ThermoFisher
SCIENTIFIC
The world leader in serving science

Thermo Fisher Scientific
Life Technologies
3 Fountain Drive
Inchinnan Business Park
0141 814 6100
www.thermofisher.com

To whom it may concern,

Confidential

January 12, 2018

Dear Customer,

I would like with this document to draw your attention on the publicly available official and well recognized publications in the FMDV scientific world; related to our product uses for the surveillance/control and eradication of the Foot and Mouth disease in several countries of the world.

The performance of the test was extensively validated by The Pirbright Institute, UK (World Reference Laboratory (FAO), EURL and OIE Reference Laboratory for FMD) and many other references laboratories around the world.

You can find in annex of this letter as the ultimate validation the official Summary of performance and our track record for the following products:

PrioCHECK® FMDV Type Asia 1 ELISA
PrioCHECK® FMDV Type A ELISA
PrioCHECK® FMDV Type O ELISA

As you can see in the related official publication, the recent FMDV outbreaks in Europe have been dealt with our FMDV solutions and we currently count the reference lab (OIE) as one of our many customers worldwide.

We are the partner of choice with many FMDV references lab across the world and will be the supplier of those references lab in the event of an outbreak.

Should you have any questions, please do not hesitate to contact us for further details

Sincerely,

Damien MAGNEE
Project Leader Animal Health &
CIS Technical Specialist

PrioCHECK® FMDV Type Asia 1 ELISA: Summary of Performance

Introduction

Foot and Mouth Disease (FMD) is the most important economic threat to the livestock industry. The highly contagious disease affects all cloven-hoofed animals and is wide-spread over the world.
PrioCHECK® FMDV type Asia 1 allows detection of serum antibodies to the FMDV type Asia 1 in cattle, pigs, goats and sheep. The test is designed to obtain a minimum of reaction steps, allows mass screening and is suitable for automation. The performance of the test was extensively validated by The Pirbright Institute, UK (World Reference Laboratory (FAO), EURL and OIE Reference Laboratory for FMD) and by MSD, Merck Animal Health.
Validations were performed on cattle, sheep, goat and pig sera. Sera were either field samples or derived from infection experiments. More than 200 positive goat samples, 400 sheep samples and over 600 swine and cattle samples were tested.
The results from these validations showed that the PrioCHECK® FMDV type Asia 1 ELISA detects all FMDV Asia subtypes tested and also detected several type A strains. The FMDV Asia subtypes can be detected in all cloven-hoofed animal species tested, including cattle, buffalo, pigs, sheep and goats.
The diagnostic specificity of the PrioCHECK® FMDV type Asia 1 ELISA test is 99% or more for all species. Furthermore, the test showed a good diagnostic sensitivity in cattle and sheep and thus the test represents an excellent screening tool for the detection of FMD Asia outbreaks in a herd.

Principle of Test

The PrioCHECK® FMDV type Asia 1 is a blocking ELISA and detects antibodies (Ab) against Foot and Mouth Disease Virus serotype A. The reaction between FMDV type Asia 1 antigen and a specific monoclonal antibody (mAb) is blocked by specific antibodies that are present in the test sample. The test follows a four step protocol, consisting of Sample Preparation, Sample Incubation, Conjugate Incubation and Detection.

A microtiter plate is coated with non-infectious FMDV type Asia 1 antigen. Buffer and serum are added to the wells. The plate is incubated at room temperature. After washing the mAb-HRPO conjugate is added to the plate and the plate is incubated at room temperature. The plate is washed and Chromogen (TMB) Substrate is added. After incubation color development is stopped by adding Stop Solution and the optical density (OD) is measured at 450 nm.

Validation of the diagnostic assay

The performance of the test was extensively validated by The Pirbright Institute, UK (World Reference Laboratory (FAO), EURL and OIE Reference Laboratory for FMD) and by MSD, Merck Animal Health.

Validations were performed on cattle, sheep, goat and pig sera. Sera were either field samples or derived from infection experiments. More than 200 positive goat samples, 400 sheep samples and over 600 swine and cattle samples were tested. Validations were

performed on cattle, sheep, goat and pig sera. Sera were either field samples or derived from infection experiments. More than 200 positive goat samples, 400 sheep samples and over 600 swine and cattle samples were tested.

Analytical Specificity of the PrioCHECK® FMDV type Asia 1 ELISA

The diagnostic specificity of the PrioCHECK® FMDV Type Asia 1 ELSA was assessed using sera from animals naturally or experimentally infected with different subtypes of FMDV.

FMD Strain	PrioCHECK FMDV Type Asia 1
Asia Shamir	+
Asia 348-1	+
Asia Ban 5 87	+
Asia Ban 2 96	+
Asia Ban 4 96	+

Figure 1: The PrioCHECK® FMDV Type Asia 1 kit recognizes all tested Asia 1 subtypes.

FMD Strain	PrioCHECK FMDV Type Asia 1
A22 Irak	+/-
A5	+
A22 Pir	-
A10 Holl	-
A24	+
A87	-
A Alb 96	-
A Mal 97	+
A Saudi 93	-
A Iran 96	+
A Iran 97	-
A Iran 99	+

Figure 2: The PrioCHECK®FMDV Type Asia 1 kit shows cross reactivity with several FMDV type A strains.

FMD Strain	PrioCHECK FMDV Type Asia 1
01-kaufburen	-
O Manissa	-
O 95/96	-
O Iran 97	-
O Ban 21/87	-
O Ban 3 96	-
O Ban 5 96	-
O Ban 1 97	-
O 363	+/-
Sat 1 8001	-
Sat 2 Uga2	-

Figure 3: The PrioCHECK® FMDV Type Asia 1 kit cross-reacts only slightly with the FMDV O subtype O 363.

Diagnostic Sensitivity and Specificity of PrioCHECK® FMDV Type Asia 1

The diagnostic performance of the PrioCHECK® FMDV Type Asia 1 was validated on more than 200 positive goat samples, 400 sheep samples and over 600 swine and cattle samples. The overview of the diagnostic performance is shown in Figure 4.

Type Asia 1[1]	Diagnostic Specificity [%][1]	Diagnostic Sensitivity [%][2]
Cattle	99.4-100	>90-98
Pigs	99.4-100	n.d.
Sheep	100	100
Goats	100	n.d
[1]NRL Netherlands/ [1/2]Pirbright		

Figure 4: The diagnostic specificity of the PrioCHECK® FMDV Type Asia 1 test is 99% or higher for all species. The test showed good diagnostic sensitivity in cattle and sheep. Determination of diagnostic sensitivity for goat and pigs is ongoing.

PrioCHECK® FMDV Type A ELISA: Summary of Performance

Introduction

Foot and Mouth Disease (FMD) is the most important economic threat to the livestock industry. The highly contagious disease affects all cloven-hoofed animals and is wide-spread over the world.

PrioCHECK® FMDV type A allows detection of serum antibodies in cattle, pigs, goats and sheep. The test is designed to obtain a minimum of reaction steps, allows mass screening and is suitable for automation. The performance of the test was extensively validated by The Pirbright Institute, UK (World Reference Laboratory (FAO), EURL and OIE Reference Laboratory for FMD) and by MSD, Merck Animal Health.

Validations were performed on cattle, sheep, goat and pig sera. Sera were either field samples or derived from infection experiments. More than 200 positive goat samples, 400 sheep samples and over 600 swine and cattle samples were tested.
The results from these validations showed that the PrioCHECK® FMDV Type A ELISA detects all FMDV A subtypes tested and showed only limited cross reactivity with Asia strains (in this experiment only with Asia Shamir). The FMDV A subtypes can be detected in all cloven-hoofed animal species tested, including cattle, buffalo, pigs, sheep and goats.
The diagnostic specificity of the PrioCHECK® FMDV Type A ELISA test is 99% or more for all species. Furthermore, the test showed a good diagnostic sensitivity in cattle and sheep and thus the test represents an excellent screening tool for the detection of FMD A outbreaks in a herd.

Principle of Test

The PrioCHECK® FMDV type A is a blocking ELISA and detects antibodies against Foot and Mouth Disease Virus serotype A. The reaction between FMDV type A antigen and a specific monoclonal antibody (mAb), is blocked by specific antibodies that are present in the test sample. The test follows a four step protocol, consisting of Sample Preparation, Sample Incubation, Conjugate Incubation and Detection.
A microtiter plate is coated with non-infectious FMDV type A antigen. Buffer and serum are added to the wells. The plate is incubated at room temperature. After washing the mAb-HRPO conjugate is added to the plate and the plate is incubated at room temperature. The plate is washed and Chromogen (TMB) Substrate is added. After incubation color development is stopped by adding Stop Solution and the optical density (OD) is measured at 450 nm.

Validation of the diagnostic assay

The performance of the PrioCHECK® FMDV type A ELISA was extensively validated by The Pirbright Institute, UK (World Reference Laboratory (FAO), EURL and OIE Reference Laboratory for FMD) and by MSD, Merck Animal Health.
Validations were performed on cattle, sheep, goat and pig sera. Sera were either field samples or derived from infection experiments. More than 200 positive goat samples, 400 sheep samples and over 600 swine and cattle samples were tested.

Analytical Specificity of the PrioCHECK® FMDV type A ELISA

The diagnostic specificity of the PrioCHECK FMDV type A ELSA was assessed using sera from animals naturally or experimentally infected with different subtypes of FMDV.

FMD Strain	PrioCHECK FMDV Type A
Asia Shamir	+
Asia 348-1	-
Asia Ban 5 87	-
Asia Ban 2 96	-
Asia Ban 4 96	-

Figure 1: The PrioCHECK® FMDV Type A cross reacts only with the Asia Shamir subtype.

FMD Strain	PrioCHECK FMDV Type A
A22 Irak	+
A5	+
A22 Pir	+
A10 Holl	+
A24	+
A87	+
A Alb 96	+
A Mal 97	+
A Saudi 93	+
A Iran 96	+
A Iran 97	+
A Iran 99	+

Figure 2: The PrioCHECK® FMDV Type A kit recognizes all tested FMDV A subtypes.

FMD Strain	PrioCHECK FMDV Type A
01-kaufburen	-
O Manissa	+
O 95/96	-
O Iran 97	-
O Ban 21/87	-
O Ban 3 96	-
O Ban 5 96	-
O Ban 1 97	-
O 363	-
Sat 1 8001	-
Sat 2 Uga2	-

Figure 3: The PrioCHECK® FMDV Type A kit cross-reacts only with the FMDV O subtype O Manissa.

Diagnostic Sensitivity and Specificity of PrioCHECK® FMDV Type A

The diagnostic performance of the PrioCHECK® FMDV Type A was validated on more than 200 positive goat samples, 400 sheep samples and over 600 swine and cattle samples. The overview of the diagnostic performance is shown in Figure 4.

Type A[1]	Diagnostic Specificity [%][1]	Diagnostic Sensitivity [%][2]
Cattle	99.0-100	>80-90
Pigs	99.7-100	n.d.
Sheep	98.9-100	n.d
Goats	100	n.d
[1]NRL Netherlands/ [1/2]Pirbright		

Figure 4: The diagnostic specificity of the PrioCHECK® FMDV Type A test is 99% or higher for all species. The tests show good diagnostic sensitivity in cattle. Determination of diagnostic sensitivity for sheep, goat and pigs is ongoing.

PrioCHECK® FMDV Type O ELISA: Summary of Performance

Introduction

This Summary of Performance shall give an overview of the performance of the PrioCHECK® FMDV Type O ELISA.
In many publication the assay is referred as Ceditest® FMDV Type O ELISA

Ceditest® FMDV type O

VALIDATION PERFORMED BY OTHER LABORATORIES

Validation done during a workshop organised by the FAO-EUFMD Commission in Sofia, Bulgaria from 18-22 March 2002

Sera used for the validation

- Sera from cattle in Turkey (N=107) vaccinated with a trivalent vaccine (O1 Manisa, A22 and Asia 1)
- Sera from an outbreak in Bulgaria in 1993 (n=27)
- Sera from FAO Phase 16 (n=17) of which 2 of type O vaccinated animals.
- Three sera from type O infected animals from Greece
- Sera from negative cattle from Greece (n=15)
- Sera from negative sheep from Greece (n=9)

Results

Of the sera from Turkey 101 of the 107 scored positive. From the Bulgarian outbreak all 27 animal scored positive. From FAO phase 16 the sera from the type O vaccinated animals were positive, the others were negative. Additionally the type O infected animals from Greece scored positive. All sera of the negative cattle and sheep from Greece scored negative. The test was repeatable amongst participants and considered being very robust.

Validation performed by CODA-CERVA-VAR, Belgium, February 2002

Sera used for the validation

- Sera used to determine the specificity
  - Sheep sera from one farm (n=80)
  - Pig sera from 1 farm (n=32)

- Cattle sera from 20 different farms (n=152)

- Sera used to determine the sensitivity
  - Sequential sera of 2 calves vaccinated with O1 Manisa starting from day 3 post vaccination until day 63 post vaccination

- To determine the test variation, a mixture of serum of three bovids vaccinated with monovalent vaccine O1, A5 and C1 was used. This mixture was used undiluted and in dilutions of 1:3, 1:10, 1:20, 1:30 and 1:40. Additionally monovalent serum O and C were used and serum of a negative bovid. Well-to-well variation (Table 1) and plate-to-plate variation (not shown) of one lot was determined.

Results

Specificity
Of the sera used to determine the specificity only the serum of one bovid tested positive giving specificity's with this limited panel of:

100% in pigs	(0/33)
100% in sheep	(0/80)
99.6% in cattle	(1/152)

Sensitivity
Considering the sensitivity both calves tested positive from day 3 post vaccination until the end of the sampling period (63 days post vaccination)

Test variation

Table 1:The mean % of inhibition and the standard deviation of diluted and undiluted sera tested randomly in one plate

Dilution	Mean % inhibition	Standard deviation
undiluted	94.9	1
1:3	83.9	2.2
1:10	60.8	3.3
1:20	46.9	2.4
1:30	36.7	2.7
1:40	30.8	2,6

Validation performed by World Reference Laboratory of FMDV in Pirbright, England

Sera used for the validation

- Sequential sera from 1 sheep inoculated with FMDV O1 Greece 94

- Field sera from a flock of sheep suspected with FMD during the 2001 outbreak (n=80)
- Cattle vaccinated with O1 Manisa 0, 5, 14 and 21 days post vaccination (n=60)
- Pigs vaccinated with O1 Manisa 0, 21 and 28 days post vaccination (n=36)

Results

The sequential sera from 1 sheep inoculated with FMDV type O1 Greece 94

Table 1: Serial bleed from one sheep inoculated with FMDV type O1 Greece 94

Days post infection	% inhibition SPC*-Elisa with O1 Manisa as antigen	% inhibition in Ceditest® FMDV type O
0	0	-1
1	0	1
2	0	-1
3	0	9
4	0	8
5	43	42
6	*58*	**57**
8	**66**	**78**
9	**76**	**80**
10	**85**	**82**
12	**90**	**95**
14	**88**	**98**
16	**88**	**90**
20	**88**	**95**
23	**86**	**96**

Percentage inhibition of > 50% is considered positive <50% negative in the Ceditest (+ bold figures). In the SPC-Elisa percentage inhibition of > 60% is positive ,< 50% is negative and in between is inconclusive.
**SPC-Elisa= solid phase competition Elisa*

Field sera

Of a flock of suspected sheep 80 field sera were collected and tested in the virus neutralisation test (VNT), the SPC-Elisa and in the Ceditest® FMDV type O.
In the VNT a titre of >45 is considered to be positive and of <11 is considered to be negative, titres in between are inconclusive. In the SPC-Elisa, inhibition percentages of >60% are considered positive, <50% negative and in between inconclusive. In the Ceditest inhibition percentages of >50% are considered positive and <50% negative. Of the 80 sheep 68 tested negative in as well the Ceditest® FMDV type O as in the VNT, 10 sheep tested positive in both the assays. Two sheep tested inconclusive in the VNT of which one was positive and one was negative in the Ceditest ®FMDV type O. All sheep that tested positive in the Ceditest were also positive in the SPC-Elisa. Tree sheep that tested inconclusive in the SPC-Elisa were negative in the VNT and in the Ceditest. One sheep that tested positive in the SPC-Elisa was negative in t as well the VNT as in the Ceditest.

Sera from cattle vaccinated with O1 Manisa

Table 2: Cattle vaccinated with O1 Manisa.

Animal	Days post vaccination	Antibody titre in VNT	% inhibition in the Ceditest® FMDV type O
1	0	Neg	0
	21	**1/64**	**91**
2	0	Neg	-2
	21	**1/64**	**61**
3	0	Neg	14
	21	**1/90**	**84**
4	0	Neg	7
	21	*1/22*	32
5	0	Neg	10
	21	**1/512**	**87**
6	0	Neg	9
	21	**1/64**	**62**
7	0	Neg	1
	21	*1/32*	34
8	0	Neg	-1
	21	*1/22*	47
9	0	Neg	0
	21	*1/22*	**58**
10	0	Neg	20
	21	**1/128**	**85**
11	0	Neg	4
	21	*1/32*	43
12	0	1/22	2
	21	Neg	46
13	0	Neg	17
	21	*1/32*	**59**
14	0	Neg	-1
	21	*1/22*	48
15	0	Neg	-1
	21	*1/32*	**57**

Bold figures are positive, inconclusive VNT titres are in italic.

All sera positive in the VNT (titre >45) were also positive in the Ceditest® type O. Of the 8 sera with inconclusive VNT titres (between11-45) 3 scored positive in the Ceditest® FMDV type O.

Sera from pigs vaccinated with O1 Manisa

Results are presented in Table 3

Table 3: Pigs vaccinated with O1 Manisa

Pig	Days post vaccination	Antibody titre in VNT	% inhibition in SPC-Elisa O1 Manisa as antigen	% inhibition in the Ceditest ®FMDV type O
1	0	Neg	6	0
	28	Neg	*59*	**50**
2	0	Neg	6	-2
	28	Neg	**64**	**56**
3	0	Neg	7	-1
	28	Neg	**62**	**58**
4	0	Neg	17	-1
	28	1/16	**90**	**95**
5	0	Neg	14	-3
	28	Neg	40	43
6	0	Neg	16	-4
	28	Neg	**83**	**70**
7	0	Neg	15	-1
	28	Neg	33	36
8	0	Neg	10	-3
	28	Neg	*54*	35
9	0	Neg	9	-2
	28	Neg	**69**	**78**
10	0	Neg	29	-1
	28	Neg	*54*	**51**
11	0	Neg	16	1
	28	Neg	10	0
12	0	Neg	18	0
	28	Neg	15	-2

Percentage inhibition of > 50% is considered positive <50% negative in the Ceditest (+ bold figures). In the SPC-Elisa percentage inhibition of > 60% is considered positive , <50% is negative and in between is inconclusive.

In pigs the VNT seems to be a very insensitive test when compared to both the SPC-Elisa and the Ceditest® FMDV type O ELISA.

ThermoFisher
SCIENTIFIC
The world leader in serving science

Thermo Fisher Scientific
Life Technologies
3 Fountain Drive
Inchinnan Business Park
0141 814 6100
www.thermofisher.com

По месту требования

Конфиденциально

12.01.2018

Уважаемый клиент,

Этим документом обращаю ваше внимание на общедоступные, официальные и общепризнанные публикации в научном мире по болезни ящура; связанные с использованием нашего продукта для наблюдения/контроля и искоренения болезни ящура в некоторых странах мира.

Производительность теста была широкомасштабно валидирована Институтом Пирбрайт, Великобритания (Мировой Референтной Лабораторией (Пищевая и Сельскохозяйственная организация), Референтной лабораторией ЕС и Референтной Лабораторией МЭБ по болезни ящура) и многими другими референтными лабораториями по всему миру.

Вы можете найти в приложении к этому письму официальное резюме производительности и результаты нашей успешной деятельности в качестве окончательного подтверждения для следующих продуктов:

ИФА набор по определению противоящурных антител типа Азия 1 PrioCHECK®
ИФА набор по определению противоящурных антител типа А PrioCHECK®
ИФА набор по определению противоящурных антител типа О PrioCHECK®

Как вы видите в соответствующей официальной публикации, недавние вспышки вируса ящура в Европе были разрешены с использованием нашей продукции по болезни ящура и на данный момент референтная лаборатория (МЭБ) является одним из наших многочисленных клиентов по всему миру.

Мы являемся предпочтительными партнерами для многих референтных лабораторий по вирусу ящура в мире и будем служить поставщиками для таких лабораторий в результате вспышек болезни ящура.

Если у вас возникнут какие-либо вопросы, пожалуйста, обращайтесь к нам за дополнительной информацией.

С уважением,

Damien MAGNEE
Руководитель Проекта по Ветеринарии и Технический специалист по СНГ

ИФА набор по определению противоящурных антител типа Азия 1 PrioCHECK®
Резюме производительности

Введение

Вирус ящура (FMD) является наиболее серьезной экономической угрозой для животноводства. Высоко контагиозное заболевание поражает всех парнокопытных животных и широко распространено по всему миру.
ИФА набор по определению противоящурных антител типа Азия 1 PrioCHECK® позволяет выявлять сывороточные антитела к ящура типа Азия 1 у КРС, свиней, коз и овец. Тест предназначен для использования с минимальным количеством этапов, для массового скрининга и пригоден для автоматизации. Производительность теста была широкомасштабно валидирована Институтом Пирбрайт, Великобритания (Мировой Референтной Лабораторией (Пищевая и Сельскохозяйственная организация), Референтной лабораторией ЕС и Референтной Лабораторией МЭБ по болезни ящура) и MSD, Merck Animal Health. Валидации производительности данного набора были проведены на сыворотках КРС, овец, коз и Одобрения были выполнены в сыворотке крови на крупном рогатом скоте, овцах, козлах и свиней. Сыворотки были получены из полевых образцов, либо из инфекционных экспериментов. Было протестировано более чем 200 положительных козлиных образцов, 400 овечьих образцов и свыше 600 образцов свиней и КРС.
Результаты этих проверок показали, что ИФА набор по определению противоящурных антител типа Азия 1 PrioCHECK® выявляет все тестируемые подтипы вируса ящура, а также обнаруживает несколько штаммов ящура типа А. Все подтипы ящура типа Азия могут быть выявлены у всех тестируемых парнокопытных животных, включая КРС, буйволов, свиней, овец и коз.
Диагностическая специфичность ИФА теста по определению противоящурных антител типа Азия 1 PrioCHECK® составляет 99% и более для всех видов.
Более того, тест показал хорошую диагностическую чувствительность у КРС и овец, и в связи с этим, тест представляет собой превосходный скрининговый инструмент для обнаружения вспышек вируса ящура типа Азия в стаде.

Принцип теста

ИФА набор по определению противоящурных антител типа Азия 1 PrioCHECK® это блокирующий ИФА тест, который выявляет антитела против вируса ящура серотипа А. Реакция между антигеном вируса ящура типа Азия 1и специфическим моноклональным антителом блокируется специфическими антителами, которые присутствуют в тестируемом образце. Тест выполняется согласно четырех шаговому протоколу: приготовление образца, инкубация образца, инкубация с коньюгатом и детекция.

Микротитрационная планшета покрыта неинфекционным вирусом ящура антигена типа Азия 1. В лунки планшета добавляются буферный раствор и сыворотка. Планшет инкубируется при комнатной температуре. После промывки в планшету добавляют конъюгат mAb-HRPO и инкубируют при комнатной температуре. Пластина промывается и добавляется субстрат Хромогена (ТМБ). После инкубации, проводится остановка изменения цвета путем добавления стоп-реагента и проводятся замеры оптической плотности (ОП) при 450 нм.

Валидация (проверка) диагностического анализа

Производительность данного была широкомасштабно валидирована Институтом Пирбрайт, Великобритания (Мировой Референтной Лабораторией (Пищевая и Сельскохозяйственная организация), Референтной лабораторией ЕС и Референтной Лабораторией МЭБ по болезни ящура) и MSD, Merck Animal Health. Валидации производительности данного набора были

проведены на сыворотках КРС, овец, коз и Одобрения были выполнены в сыворотке крови на крупном рогатом скоте, овцах, козлах и свиней. Сыворотки были получены из полевых образцов, либо из инфекционных экспериментов. Было протестировано более чем 200 положительных козлиных образцов, 400 овечьих образцов и свыше 600 образцов свиней и КРС.

Аналитическая специфичность ИФА набора по определению противоящурных антител типа Азия 1 PrioCHECK®

Диагностическая специфичность ИФА набора по определению противоящурных антител типа Азия 1 PrioCHECK® была оценена с использованием сыворотки крови животных естественно или экспериментально инфицированных разными подтипами вируса ящура.

Штамм ящура	ИФА набор по определению противоящурных антител типа Азия 1 PrioCHECK®
Азия Shamir	+
Азия 348-1	+
Азия Ban 5 87	+
Азия Ban 2 96	+
Азия Ban 4 96	+

Таблица 1: ИФА набор по определению противоящурных антител типа Азия 1 PrioCHECK® распознает все протестированные подтипы Азия 1.

Штамм ящура	ИФА набор по определению противоящурных антител типа Азия 1 PrioCHECK®
A22 Irak	+/-
A5	+
A22 Pir	-
A10 Holl	-
A24	-
A87	+
A Alb 96	-
A Mal 97	+
A Saudi 93	-
A Iran 96	+
A Iran 97	-
A Iran 99	+

Таблица 2: ИФА набор по определению противоящурных антител типа Азия 1 PrioCHECK® показывает перекрестную реактивность с несколькими штаммами вируса ящура типа А.

Штамм ящура	ИФА набор по определению противоящурных антител типа Азия 1 PrioCHECK®
01-kaufburen	-
O Manissa	-
O 95/96	-
O Iran 97	-
O Ban 21/87	-
O Ban 3 96	-
O Ban 5 96	-
O Ban 1 97	-
O 363	+/-
Sat 1 8001	-
Sat 2 Uga2	-

Таблица 3: ИФА набор по определению противоящурных антител типа Азия 1 PrioCHECK® слегка перекрестно реагирует только с вирусом ящура О подтип О 363.

Диагностическая чувствительность и специфичность ИФА набора по определению противоящурных антител типа Азия 1 PrioCHECK®

Диагностическая производительность ИФА набора по определению противоящурных антител типа Азия 1 PrioCHECK® была проверена на более чем 200 позитивных козлиных образцах, 400 овечьих образцах и свыше 600 образцах свиней и КРС. Общие сведения по диагностической производительнсоти даны в таблице 4:

Тип Азия 1[1]	Диагностическая специфичность [%][1]	Диагностическая чувствительность [%][2]
Крупный рогатый скот	99.4-100	>90-98
Свиньи	99.4-100	н.о.
Овцы	100	100
Козы	100	н.о.
[1]НСЛ Нидерланды/ [½]Пирбрайт		

Таблица 4: Диагностическая специфичность ИФА теста по определению противоящурных антител типа Азия 1 PrioCHECK® 99% или выше для всех видов. Тест показал хорошую диагностическую чувствительность для КРС и овец. Определение диагностической чувствительности для коз и свиней еще ведется.

ИФА набор по определению противоящурных антител типа А PrioCHECK®
Резюме производительности

Введение

Вирус ящура (FMD) является наиболее серьезной экономической угрозой для животноводства. Высоко контагиозное заболевание поражает всех парнокопытных животных и широко распространено по всему миру.

ИФА набор по определению противоящурных антител типа А PrioCHECK® позволяет выявлять сывороточные антитела к ящура типа А у КРС, свиней, коз и овец. Тест предназначен для использования с минимальным количеством этапов, для массового скрининга и пригоден для автоматизации. Производительность теста была широкомасштабно валидирована Институтом Пирбрайт, Великобритания (Мировой Референтной Лабораторией (Пищевая и Сельскохозяйственная организация), Референтной лабораторией ЕС и Референтной Лабораторией МЭБ по болезни ящура) и MSD, Merck Animal Health. Валидации производительности данного набора были проведены на сыворотках КРС, овец, коз и Одобрения были выполнены в сыворотке крови на крупном рогатом скоте, овцах, козлах и свиней. Сыворотки были получены из полевых образцов, либо из инфекционных экспериментов. Было протестировано более чем 200 положительных козлиных образцов, 400 овечьих образцов и свыше 600 образцов свиней и КРС.

Результаты этих проверок показали, что ИФА набор по определению противоящурных антител типа А PrioCHECK® выявляет все тестируемые подтипы вируса ящура, а также обнаруживает несколько штаммов ящура типа А. Все подтипы ящура типа Азия могут быть выявлены у всех тестируемых парнокопытных животных, включая КРС, буйволов, свиней, овец и коз.

Диагностическая специфичность ИФА теста по определению противоящурных антител типа А PrioCHECK® составляет 99% и более для всех видов.

Более того, тест показал хорошую диагностическую чувствительность у КРС и овец, и в связи с этим, тест представляет собой превосходный скрининговый инструмент для обнаружения вспышек вируса ящура типа А в стаде.

Принцип теста

ИФА набор по определению противоящурных антител типа А PrioCHECK® это блокирующий ИФА тест, который выявляет антитела против вируса ящура серотипа А. Реакция между антигеном вируса ящура типа Азия 1и специфическим моноклональным антителом блокируется специфическими антителами, которые присутствуют в тестируемом образце. Тест выполняется согласно четырех шаговому протоколу: приготовление образца, инкубация образца, инкубация с коньюгатом и детекция.

Микротитрационная планшета покрыта неинфекционным вирусом ящура антигена типа А. В лунки планшета добавляются буферный раствор и сыворотка. Планшет инкубируется при комнатной температуре. После промывки в планшету добавляют конъюгат mAb-HRPO и инкубируют при комнатной температуре. Пластина промывается и добавляется субстрат Хромогена (ТМБ). После инкубации, проводится остановка изменения цвета путем добавления стоп-реагента и проводятся замеры оптической плотности (ОП) при 450 нм.

Валидация (проверка) диагностического анализа

Производительность данного набора была широкомасштабно валидирована Институтом Пирбрайт, Великобритания (Мировой Референтной Лабораторией (Пищевая и Сельскохозяйственная организация), Референтной лабораторией ЕС и Референтной Лабораторией МЭБ по болезни ящура) и MSD, Merck Animal Health. Валидации

производительности данного набора были проведены на сыворотках КРС, овец, коз и Одобрения были выполнены в сыворотке крови на крупном рогатом скоте, овцах, козлах и свиней. Сыворотки были получены из полевых образцов, либо из инфекционных экспериментов. Было протестировано более чем 200 положительных козлиных образцов, 400 овечьих образцов и свыше 600 образцов свиней и КРС.

Аналитическая специфичность ИФА набора по определению противоящурных антител типа А PrioCHECK®

Диагностическая специфичность ИФА набора по определению противоящурных антител типа А PrioCHECK® была оценена с использованием сыворотки крови животных естественно или экспериментально инфицированных разными подтипами вируса ящура.

Штамм ящура	ИФА набор по определению противоящурных антител типа А PrioCHECK®
Азия Shamir	+
Азия 348-1	-
Азия Ban 5 87	-
Азия Ban 2 96	-
Азия Ban 4 96	-

Таблица 1: ИФА набор по определению противоящурных антител типа А PrioCHECK® перекрестно реагирует только с подтипом Азия Shamir.

Штамм ящура	ИФА набор по определению противоящурных антител типа Азия 1 *PrioCHECK®*
A22 Irak	
A5	+
A22 Pir	+
A10 Holl	+
A24	+
A87	+
A Alb 96	+
A Mal 97	+
A Saudi 93	+
A Iran 96	+
A Iran 97	+
A Iran 99	+

Таблица 2: ИФА набор по определению противоящурных антител типа А PrioCHECK® распознает все тестируемые подтипы вируса ящура А.

Штамм ящура	ИФА набор по определению противоящурных антител типа Азия 1 PrioCHECK®
01-kaufburen	-
O Manissa	+
O 95/96	-
O Iran 97	-
O Ban 21/87	-
O Ban 3 96	-
O Ban 5 96	-
O Ban 1 97	-
O 363	-
Sat 1 8001	-
Sat 2 Uga2	-

Таблица 3: ИФА набор по определению противоящурных антител типа А PrioCHECK® перекрестно реагирует только с вирусом ящура О подтип Manissa.

Диагностическая чувствительность и специфичность ИФА набора по определению противоящурных антител типа Азия 1 PrioCHECK®

Диагностическая производительность ИФА набора по определению противоящурных антител типа А PrioCHECK® была проверена на более чем 200 позитивных козлиных образцах, 400 овечьих образцах и свыше 600 образцах свиней и КРС. Общие сведения по диагностической производительнсоти даны в таблице 4:

Тип А[1]	Диагностическая специфичность [%][1]	Диагностическая чувствительность [%][2]
Крупный рогатый скот	99.0-100	>80-90
Свиньи	99.7-100	н.о.
Овцы	98.9-100	н.о.
Козы	100	н.о.
[1]НСЛ Нидерланды/ [½]Пирбрайт		

Таблица 4: Диагностическая специфичность ИФА теста по определению противоящурных антител типа А PrioCHECK® 99% или выше для всех видов. Тест показал хорошую диагностическую чувствительность для КР. Определение диагностической чувствительности для овец, коз и свиней еще ведется.

ИФА набор по определению противоящурных антител типа О PrioCHECK®: Резюме Производительности

Введение

Это резюме производительности дает общие сведения о производительности ИФА набора по определению противоящурных антител типа О PrioCHECK®
Во многих публикациях данный набор указывается как ИФА набор по определению противоящурных антител типа О Ceditest®

ИФА набор по определению противоящурных антител типа О Ceditest®

Валидация/Проверка выполнена другими лабораториями

Валидация данного набора была проведена во время семинара, организованного ВОП-ЕКСВЯ в Софье, Болгария с 18-22 Марта 2002

Сыворотка использованная для валидации

- Сыворотка КРС из Турции (N=107) вакцинированная тривалентной вакциной (О1 Манисса, А22 и Азия1)
- Сыворотка со вспышки в Болгарии в 1993 (n=27)
- Сыворотка с ВОП Фаза 16 (n=17) которой 2 типа О вакцинированных животных.
- *Три сыворотки инфицированных вирусом ящура типа О животных из Греции*
- Сыворотка отрицательного КРС из Греции (n=15)
- Сыворотка отрицательных овец из Греции (n=9)

Результаты

101 образцов из 107 сывороток из Турции показали положительный результат. Все 27 животных из выборки со вспышки в Болгарии дали положительный результат. С выборки ВОП фаза 16 сыворотки вакцинированных ящуром типа О животных были положительными, другие были отрицательными. Дополнительно, животные инфицированные ящуром типа О показали положительный результат. Все сыворотки, полученные от отрицательных КРС из Греции были отрицательными. Тест может быть повторен и считается очень точным.

Валидация проведенная CODA-CERVA-VAR, Бельгия, Февраль 2002

Сыворотка использованная для проверки

Сыворотка, использованная для определения специфичности
- Овечья сыворотка с одной фермы (n=80)
- Свиная сыворотка с 1 фермы (n=32)
- Сыворотка крупного рогатого скота с 20 разных ферм (n=152)

Сыворотка, использованная для определения чувствительности
- Последовательные сыворотки, полученные от 2 телят, вакцинированных О1 Manissa начиная с дня 3 поствакцинации до дня 63 поствакцинации
- Смесь сыворотки трех быков, вакцинированных с моновалентной вакциной О1, А5 и С1 была использована чтобы определить тестовую вариацию. Эта смесь была использована в неразбавленном и в разбавленном виде: 1:3, 1:10, 1:20, 1:30 и 1:40. Дополнительно были

использованы моновалентная сыворотка О и С и сыворотка отрицательного быка. Были определены полная (лунка к лунке) вариация (Таблица 1) и планшет-планшетная вариация (не показано) одного лота.

Результаты

Специфичность

Из сывороток, использованных, чтобы определить специфичность только сыворотки одного быка дало положительный результат с ограниченной панелью специфичности:

100 % в свиньях (0/33)
100% в овцах (0/80)
99.6% в крупном рогатом скоте (1/152)

Чувствительность

Рассматривая чувствительность оба протестированных теленка, показали положительный результат с 3 дня поствакцинации до конца образцового периода (63 дня поствакцинации)

Тестовая вариация

Таблица 1: Средний % ингибирования и стандартного отклонения разбавленной и неразбавленной сыворотки, протестированного методом случайного выбора в одной планшете

Разбавление	Средний % ингибирования	Стандартное отклонение
неразбавленный	94.9	1
1:3	83.9	2.2
1:10	60.8	3.3
1:20	46.9	2.4
1:30	36.7	2.7
1:40	30.8	2.6

Валидация выполненная Всемирной Референтной Лабораторией по вирусу ящура в Пирбрайт, Англия

Сыворотка, использованная для проверки

- Последовательная сыворотка от 1 овцы привитой вирусом ящура типа О1 Греция 94
- Полевая сыворотка со стада овец, с потенциальной болезнью ящура во время вспышки 2001 года (n=80)
- Крупный рогатый скот, вакцинированный с О1 Manissa на 0, 5, 14 и 21 дней поствакцинации (n=60)
- Свиньи, вакцинированные с О1 Manissa на 0, 21 и 28 дней поствакцинации (n=36)

Результаты

Последовательная сыворотка от 1 овцы привитой вирусом ящура тип О1 Греция 94

Таблица 1: Серийный выпуск от одной овцы привитой вирусом ящура тип О1 Греция 94

Дни поствакцинации	%ингибирования SPC-ИФА с O1 Manissa антигеном	%ингибирования ИФА набора по определению противоящурных антител типа O Ceditest®
0	0	-1
1	0	1
2	0	-1
3	0	9
4	0	8
5	43	42
6	58	**57**
8	**66**	**78**
9	**76**	**80**
10	**85**	**82**
12	**90**	**95**
14	**88**	**98**
16	**88**	**90**
20	**88**	**95**
23	**86**	**96**

Процентовк ингибирования >50% рассматривается как положительный и <50% как отрицательный результат для Ceditest® (+полужирные знаки). В процентовке ингибирования SPC-ИФА >60% положительный, а <50% отрицательный результат и значения между ними – рассматриваются как неточные результаты.
SPC-ИФА = solid phase competition ИФА

Полевые сыворотки

80 полевых сывороток были коллекционированы и протестированы в реакции нейтрализации вируса (РНВ), SPC-ИФА и в ИФА тесте по определению противоящурных антител типа O Ceditest® из стада овец подозреваемых на наличие вируса ящура.
В РНВ титр >45 рассматривается положительным, и <11 отрицательным, значения титров между ними неубедительны. В SPC-ИФА, процентовки ингибирования >60% рассматриваются положительными, <50% отрицательными, значения между ними как неточные результаты. В ИФА тесте по определению противоящурных антител типа O Ceditest® процентовки ингибирования >50% рассматриваются положительными и <50% отрицательными результатами. Из 80 овец 68 протестированных овец показали отрицательный результат как для ИФА теста по определению противоящурных антител типа O Ceditest® так и для РНВ, и 10 образцов показали положительный результат по двум тестам. Все протестированные овцы с положительным результатом выявленным ИФА набором по определению противоящурных антител типа O Ceditest® также показали положительный результат с SPC-ИФА. 3 протестированных овечьих образца давших неточный результат с SPC-ИФА (между 50-60%) показали отрицательный результат с РНВ и ИФА набором по определению противоящурных антител типа O Ceditest®. Один овечий образец с положительным результатом в SPC-ИФА, был отрицательным также с РНВ и ИФА набором по определению противоящурных антител типа O Ceditest®.

Сыворотка из крупного рогатого скота, вакцинированного с O1 Manissa

Таблица 2: Крупный рогатый скот, вакцинированный с O1 Manissa.

Животное	Дни пост вакцинации	Титр антитела в РНВ	% ингибирования с ИФА набором по определению противоящурных антител типа О Ceditest®
1	0 21	Отриц **1/64**	0 **91**
2	0 21	Отриц **1/64**	-2 **61**
3	0 21	Отриц **1/90**	14 **84**
4	0 21	Отриц 1/22	7 32
5	0 21	Отриц **1/512**	10 **87**
6	0 21	Отриц **1/64**	9 **62**
7	0 21	Отриц 1/32	1 34
8	0 21	Отриц 1/22	-1 47
9	0 21	Отриц 1/22	0 **58**
10	0 21	Отриц **1/128**	20 **85**
11	0 21	Отриц 1/32	4 43
12	0 21	1/22 Отриц	2 46
13	0 21	Отриц 1/32	17 **59**
14	0 21	Отриц 1/22	-1 48
15	0 21	Отриц 1/32	-1 **57**

Выделенные жирным шрифтом положительные, неубедительные/неточные РНВ титры курсивные.

Все сыворотки положительные в РНВ (титр >45) были также положительными с ИФА набором по определению противоящурных антител типа О Ceditest®. Из 8 сывороток с

неубедительными РНВ титроами (между 11-45) 3 образца показали положительный результат с ИФА набором по определению противоящурных антител типа О Ceditest®.

Сыворотки из свиней, вакцинированных с О1Manissa

Результаты представлены в таблице 3

Таблица 3: Свиньи, вакцинированные с О1 Manissa

Свиньи	Дни пост вакцинации	Титр антитела в РНВ	% ингибирования в SPC-ИФА с антигеном О1 Manissa	% ингибирования с ИФА набором по определению противоящурных антител типа О Ceditest®.
1	0 28	Отриц Отриц	6 59	0 **50**
2	0 28	Отриц Отриц	6 **64**	-2 **56**
3	0 28	Отриц Отриц	7 **62**	-1 **58**
4	0 28	Отриц 1/16	17 **90**	-1 **95**
5	0 28	Отриц Отриц	14 40	-3 43
6	0 28	Отриц Отриц	16 **83**	-4 **70**
7	0 28	Отриц Отриц	15 33	-1 36
8	0 28	Отриц Отриц	10 54	-3 35
9	0 28	Отриц Отриц	9 **69**	-2 **78**
10	0 28	Отриц Отриц	29 54	-1 **51**
11	0 28	Отриц Отриц	16 10	1 0
12	0 28	Отриц Отриц	18 15	0 -2

Процентовки ингибирования >50% рассматриваются положительными, <50% отрицательными с ИФА набором по определению противоящурных антител типа О Ceditest®. (+жирные цифры). В SPC-ИФА процентовка ингибирования >60% рассматривается положительным, <50% отрицательным результатом, а значения между ними неточные результаты.

РНВ кажется достаточно нечувствительным тестом для свиней в сравнении с SPC-ИФА и ИФА набором по определению противоящурных антител типа О Ceditest®.

Я, гр. ***Омаров Сабит Амангельсинович,*** свободно владею английским и русским языками. Перевел вышеприведенный текст с английского языка на русский язык. Содержание переведенного текста соответствует оригиналу документа.

Подпись Омаров Сабит Амангельсинович

Двадцать четвертое января две тысячи восемнадцатого года. Я, Адылханова Алия Агзамовна, нотариус города Алматы, действующая на основании государственной лицензии № 13020454 выданной Комитетом регистрационной службы и оказания правовой помощи Министерства юстиции Республики Казахстан 28.12.2013 года, свидетельствую подлинность подписи, сделанной известным мне переводчиком гр. ***Омаровым Сабитом Амангельсиновичем, ИИН 781229300574***.

Зарегистрировано в реестре за № 483
Взыскано: 2646 тенге в т. ч. 2405 тенге
услуги правового и технического характера
Нотариус _____

Пронумеровано и прошнуровано на 24 двадцати четырех страни
Нотариус _____