

Лучшая диагностика для лучшего результата

 **BioChek**



промывочная
система
СААР wash 8



ридер BioTek ELx800



лабораторные
пипетки



www.danlen.ru

ДанЛен

Санкт-Петербург

196084, ул Цветочная, 25
тел/факс: (812) 336-9436, 336-9552

ИНФЕКЦИОННЫЙ БРОНХИТ: ВЫЯВЛЕНИЕ И ПРЕДОТВРАЩЕНИЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ

Статья подготовлена на основе публикаций Dr. Bart van Leerdam Biotek B.V.
А. Фомичев, ветеринарный врач ЗАО «ДанЛен»

Серология является полезным инструментом для отслеживания иммунного ответа после вакцинации и для постановки диагноза. Очень трудно найти в литературе практические рекомендации касательно интерпретации результатов (IBV) ELISA. Часто остаются без ответа такие практические вопросы, как: «Какой уровень титров и какой коэффициент вариации (CV) следует ожидать после вакцинации против IBV?» и «Можно ли провести различие между вакцинацией и полевым заражением с помощью IBV ELISA?». В данной статье освещается применение и интерпретация результатов анализа IBV ELISA после вакцинации живой и инактивированной вакцинами, и как серология может облегчить идентификацию заражения вирусом инфекционного бронхита в полевых условиях.

ОБОСНОВАНИЕ МОНИТОРИНГА IBV

При применении живой вакцины против респираторных заболеваний, наподобие IBV, важно оценить успешность вакцинации. Это связано с тем, что успех вакцинации не всегда является неизбежным, поскольку трудно обеспечить доставку эффективной дозы всем птицам без исключения при использовании методов массовой вакцинации для живых вакцин IBV. Мониторинг иммунного ответа на вакцинацию помогает обнаружить и диагностировать какие-либо сбои. Таким образом, отслеживание результатов вакцинации следует рассматривать как «Контроль Качества» вакцинаций, проводимых в полевых условиях. Это приводит нас к очень важному моменту при мониторинге с помощью ELISA: следует быть готовым предпринять должные меры в зависимости от результатов. Без принятия мер нельзя ожидать улучшения, оптимизации и поддержания эффективности программ вакцинации.



ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ ELISA

Успешная интерпретация результатов возможна после соблюдения следующих условий:

В лаборатории следует использовать внешние референтные контроли, чтобы иметь дополнительную гарантию воспроизводимости и точности результатов. Их использование поможет понять, причину аномально высоких титров: либо это ошибка при проведении теста, либо фактический иммунный статус птиц в полевых условиях. Перед проведением анализа необходимо иметь представление о том, какой результат является ожидаемым (базисный уровень титров для успешной вакцинации).

На практике интерпретация результатов вакцинации обычно проводится путем оценки трех основных компонентов гуморального ответа после введения вакцины, которыми являются:

1. Интенсивность отклика, на что указывает значение **среднего титра**. Эти титры базисного уровня могут варьировать в зависимости от типа птицы, возраста, типа вакцины, программы вакцинации (применение относительно мягких вакцин H120 будет давать значительно меньшие титры по сравнению с ответом, полученным после применения более иммуногенных вакцинных штаммов, таких как IB 4/91) и т.д. В каждом конкретном случае следует разработать собственные базисные уровни для своих программ вакцинации и условий на месте.

2. Однородность отклика, на что указывает **%CV (коэффициент вариации)**. В качестве общего руководства для коэффициента вариации после вакцинации можно привести следующие значения.

% CV	Однородность
Менее 40%	Великолепная
40-60%	Хорошая
Более 60%	Следует улучшить

Хотя эти общие рекомендации применимы для большинства живых и инактивированных вакцин, следует иметь в виду, что использование живых вакцин против респираторных заболеваний наподобие IBV, генерирует в целом неоднородный отклик в титрах, а кроме этого, живые IBV вакцины могут также давать местный иммунный отклик, который нельзя измерить с помощью метода ELISA. В случае племенного поголовья или кур-несушек, где перед инактивированной вакциной применяется целый ряд вакцинаций с помощью живых вакцин, полная сероконверсия (100% птиц позитивны) является более важным критерием

успеха, чем только один показатель %CV. Было продемонстрировано, что хорошее праймирование живыми вакцинами перед инактивированной оказывает сильное и благоприятное влияние на величину и стойкость титров в течение всего периода продуктивности. Следует проверить, являются ли все птицы (100%) серопозитивными.

3. Продолжительность отклика, на что указывает средний титр в зависимости от времени.

Хорошее праймирование (положительные и однородные титры) перед применением инактивированной вакцины приведет к более стабильным и высоким титрам в течение продуктивного периода. И, наоборот, слабые титры после праймирования (низкие, неоднородные титры с высоким процентом отрицательных результатов) приведут к высоким титрам в начале периода продуктивности и к низким титрам в середине и конце периода яйцекладки. В целом, титры IBV имеют тенденцию к меньшей стабильности в течение периода продуктивности по сравнению с титрами к болезни Гамборо и болезни Ньюкасла. Действительная причина такой нестабильности остается неизвестной, однако она лишь подчеркивает необходимость отслеживания титров IBV в критических точках с целью определения того, не следует ли провести дополнительную вакцинацию с целью стимуляции подъема снижающихся титров.

Еще одним фактором, определяющим успех инактивированной вакцины, является уровень антител в момент введения. Высокие титры антител в момент применения могут помешать серологическому отклику на инактивированную вакцину. Такая ситуация, в частности, была замечена после применения более иммуногенных вакцин, наподобие 4/91, незадолго до вакцинации инактивированной вакциной кур-несушек и племенного поголовья.

УСПЕХ ИЛИ НЕУДАЧА ВАКЦИНАЦИИ

Индикаторами успешной вакцинации обычно являются высокие, однородные и длительно сохраняющиеся титры, находящиеся в ожидаемом диапазоне для данного типа вакцины. Эти образцы должны быть 100% позитивными.

Индикаторы плохого результата вакцинации в целом являются противоположными: т.е. титры, ниже ожидаемых, неоднородные и недолговременные. Титры «ниже базисного уровня» обычно сопровождаются некоторым количеством отрицательных результатов — от умеренной до высокой степени. Мониторинг IBV с определенными интервалами у кур-несушек и племенного поголовья особенно полезен для раннего выявления неудачной вакцинации. Немедленная ревакцинация сразу после выявления неудачной вакцинации будет способствовать предотвращению потерь продуктивности в будущем.

ДИАГНОСТИКА ПОЛЕВОГО ЗАРАЖЕНИЯ IBV

Диагноз можно поставить комбинированной оценкой истории стада, клинических признаков, серологии, а также изоляции и идентификации патогена. Серологический мониторинг в особенности полезен для установления времени появления и характера полевой инфекции.

Для невакцинированных стад присутствие полевого заражения IBV может быть легко продемонстрировано положительной серологией IBV. Однако для IBV вакцинированных стад идентификация полевого заражения затруднительна и требует знания ожидаемых титров после вакцинации (базисный уровень, разработанный ранее каждым пользователем системы ELISA). Анализ и сравнение полученных данных с имеющимся серологическим профилем стада позволит понять являются ли серологические результаты нормальными или аномальными.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ IBV ИНФЕКЦИИ

В случае аномально высоких IBV титров следует учитывать три ключевых критерия, которые должны выполняться для того, чтобы сделать вывод, что полученная серология — результат заражения IBV:

1) **Средний титр после инфекции должен быть значительно повышен.** Обычным правилом является, что средний титр после инфекции, должен, по меньшей мере, в два раза превышать уровень, который является ожидаемым после вакцинации, или должен хотя бы в два раза превышать средний уровень титров до инфекции.

2) **Значение CV должно быть снижено. Коэффициент вариации (CV) должен быть значительно ниже уровней, которые являются ожидаемыми после вакцинации,** или значительно ниже уровней CV до инфекции. Например, если Вы вакцинируете цыплят бройлеров дважды с помощью вакцины H120, ожидаемый CV находится в диапазоне 50-80%. Если после вакцинации Вы получаете значение CV на уровне 35%, то это является указанием на аномальный отклик.

3) **Клинические признаки должны соответствовать серологии.** Если серология IBV повышена, но клинические признаки отсутствуют или не согласуются с инфекцией IBV, то Вы просто не сможете подтвердить инфекцию IBV.

Пример 1. Серология IBV племенного поголовья до (34 недель) и после инфекции (37 недель). Серология после инфекции указывает на значительно повышенный средний титр и сниженный



