

# Обнаружение антител к вирусу CAV

## и определение их титра

**Андрей КИСЕЛЁВ**, старший научно-технический специалист ООО «ВерумБио»

**Инфекционная анемия цыплят (CAV, от англ. Chicken Anemia Virus) — давно известное в промышленном птицеводстве вирусное заболевание. К инфекции наиболее чувствительны бройлеры в период откорма. Вероятно, это обусловлено интенсивным ростом птицы.**

Чаще всего болезнь проявляется в возрасте 14–21 дня. Цыплята в более раннем возрасте, как правило, не болеют, поскольку развитию инфекции в их организме препятствуют материнские антитела. У переболевших особей формируется иммунитет.

У бройлеров заболевание обычно носит субклинический характер и опасно тем, что вирус инфекционной анемии оказывает иммуносупрессивное воздействие на организм. Вследствие этого эффективность плановых вакцинаций снижается и в организме птицы развиваются вторичные инфекции, что ведет к большим финансовым потерям.

Вирус передается контактным путем от больных цыплят здоровым в первые дни жизни. Клинические признаки проявляются в возрасте 10–14 суток. Птица, не контактировавшая с вирусом, чувствительна к нему в любом возрасте.

Вертикальный путь передачи возбудителя обычно отмечают в тех хозяйствах, куда завозят инкубационное яйцо из неблагополучных по CAV пунктов. Характерной особенностью эпизоотии является то, что заражение иногда происходит при вакцинации суточных цыплят против болезни Марекка, причем вирус может быть как интегрирован в геном цыпленка, так и находиться непосредственно в вакцине. Это объясняется тем, что при производстве вакцин

используют яйца, не отвечающие требованиям, предъявляемым к сырью, предназначенному для изготовления вирусвакцин, например к SPF-яйцу.

При стертой клинической картине отход цыплят варьирует в диапазоне от 5 до 15%, при остром течении болезни — от 50 до 60%. Куры могут переболеть CAV в начале периода яйцекладки. При этом заболевание протекает в легкой форме, а продуктивность птицы не снижается.

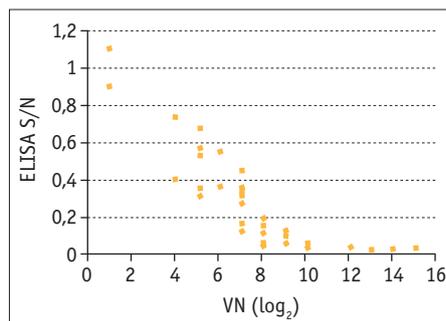
Очень важно вести серологический мониторинг вирусносительства в родительских стадах кур и, конечно, в товарных стадах. Такой прием позволяет рассчитывать оптимальные сроки вакцинации.

Тест IDEXX CAV Ab был разработан и валидирован с целью получения более

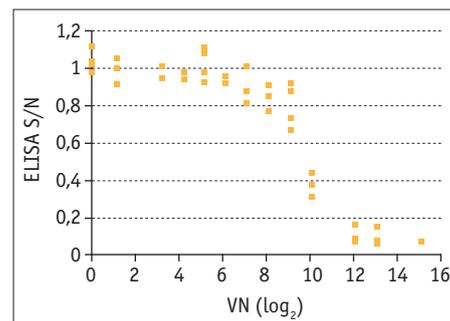
достоверных данных при диагностических исследованиях. Известно, что вирус в организме цыплят не развивается, если титры антител составляют  $\log VN > 8$ . Чтобы вирус в организме цыплят не развивался при горизонтальной передаче возбудителя, титры материнских антител должны составлять  $\log_2 VN > 9$ .

Тест IDEXX CAV Ab с блокирующим форматом предназначен для обнаружения антител к вирусу анемии цыплят в сыворотке крови методом твердофазного иммуоферментного анализа (ИФА) с использованием моноклональных антител. Между результатами, полученными методами ИФА и реакции нейтрализации вирусов (VN), существует высокая корреляция.

При проведении исследований по нейтрализации вирусов динамический диапазон анализа ограничен из-за блокирующего формата, что затрудняет интерпретацию данных. Тест IDEXX CAV Ab разработан таким образом, что при увеличении коэффициента разбавления



*Рис. 1. Титры нейтрализации вируса в образцах, протестированных при помощи IDEXX CAV Ab при разбавлении 1 : 10*



*Рис. 2. Титры нейтрализации вируса в образцах, протестированных при помощи IDEXX CAV Ab при разбавлении 1 : 100*

Таблица 1

Диапазоны корреляции для теста IDEXX CAV Ab при разбавлении образца в пропорции 1 : 10			
Титр антител VN (log <sub>2</sub> )	VN, интерпретация	ELISA, S/N	ELISA, интерпретация
< 4	Отрицательный (без титров)	> 0,6	Отрицательный
5–7	Положительный (низкие титры)	0,59–0,2	Положительный
< 8	Положительный (защитные титры)	< 0,2	Положительный

Таблица 2

Диапазоны корреляции для теста IDEXX CAV Ab при разбавлении образца в пропорции 1 : 100			
Титр антител VN (log <sub>2</sub> )	VN, интерпретация	ELISA, S/N	ELISA, титр
< 7	Отрицательный (низкие положительные титры)	> 0,8	< 1000
8–10	Положительный (умеренные защитные титры)	0,8–0,2	1000–8660
> 10	Положительный (высокие защитные титры)	< 0,2	> 8660

Таблица 3

Тестовые титры/группы титра IDEXX CAV Ab (разбавление образца в пропорции 1 : 100)				
Group ELISA	ELISA, титр	ELISA S/N	Титр антител VN log <sub>2</sub>	Интерпретация
0	< 1000	> 0,8	< 7	Отрицательный
1	1000–2460	0,8–0,55	8–10	Умеренно положительный (защитные титры)
2	2461–5050	0,54–0,35	8–10	Умеренно положительный (защитные титры)
3	5051–8660	0,34–0,2	8–10	Умеренно положительный (защитные титры)
4	< 8661	< 0,2	< 11	Высокие защитные титры

образца линейная часть анализа сдвигается. Это обеспечивает большую достоверность определения нейтрализующих антител.

В качестве примера рассмотрим результаты сравнительного исследования, где титры антител были заведомо известны.

Систему IDEXX CAV Ab протестировали в соответствии со стандартным протоколом анализа, за исключением этапа разбавления образца сыворотки крови. Образцы разбавляли раствором, входящим в состав набора, в соотношении 1 : 10 (обычное разбавление) либо 1 : 100 (модифицированное разбавление). Оптическая плотность (ОП) исследуемых образцов (положительный контроль) была идентична оптической плотности контрольных образцов (образцов, где титры антител были заведомо известны (отрицательный контроль)).

Показатель S/N рассчитывали по формуле:

$$S/N = \text{ОП } 650 \text{ (положительный контроль)} : \text{ОП } 650 \text{ (отрицательный контроль)}$$

Панель из 40 образцов с заведомо известными титрами антител, определенными методом реакции нейтрализации вируса, была получена и протестирована с помощью IDEXX CAV Ab в соответст-

вии со стандартным протоколом анализа (рис. 1, 2).

Использовали два разных образца: один разбавляли в пропорции 1 : 10, второй — 1 : 100. Образцы, разбавленные в пропорции 1 : 100, выбрали с учетом данных более раннего эксперимента по разбавлению образца, охватывающих диапазон от 1 : 20 до 1 : 320. Коэффициент разбавления 1 : 100 дает возможность выявить достоверные различия между образцами с умеренным титром антител.

Образец, разбавленный в пропорции 1 : 10, характеризуется оптимальной чувствительностью. Однако диапазон анализа не позволяет выявить достоверные различия между образцами с титрами антител в диапазоне от минимального до максимального значения оптической плотности (это видно на верхней панели). Линейный диапазон при разбавлении образца 1 : 100 примерно соответствует диапазону log<sub>2</sub> VN 8–10.

Чтобы рассчитать титры антител при разбавлении образца 1 : 100, серию образцов (положительный контроль, n = 100) разбавляли до тех пор, пока не достигли максимально допустимых значений разбавления. Показатель S/N каждого образца, испытанного при разбавлении в пропорции 1 : 100 соответствовал показателю S/N того же образца при разбавлении до максимально допустимых значений. Затем показатель S/N сравнили

с логарифмом показателя образца при его разбавлении до максимально допустимого значения.

Уравнение для линейного участка кривой использовали в качестве основы для расчета титра CAV. Расчет титров базируется на этом уравнении и включает в себя коэффициент для учета формата блокировки в тесте IDEXX CAV Ab:

$$\log_{10} \text{ титр} = (S/N - 2,72) : (-0,64)$$

Диапазоны корреляции для теста IDEXX CAV Ab при разбавлении образцов в соотношении 1 : 10 и 1 : 100 представлены в таблицах 1, 2. Этот экспериментальный расчет титра можно использовать только при работе с образцами, протестированными при разбавлении 1 : 100 (табл. 3).

При разбавлении образца в соотношении 1 : 100 линейные диапазоны IDEXX CAV Ab смещаются так, что можно оценить соответствующие уровни титра антител.

В частности, диапазоны log<sub>2</sub> VN 8–10 приблизительно соответствуют верхнему и нижнему диапазонам анализа, проведенного при помощи теста IDEXX CAV Ab. Предложенный расчет титра и диапазоны титра позволяют наиболее точно интерпретировать данные лабораторных исследований.

Таким образом, подтверждена достоверность и надежность теста IDEXX CAV Ab при лабораторных исследованиях образцов, разбавленных в пропорциях 1 : 10 и 1 : 100, для обнаружения антител к вирусу инфекционной анемии цыплят и для определения титров антител.

Образцы, разбавленные в соотношении 1 : 10, рекомендовано использовать для мониторинга состояния поголовья SPF на наличие вируса CAV и с целью приблизительной оценки коэффициентов корреляции с титрами VN. Образцы, разбавленные в соотношении 1 : 100, можно применять для контроля максимальных титров антител, для правильной оценки эпизоотической ситуации в хозяйстве.

ЖР



111396, Москва,  
ул. Алексея Дикого, д. 18Б, офис 216  
Тел.: +7 (800) 500-35-85,  
+7 (495) 120-77-87  
E-mail: info@verumbio.com  
www.verumbio.com