

СЕРОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ В ПТИЦЕВОДСТВЕ, ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА ТЕСТ-СИСТЕМЫ ELISA КОМПАНИИ БИОЧЕК

Седов С.А.,

Ведущий ветеринарный врач-консультант Департамента птицеводства ГК ВИК

Современное развитие птицеводства, должно базироваться на комплексе диагностических профилактических мероприятий. Среди наиболее перспективных методов диагностики — иммуноферментный анализ (ИФА).

Тест-система ELISA компании БиоЧек — это чувствительный и простой в постановке метод определения уровня антител к различным заболеваниям птиц вирусной и бактериальной этиологии.

Широкое применение метода ИФА подтверждает его практическую ценность при проведении мониторинга и оценки иммунного ответа после применения вакцин.

Точность и достоверность проведения иммуноферментного анализа диагностической тест-системой БиоЧек, определяется по трем критериям: положительный, отрицательный и референсный контроль.

Только на основании достоверных результатов проводится правильная интерпретация. Интерпретация значений титров антител в сыворотке крови птицы после контакта с инфекционным агентом или интерпретация результатов вакцинации проводится путем оценки трех основных компонентов гуморального ответа: величине среднего титра, % коэффициента вариабельности (% KB) и индекс вакцинации (ИВ).

С помощью среднего титра проверяемого стада мы сможем определить, насколько эффективно реакция антител этих птиц после вакцинации. Фактически это даст нам возможность определить иммунный статус вашего стада. Оценка иммунного ответа в ИФА включает в себя необходимость сравнивать полученные значения средних титров с ожидаемыми поствакцинальными титрами (табл. 1).

Значения титров могут колебаться в зависимости от кросса и возраста птицы, типа вакцины, программы вакцинации и других факторов. Ожидаемые поствакцинальные средние титры ремонтного молодняка отличаются от цыплят-бройлеров (табл. 2). Значения титров, указанные в таблице, базируются на двукратной живой вакцинации и однократной инактивированной вакцине в 16–18 недель.

Например, если показатели титров намного выше среднего ожидаемого титра, то можно предположить, что в стаде распространяется инфекция. Если показатели титров оказались ниже ожидаемых, то можно предположить, что методика вакцинации или техника вакцинации выполнена неправильно или вакцина низкого качества.

Другой параметр — однородность ответа, выраженный в %KB (% коэффициента вариации), показывает, насколько варьируют показатели среднего титра в стаде. Чем ниже %KB, тем более равномерное распределение титров и успешнее, качественнее прошла вакцинация. Чем выше %KB, тем менее однородные титры, при этом поголовье не отреагировало на применение вакцины, это может быть связано с тем, что вакцина просто не работает или неправильно выбран метод вакцинации, а так же нарушена техника вакцинации. Значение %KB

должно находиться в пределах требуемого диапазона. В качестве общего руководства в таблице 3 приведены оптимальные значения %KB после вакцинации.

Для большинства заболеваний %KB после правильного применения инактивированной вакцины должен быть ниже 40%. Для живых вакцин значение %KB должно быть ниже 60%. В таблице 3 указаны общие рекомендации, применимые для большинства живых и инактивированных вакцин. Следует иметь в виду, что использование живых вакцин против респираторных заболеваний, например, инфекционного бронхита кур, а так же ньюкаслской болезни в основном вызывает более разнородный иммунный ответ. Горизонтальное распространение вакцинного вируса среди стад может быть ограниченным, а кроме этого, живые ИБК-, НБ-вакцины могут также давать местный клеточный иммунитет, который нельзя измерить с помощью метода ELISA. В случае применения живых вакцин, например Пулвак IB H120, ожидаемый %KB для хорошей вакцинации будет составлять 40–60%. Значение %KB на уровне <20% после вакцинации с классическим штаммом «H120» следует рассматривать как подозрение на инфекцию. Однако при использовании в программе вакцинации более иммуногенных вакцин, например Пулвак IB Праймер, который содержит как классический штамм «H120» серотипа Массачусетс, так и штамм «D274» Голландской группы, значения %KB ниже 40% не являются редким. В случае применения живых вакцин против болезни Гамборо (Пулвак Бурса Ф или Бурсин плюс) характерен более однородный иммунный ответ, %KB составляет менее 40%. Вакцинный вирус в Пулвак Бурса Ф и Бурсин плюс эффективно распространяется в стаде, обеспечивает иммунизацию даже тех птиц, которые были пропущены при выпаивании вакцины с питьевой водой.

Успех вакцинации также зависит от стойкости иммунного ответа, на что указывает средний титр, в зависимости от времени, то есть достаточно ли долго сохраняются титры во времени, необходима ли еще одна вакцинация с целью увеличения подъема титров выше минимальных защитных уровней или для добавления местного клеточного иммунитета. Так, при вакцинации ремонтного молодняка, где перед инактивированной вакциной первично применяются живые вакцины, полная сероконверсия (100% птиц позитивны) является более важным критерием успеха, чем только один показатель %KB. Хорошее праймирование живыми вакцинами перед инактиватом оказывает сильное и благоприятное влияние на величину и стойкость титров в течение всего периода продуктивности. Убедитесь, что тесты всех птиц 100% серопозитивны.

При вакцинации поголовья против некоторых заболеваний, таких как инфекционный энцефаломиелит птиц или инфекционная анемия птиц, % сероконверсии является единственным показателем успешно проведенной вакцинации. Например, для ИАЦ, если более 60% исследуемых образцов серопозитивны, нет необ-

Таблица 1.

Ожидаемые средние титры после вакцинации бройлеров. Убой в возрасте 35–40 дней (данные компании БиоЧек)

Тест-набор	Тип вакцины	Средний титр в возрасте 35–40 дней	Индекс вакцинации (ИВ)	Подозрение на инфекцию, значение ИВ
ИБК	Живая, 1x 01D: Пулвак IB H120, Пулвак IB Праймер + штамм 793B	300–1500	<50	>3000, ИВ>70
	Живая, 2x 01D: Пулвак IB H120, Пулвак IB Праймер + штамм 793B	500–2000	<50	>3000, ИВ>70
	Живая, 2x: Пулвак IB H120, Пулвак IB Праймер	1000–4000	<90	>5000, ИВ>90
	Живая, 2x: Пулвак IB H120 + штамм 793B <13D	1000–3000	<90	>4000, ИВ>90
	Живая, 2x: Пулвак IB H120 + штамм 793B >13D	1000–6000	<150	>8000, ИВ>150
	Пулвак IB QX	6000	<150	>8000, ИВ>150
НБ	Живая: штамм C2, VG/GA, Ulster NDW, VH	1000–4000	<280	>10 000, ИВ>300
	Живая, 2x с водой: Пулвак ND LaSota	2000–5000	<280	>10 000, ИВ>300
	Живая, 2x спрей: Пулвак ND LaSota	2000–8000	<280	>10 000, ИВ>300
	Инактивированная 01D + 2x живая Пулвак ND LaSota	4000–12 000 (100% pos)	<280	>10 000, ИВ>300
	Векторная, r-HVT/NDV (in Ovo или п/к 01D)	500–1500 (10–50% pos)	<40	>3000 (100% pos.), ИВ>100
	Инактивированная, 1x 01D	2000–10 000		
	Инактивированная 01D + живая 01D	2000–12 000		
IBD	Интермедиальные плюс, 1x: Бурсин плюс, Пулвак Бурса Ф	6000–10000 (12 000)	<500	>14 000, ИВ>500
	Интермедиальные плюс, 2x: Бурсин плюс, Пулвак Бурса Ф	6000–12 000 (10 000)	<550	>14 000, ИВ>600
	Горячие, 1x: штамм БГ	6000–12000	<500	>14000, ИВ>500
	Иммунокомплексные: Бурсаплекс (in Ovo или п/к 01D)	4000–12000 (100% pos)	<500	>14000, ИВ>500
	Векторные: r-HVT+IBD (in Ovo или п/к 01D)	800–2500 (≥80% pos)	<50	>4000 (100% pos) ИВ>100
ART	Живая, серотип А: ПулвакTRT	1000–2000		
	Живая, серотип В	1000–4000		
ILT	ТСО (из тканевой культуры клеток)	300–600 (<30% pos)		>1000 (≥40% pos)
	СЕО (на живых куриных эмбрионах): Ларинго Вак	1000–3000 (>50% pos)		Без дифференциации
	Векторные: r-HVT/ILT (in Ovo или п/к 01D)	500–1500 (10–60% pos)	<40	>2000 (>80% pos) ИВ>50
REO	не вакцинированные			pos и >4000*
ORT	не вакцинированные	0–1500 (есть носительство): вести мониторинг, взять под контроль	<20	pos и >3000* ИВ>50
CAV	не вакцинированные	0–2500 (есть носительство): вести мониторинг, взять под контроль	<30	pos и >5000* ИВ>50
FAV-1	не вакцинированные	0–3000 (есть носительство): вести мониторинг, взять под контроль	<40	pos и >6000* ИВ>50

Эти рекомендации основаны на нашем опыте и информации, полученной от наших клиентов. БиоЧек не несет никакой ответственности за результаты использования эти рекомендаций.

*REO, ORT, CAV, FAV-1: средние титры не вакцинированной птицы, наличие их в сочетании с клиническими признаками и патологоанатомическими изменениями — подозрение на инфекцию.

Таблица 1.

Ожидаемые средние титры после вакцинации ремонтного молодняка (данные компании БиоЧек)

Тест-набор	Тип вакцины	Средний титр	Недели после вакцины	% положительных проб	Индекс вакцинации (ИВ)	Подозрение на инфекцию, индекс вакцинации
IBV	Живая: Пулвак IB H120	1000–2000	3–5 нед.	100%		>4000
	Живая, первая Пулвак IB H120, вторая штамм 793В	6000–10 000	3–5 нед.	100%	50–300	>12 000 ИВ>300
	Инактивированная	6000–12 000	5–8 нед.	100%	50–300	ИВ>300
IBD	Живые интермедиа-льные:	4000–12 000	3–5 нед.	100%	100–500	>14 000 ИВ>600
	Инактивированные	7000–20 000	5–8 нед.	100%	300–1500	
	Векторные: г-HVT/IBD	1000–4000	7–10 нед.	100%	50–250	>5000 ИВ>300
NDV	Живая: Пулвак ND Lasota	2000–8000	3–5 нед.	100%	100–400	
	Инактивированная	10 000–25 000	5–8 нед.	100%	100–2000	
REO	Живая	2000–5000	3–5 нед.			>6000 и >90% pos
	Инактивированная	7000–15 000	5–8 нед.	100%	200–800	ИВ>800
ART	Живая	2000–6000	3–5 нед.			
	Инактивированная	7000–25 000	5–8 нед.	100%	50–500	
AE	Живая 1x	5000–12000	4–6 нед.	>80%	50–500	
MG	Инактивированная 2x: МГ-БАК	3000–6000 500–1000	4–6 нед. 10–12 нед.	>90% 40–90%		
MS	Инактивированная 2x: МС-БАК	3000–6000–8000	4–6 нед.			
AI	Инактивированная, 2x: H5N2	1000–4000	6–10 нед.	100%		
	Инактивированная, 2x: H9N2	2000–6000	6–10 нед.	100%		
EDS	Инактивированная 1x	1000–4000	4–6 нед.			
SE (Salm D)	Живая, 2x с водой: 9R-VAC	<500	3–5 нед.	<10%		
	Инактивированная, 2x	3000–10 000	4–6 нед.	90–100%	50–500	
	Пулвак SE	1000–5000	10–12 нед.	50–100%	10–100	
SE/ST (Salm B&D)	Живая, 3x	<500	5–6 нед.	<10%		
	Инактивированная, 2x	3000–12000	4–6 нед.	90–100%	50–500	
	Пулвак SE	1000–6000	10–12 нед.	50–100%	10–100	
CAV	Живая	3000–8000	4–6 нед.	80–100%	100–300	
ORT	Не вакцинированные	Отрицательные				>10000*
ILT	ТСО (из тканевой культуры клеток)	1000–3000	6–10 нед.	0–30%		>50%
	СЕО (на живых куриных эмбрионах): Ларинго Вак	1000–6000	6–10 нед.	80–100%		Без дифференциации
	Векторные: г-HVT/ILT (in Ovo или п/к 01D)	500–3000	6–20 нед.	40–100%	10–100	>5000 и 100% pos

Эти рекомендации основаны на нашем опыте и информации, полученной от наших клиентов. БиоЧек не несет никакой ответственности за результаты использования этих рекомендаций.

*ORT: титры >10 000 часто коррелируют с клиникой заболевания

ходимости повторно применять вакцину.

Индекс вакцинации (ИВ) — новый параметр для оценки поствакцинального ответа, это отношение среднего титра к % КВ: ИВ = «Средний титр»/«% КВ».

Значение ИВ ясно показывает разницу между успешно проведенной вакцинацией и плохой обработкой. Чем больше значение индекса вакцинации (соответственно высокое значение Среднего титра при низком значении % КВ), тем лучше проведена вакцина. Чем меньше значение индекса вакцинации (соответственно низкое значение среднего титра при высоком значении % КВ), тем хуже проведена вакцинация. Помимо этого, значение индекса вакцинации находится в определенных границах в зависимости от типа и кратности применяемой вакцины. Таким образом, ИВ может оказать помощь в вопросе дифференциации нормального иммунного ответа после применения вакцины или действия полевого возбудителя. Если ИВ превышает верхние границы, это может указывать на инфекцию (табл. 4).

В приведенной таблице 5 содержится примерная программа серологических исследований методом ИФА на различные заболевания в птицеводческих хозяйствах.

Для племенного бройлера

1–10 D — Определение уровня материнских антител NDV, REO. Прогнозирование даты вакцинации против IBD.

8–10 W — Контроль после проведенной вакцинации против IBD, NDV, IBV; при отрицательных и низких титрах повторное проведение вакцинации. Мониторинг REO.

16–18 W — Контроль проведенной вакцинации живыми вакцинами против IBD, NDV, IBV перед применением инаktivированных вакцин. Мониторинг заболевания REO. Серомониторинг перед вакцинацией птицы против энцефаломиелита (AE) в 16 недель и исследование через 4 недели после проведения вакцинации.

22–24 W — Контроль проведенной вакцинации инаktivированной вакциной против IBD, NDV, IBV (6 недель после вакцинации). Мониторинг заболевания REO.

35–38 W — Контроль проведенных вакцинаций против IBD, NDV, IBV, REO в середине продуктивного периода у птицы.

Таблица 3.

Значения %КВ после вакцинации

% КВ (% коэффициент вариации)	Однородность титров
Менее 40%	Отличная
40–60%	Хорошая
Более 60%	Следует улучшить

Таблица 4.

Индекс вакцинации. Ожидаемые значения для бройлеров в возрасте 35–45 дней при применении живых вакцин против ИБК, НБ, ИББ (данные компании БиоЧек)

Программа вакцинации ИБК	(ИВ) в норме	(ИВ) в случае инфекции
Пулвак ИВ Праймер, Пулвак ИВ Н120	10–90	>110
Пулвак ИВ Н120 + штамм 793В	50–200	>200
Программа вакцинации НБ	(ИВ) в норме	(ИВ) в случае инфекции
3х, живая вакцина Пулвак ND LaSota, Пулвак ND В1	50–250	>300
Инаktivат 01D + 3х живая	50–280	>300
Программа вакцинации ИББ	(ИВ) в норме	(ИВ) в случае инфекции
1х и 2х живая		
Бурсин плюс	50–300	>300
Пулвак Бурса Ф	100–500	>500
Штамм БГ	200–600	>700
01D или in-Ovo		
Векторные	10–90	>200
Бурсаплекс	100–500	>600

Таблица 5.

Программа серологических исследований

Схема исследований ИФА для племенного бройлера									
Возраст	IBD	NDV	IBV	REO	AE	ART	Se/St	CAV	MG/MS
1-10 D	+	+	×	+		×	×		×
8-10 W	+	+	+	+		×	×	×	×
16-18 W	+	+	+	+	+	×	×	×	×
22-24 W	+	+	+	+		×	×	×	×
35-38 W	+	+	+	+		×	×	×	×
55-60 W	+	+	+	+		×	×	×	×
Схема исследований ИФА для коммерческой несушки									
Возраст	IBD	NDV	IBV	REO	AE	EDS	Se/St	ART	MG/MS
1-10 D	+	+	×	+			+	×	×
8-10 W	+	+	+	+			+	×	×
14-16 W		+	+	+	+		+	×	×
22-24 W		+	+	+		+	+	×	×
35-38 W		+	+	×			+	×	×
55-60 W		+	+	×			+	×	×
Схема исследований ИФА для товарного поголовья бройлеров									
Возраст	IBD	NDV	IBV	REO	ART	Se/St	ORT	MG/MS	AI
1-6 D	+	+	×	+				×	
45 D	+	+	+	×	×	×	×	×	×

× оптимальная программа; + минимальная программа



55–60 W — Контроль проведённых вакцинаций против IBD, NDV, IBV, REO в конце продуктивного периода у птицы.

Оптимальный серомониторинг MG/MS — каждые 6 недель, для невакцинированных стад не должно быть положительных титров. Исследование на ART, Se/St, CAV — по необходимости в зависимости от эпизоотической ситуации на птицефабрике.

Для коммерческой несушки

1–10 D — Определение уровня материнских антител NDV, REO. Прогнозирование даты вакцинации против IBD. Мониторинг заболевания Se/St.

8–10 W — Контроль после проведенной вакцинации против IBD, NDV, IBV; при отрицательных и низких титрах повторное проведение вакцинации NDV, IBV. Мониторинг REO, Se/St.

14–16 W — Контроль проведённой вакцинации живыми вакцинами против NDV, IBV перед применением инактивированных вакцин. Мониторинг заболевания Se/St, REO. Исследование птицы перед применением вакцины в 16-недельном возрасте против энцефаломелита (АЕ) и исследование через 4 недели после проведения вакцинации.

22–24W — Контроль проведённой вакцинации инактивированной вакциной против NDV, IBV, EDS (6 недель после вакцинации). Мониторинг заболевания Se/St, REO.

35–38 W — Контроль проведённых вакцинаций NDV, IBV в середине продуктивного периода у птицы. Мониторинг заболевания Se/St.

55–60 W — Контроль проведённых вакцинаций NDV, IBV в конце продуктивного периода у птицы. Мониторинг заболевания Se/St

Оптимальный серомониторинг MG/MS — каждые 6 недель, для невакцинированных стад не должно быть положительных титров. Исследование на ART — по необходимости в зависимости от эпизоотической ситуации на птицефабрике.

Для товарного поголовья бройлеров

1–6 D — мониторинг уровня материнских антител NDV, REO. Расчёт даты вакцинации против IBD. Мониторинг заболевания MG/MS.

45 D — мониторинг эффективности проведённых ранее вакцинаций IBV, NDV, IBD. Исследование на ART, Se/St, MG/MS, ORT, REO, AI — по необходимости в зависимости от эпизоотической ситуации на птицефабрике.

Иммуноферментный анализ с помощью тест-системы ELISA компании БиоЧек является одним из перспективных серологических методов, который позволяет проводить мониторинг основных инфекционных заболеваний на протяжении всего периода выращивания и определять, насколько правильно применена вакцина и какова её эффективность.



ГРУППА
КОМПАНИЙ
ВИК

 www.vicgroup.ru

 +7 (495) 777-67-67

 ООО «Торговый дом – ВИК»
140050, Московская область,
г.о. Люберцы, д.п. Красково,
Егорьевское ш., д. 3А, оф. 33

