

بررسی مولکولی دریافت و تعیین بیس لاین سرولوژیک واکسن



اهداف

این دستورالعمل بمنظور مانیتورینگ مولکولی دریافت واکسن (Newflend®ND-H9 (Veccine Take توسط هر پرنده و بررسی کیفیت ایمن سازی پرنده ها علیه بیماری های نیوکاسل و آنفلوآنزای پرندگان H9 تدوین شده است.

دستورالعمل ها و تعاریف

سن نمونه برداری ۲۱ الی ۳۵ روزگی می باشد.
این دستورالعمل برای هر دولاین مرغ گوشتی و تخمگذار قابل اجرا می باشد.

روش کار

• PCR

برای این آزمایش از نمونه طحال استفاده می شود. برای بررسی هر گله ۱۰ نمونه کافی می باشد. در صورت در دسترس بودن FTA card، تعداد نمونه ها به ازای هر گله ۸ یا ۱۲ نمونه (۲ یا ۳ کارت) می باشد. FTA کارت ها، حمل و نقل ساده تری دارند اما باید توجه داشت حساسیت تشخیصی آنها در مقایسه با نمونه های طحال کمی پایینتر (در حدود ۲-۱۰ درصد) می باشد.

توجه:

از آنجائیکه نتیجه آزمایش بر مبنای گزارش تعداد نمونه های مثبت از مجموع نمونه های گرفته شده می باشد قابل تفسیر است، از قرار دادن نمونه ها در یک ظرف و یا حتی مخلوط کردن نمونه در حین آزمایش جدا خودداری نمایید. حتما قیچی و پنس را در زمان نمونه گیری از هر پرنده، با الکل ۷۰ درصد ضدعفونی نمایید.
بمنظور پیشگیری از آلودگی متقاطع بهتر است پرنده کامل به آزمایشگاه ارسال شده و نمونه برداری در آزمایشگاه انجام شود. لازم توجه است که پرنده ها بایستی از پرنده های سالم و در رنج میانگین وزن گله در آن سن انتخاب شوند. جداً از ارسال تلفات برای این آزمایش خودداری فرمائید.

• سرولوژی

الف. برای بررسی سرولوژیک نیوکاسل توصیه می شود از الیزا تجاری اختصاصی پروتئین F استفاده شود.

ب. برای بررسی تیتراژ آنفلوآنزای H9 می توان از روش معمول تست HI استفاده نمود. پیشنهاد می شود ۱۸-۲۴ نمونه اخذ شوند. بعنوان یک قاعده کلی، بهتر است تعداد نمونه اخذ شده از تعداد نمونه مورد نیاز برای آزمایش مورد نظر بیشتر باشد تا در صورت از بین رفتن یک نمونه و یا بی کیفیت بودن آن، نمونه جایگزین وجود داشته باشد.

دستورالعمل اجرایی

• شرایط نگهداری و حمل نمونه

می توان هر نمونه طحال را در یک میکروتیوب ۲ میلی لیتری و یا کیسه فریزر نو قرار داد. نمونه های اخذ شده بایستی در کنار یخ به آزمایشگاه منتقل شده و در آزمایشگاه در فریزر با دمای ۲۰- درجه سانتیگراد قرار داده شوند. در صورتیکه امکان انتقال بلافاصله نمونه ها به آزمایشگاه نیست، می بایست نمونه ها ابتدا در فرم در فریزر قرار داده شوند. هرگز نمونه یخ زده را بیش از ۳ روز نگهداری نکنید. از فرمالین استفاده نکنید.

• ثبت اطلاعات نمونه

ثبت اطلاعات نمونه های اخذ شده بسیار ضروری می باشد. حداقل اطلاعات ثبت شده برای هر نمونه شامل نام و محل مرغداری، برنامه واکسیناسیون، سن گله در زمان نمونه برداری و نوع پرند ها (گوشتی، تخمگذار و مادر) می باشد.

نتایج مورد انتظار

• PCR

بزرگتر مساوی ۸۰ درصد نمونه های طحال می بایست مثبت باشند.

سن ۲۸-۲۱ روزگی	بافت	ژن هدف برای PCR*	واکسن
≥ ۸۰%	طحال	Insert F	Newflend
		Insert H9	
		Insert HVT SORF-1	

*استفاده از PCR فقط یکی از ژن های نامبرده شده کافی است.

• سرولوژی

سن بالای ۳۵ روزگی	سن ۲۸ روزگی	نام کیت	بیماری
۳۰۰۰-۷۰۰۰	۲۰۰۰-۴۰۰۰	Biochek F	نیوکاسل
۴۰۰۰-۸۰۰۰	۳۰۰۰-۶۰۰۰	ID Screen NDVS	
۸۰۰۰-۱۵۰۰۰	۶۰۰۰-۱۰۰۰۰	ID Screen FLUH9S	آنفلوآنزای پرندگان H9
۶-۸ (log2)	۴-۶ (log2)	HI	