай використовуються в ELISA-розчиннику, аутоаглютинація еритроцитів, оброблених альдегідами, проявлялася вже через три місяці зберігання за мінус 10 °С та через місяць – за температури (4±0,5) °С. Еритроцити, що були оброблені аніліновим барвником, за цих умов не аглютинувалися впродовж усього терміну спостереження (9 міс.). Більше того, на відміну від оброблених альдегідами, вони не аглютинувалися за рН 5,0 та рН 8,7, а також за рН 7,4 у присутності 0,3 М NaCl та в автоклавованій воді з водогону.

Для ковалентного зв'язування антитіл з поверхнею еритроцитів було обрано метод Avrameas. S (1969), який свого часу успішно застосовувався для синтезу імуноферментних кон'югатів. Подальші дослідження показали, що оптимальні чіткість (формування чітких «гудзиків» і «парасольок») і тривалість реакції (30–45 хв), крім еритроцитарних діагностикумів, виготовлених з використанням барвника, забезпечуються обробкою планшетів філером – спеціальним буферним розчином для блокування адсорбуючої активності поверхні лунок, а також застосуванням у якості РПГА-розчинника буферного розчину з вмістом альбуміну свині та твіну 20.

Особливу увагу на підготовчій фазі досліджень звернено на стабілізацію та підготовку до дослідження проб сироваток (плазми) крові свиней. У результаті підбору рецептури стабілізатора було встановлено, що для тривалого (не менше 3-х місяців за температури від 4 до 10 °С і не менше 6-и місяців за температури морозильника, мінус (10–12) °С) зберігання проб (зокрема з метою їх наступної перевірки підтверджуючим методом) стабілізатор має містити гліцерин, консервуючу речовину та антисептик (n=7 серій досліджень, по 20–45 проб сироваток чи плазми крові свиней у кожній). Оптимальною для підготовки проб до титрування в РПГА була їх абсорбція 10 %-вою зависю фіксованих еритроцитів у співвідношенні 50 мкл зазначеної зависі: 150 мкл проби сироватки чи плазми крові свині.

У таблиці 2 узагальнено результати паралельного дослідження в РПГА та ELISA адсорбованих референтних, контрольних і польових (стабілізованих) сироваток крові свиней з різним умістом антитіл проти вірусів РРСС, ЦВІС, КЧС, ВД та ХА (n=21). Для більш точного порівняння результатів ELISA ставили за схемою титрування сироваток (від 1:25, крок 2), з візуальним обліком результатів. Кожне дослідження проводили у 3-х повторях. З таблиці видно, що референтні сироватки та позитивні контролі для РПГА були майже однаково активними в обох порівнюваних реакціях. Найвищі рівні кореляції між РПГА та ELISA спостерігалися при використанні еритроцитарних антигенів РРСС, КЧС та ВД (цитоплазматичні антигени), коефіцієнт кореляції у даному порівнянні склав  $R_{(РПГА/ELISA)} = 0,97-0,99$  (n=21, 18, 11 відповідно, при  $P \leq 0,01$ ). Титри сироваток у порівнюваних тест-системах РПГА та ELISA на ЦВІС та ХА корелювали дещо менше:  $R_{(РПГА/ELISA)} = 0,76-0,78$  (n=21,  $P \leq 0,01$ ). Очевидно, що через це загальний рівень кореляції між РПГА та ELISA у порівнюваних тест-системах РРСС, ЦВІС, КЧС, ВД та ХА за результатами проведених досліджень становив

### Розділ 9. Біотехнологія

$R_{(РПГА/ELISA)} = 0,78$  ( $n=92$ ,  $P \leq 0,005$ ). Якщо з розрахунків виключити результати по ЦВІС (порівняння еритроцитарного діагностикуму ЦВІС з тест-системою НВО «Нарвак»), то коефіцієнт кореляції значно збільшується:  $R_{(РПГА/ELISA)} = 0,94$  ( $n=71$ ,  $P \leq 0,005$ ).

**Таблиця 2** – Результати титрування референтних і польових сироваток у гомологічних тест-системах ELISA та з ЕД «РепроСу-іСкрін-ІЕКВМ»

№ з/п	Проби сироваток	Метод	Титри антитіл проти збудників					Коефіцієнт кореляції $R_{(РПГА/ELISA)}$
			РРСС	ЦВІС	КЧС	ВД	ХА	
1	Реф. с-ка РРСС	ELISA	1/400	0	н.д.	н.д.	0	0,78
		РПГА	1/100	0	0	0	0	
2	Реф. с-ка ЦВІС	ELISA	0	1/1600	н.д.	н.д.	0	
		РПГА	0	1/800	0	0	0	
3	Реф. с-ка КЧС	ELISA	0	0	1/100	н.д.	0	
		РПГА	0	0	1/100	0	0	
4	Реф. с-ка ВД	ELISA	0	0	1/25	1/400	0	
		РПГА	0	0	1/50	1/200	0	
5	Реф. с-ка ХА	ELISA	0	0	н.д.	н.д.	1/100	
		РПГА	0	0	0	0	1/100	
6	Польова сироватка 1	ELISA	1/100	1/1600	1/100	н.д.	1/100	
		РПГА	1/25	1/800	1/100	1/25	1/50	
7	Польова сироватка 2	ELISA	1/1600	0	0	н.д.	1/25	
		РПГА	1/800	0	0	1/50	1/25	
8	Польова сироватка 3	ELISA	1/25	1/1600	1/50	1/1600	0	
		РПГА	0	1/1600	1/25	1/800	0	
9	Польова сироватка 4	ELISA	0	1/400	1/25	1/400	0	
		РПГА	0	1/800	1/25	1/400	0	
10	Польова сироватка 5	ELISA	1/25	1/400	0	н.д.	1/100	
		РПГА	1/25	1/200	0	1/25	1/50	
11	Польова сироватка 6	ELISA	0	0	1/25	1/200	0	
		РПГА	0	0	1/25	1/200	0	
12	Польова сироватка 7	ELISA	0	1:200	0	н.д.	1/400	
		РПГА	0	1:50	0	1/25	1/400	
13	Польова сироватка 8	ELISA	1/25	1:50	0	н.д.	1/200	
		РПГА	1/25	1:50	0	1/50	1/200	
14	Польова сироватка 9	ELISA	0	0	0	н.д.	1/800	
		РПГА	0	0	0	0	1/200	
15	Польова сироватка 10	ELISA	1/800	1/50	0	0	1/25	
		РПГА	1/400	1/50	0	0	1/25	
16	Позитивна с-ка РРСС	ELISA	1/200	0	0	0	0	
		РПГА	1/200	0	0	0	0	
17	Позитивна с-ка ЦВІС	ELISA	1/25	1/200	0	0	0	
		РПГА	1/25	1/200	0	0	0	
18	Позитивна с-ка КЧС	ELISA	0	0	1/200	1/25	0	
		РПГА	0	0	1/200	1/25	0	
19	Позитивна с-ка ВД	ELISA	0	0	1/25	1/400	0	
		РПГА	0	0	1/25	1/200	0	
20	Позитивна с-ка ХА	ELISA	0	0	0	0	1/100	
		РПГА	0	0	0	0	1/100	
21	Негативна с-ка	ELISA	0	0	0	0	0	
		РПГА	0	0	0	0	0	
Всього сироваток		n	21	21	18	11	21	n = 92
Коефіцієнт кореляції $R_{(РПГА/ELISA)}$			0,99	0,78	0,98	0,97	0,76	-

У порівнянні з референтними тест-системами ELISA (фірми IDEXX щодо РРСС, ХА, КЧС та ВД і НВО «Нарвак» щодо ЦВІС) специфічність виготовлених за удосконаленим методом еритроцитарних діагностикумів склала 100 %. За чутливістю еритроцитарні діагностикуми поступалися імунопероксидазним – навіть за умов візуального обліку результатів ELISA, який у 2–3 рази поступається фотометричному. Так, чутливість РПГА «Ат-РРСС» з використанням випробовуваного еритроцитарного діагностикуму становила 50–67 % від чутливості ELISA-РРСС (IDEXX); чутливість РПГА-ЦВІС – 78–88 % від чутливості ELISA-ЦВІС (Нарвак); чутливість РПГА-КЧС – 85–92 % від чутливості ELISA-КЧС (IDEXX); чутливість РПГА-ВД – 60–75 % від чутливості ELISA-ВД (IDEXX); чутливість РПГА-ХА – 90–95 % від чутливості ELISA-ХА (IDEXX).

Отже, на підставі даних випробування РПГА для серомоніторингу РПС, ЦВІС, КЧС, ВД та ХА, отриманих у порівнянні з комерційним ELISA, як референс-тестом, з 3-разовою відтворюваністю за рівнем титрів і за специфічністю, можна зробити висновок, що розроблені еритроцитарні діагностикуми та в цілому тест-система «РепроСуіСкрин-ІЕКВМ» готові до широких доклінічних випробувань з метою впровадження у ветеринарний супровід свинарства недорогого польового експрес-тесту для оцінки напруженості епізоотичної ситуації в режимі «реального часу».

На сьогодні свинарству України, де значну частку інфекційної патології складають асоційовані вірусно-бактерійні інфекції, саме такий моніторинговий метод, на нашу думку, допоможе. Бо він доступний для ветеринарної служби свиного господарств, низових і приватних діагностичних лабораторій, допоможе наблизитись до втілення сучасного протиепізоотичного принципу «виявив-вилучив». Низька собівартість процедури виявлення антитіл у РПГА робить цей метод придатним для використання у малобюджетних програмах масових досліджень (скринінгу) сироваток (плазми) крові свиней, як це зараз широко застосовується у промисловому свинарстві [7]. Більше того, такий підхід допоможе забезпечити контролювання не лише небезпечних для свинарства, але й програмних для медицини антропоозонозів [8, 9], що радикально підвищить біологічну цінність продуктів свинарства. Безумовно, результати РПГА, як про це свідчать отримані нами дані та як це широко обговорюється у світовій літературі, потребують підтвердження більш надійними та інформативними методами [10, 11]. Для вітчизняного свинарства, на нашу думку, на сьогодні найбільш надійними, як підтверджуючі тести, є продукти міжнародної фірми IDEXX. На відміну від інших продуктів виробників (зокрема НВО «Нарвак»), ці продукти містять антигенні детермінанти, що найбільш наближені до природних («цитоплазматичних» антигенів вірусів).

**Висновки.** Результати, що отримані, можна узагальнити у наступних висновках:

1. Розроблено імпортозаміщуючу бюджетощадну діагностичну тест-систему «РепроСуіСкрин-ІЕКВМ» для серомоніторингу РПС, ЦВІС, КЧС, ВД та ХА у свинарстві методом РПГА, яка за простотою та швидкістю постановки є придатною для використання у якості скринінгового експрес-тесту.

2. Коефіцієнт кореляції результатів запропонованої тест-системи РПГА з результатами ELISA на основі найбільш надійних і доступних в Україні комерційних продуктів (фірма IDEXX) становив  $R_{(РПГА/ELISA)} = 0,94$  ( $n=84$ ,  $P \leq 0,005$ ).

**Перспективи подальших досліджень.** Технології виготовлення еритроцитарних антигенів РПС, ХА, ХТ, ЦВІС, КЧС та ВД можуть бути адаптовані для промислового виробництва.

Розроблені процедури виробництва діагностикумів можуть бути пристосовані на договірній основі до технологічних ліній вітчизняних і закордонних біологічних підприємств.

#### Список літератури

1. Identifying reservoirs of infection: a conceptual and practical challenge [Text] / D.T. Haydon [at al.] // Emerg. Infect. Dis. – 2002. – Vol. 8. – P. 1468–1473.
2. Surveillance, Prevention, Control and Eradication of Viral Diseases. Chapter 15 of “Veterinary Virology” [Text] / F.A. Murphy [at al.]. – 3rd ed. – London : Academic Press, 2000. – P. 259–273.
3. Методичні рекомендації щодо визначення та контролювання стійких форм репродуктивних та неонатальних інфекцій свиней, затв. Наук.-метод. радою Держ. комітету вет. медицини України від 23.12.2010 (протокол № 1) [Текст] / Б.Т. Стегній [та ін.]. – Х., 2010. – 36 с.
4. Бузун, А.І. Прогнозування та ліквідація стійких форм хвороби Тешена, затв. Наук.-метод. радою Держ. комітету вет. медицини України від 19.12.2009 (протокол № 3) [Текст] / А.І. Бузун, Б.Т. Стегній, С.П. Долецький. – Х., 2010. – 30 с.
5. World Health Organization. Passive hemagglutination test // WHO Tech. Rep. Ser. – 1970. – Vol. 447. – P. 23–25.
6. Розроблення комплексної схеми серомоніторингу репродуктивно-респіраторного синдрому свиней [Текст] / А. І. Бузун [та ін.] // Вет. медицина : міжвід. темат. наук. зб. – Х., 2012. – Вип. 96. – С. 150–153.
7. Diseases of swine [Text] / A.D. Leman [at al.]. – 6th ed. – Iowa State University Press, Ames, IA. – P. 683–687.
8. A novel virus in swine is closely related to the human hepatitis E virus. [Text] / X.J. Meng [at al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. – 1997. – № 94(18). – P. 9860–9865.
9. West Nile virus surveillance in Ontario [Text] / M. Fearon [at al.] // American Society for Microbiology; Florida; May 2001.
10. Diseases of swine [Text] / ed. A.D. Leman [at al.]. – 6th ed. – Iowa State University Press, Ames, IA, 1992. – P. 683–687.
11. Indirect-hemagglutination-test [Electronic resource]. – Access mode : <http://www.textmed.com/unknown/indirect-hemagglutination-test>. – Title from the screen.
12. Scherba, G Pseudorabies virus nucleocapsid antigen for skin testing in swine [Text] / G. Scherba, J.J. Turek, D.P. Gustafson // J. Clin. Microbiol. – 1983. – Vol. 17, №.3. – P. 539–544.
13. Тимчасова інструкція по виготовленню і контролю Аулергіну для прижиттєвого виявлення свиней-вірусоносіїв при хворобі Ауескі [Текст] / О.М. Цимбал [та ін.] ; ІЕКВМ УААН. – Х., 1992. – 37 с.

#### DEVELOPMENT AND TESTING OF TEST-KIT «REPROSUISCREEN-IECVM» FOR SEROMONITORING OF PIGS EMERGENT INFECTIONS

*Buzun A.I., Prohoryatova O.V., Kucheryavenko R.O., Zarembo O.V., Stegnyy M.Yu., Gerilovich A.P., Solonina N.L.*

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

*Severyn R.V.*

*Kharkiv State Zooveterinary Academy, Kharkiv*

*Were designed a laboratory regulations of making erythrocytic diagnosticum for the detection of antibodies to the virus – Aujeszky's disease, Teschen disease, classical swine fever and bovine viral diarrhea viruses, agents of porcine circovirus infection and porcine reproductive and respiratory syndrome.*