



УДК 619:616.981.51

ШАЛАЛА КАРАМ ЗЕЙНАЛОВА, докторант
Республіканська ветеринарна лабораторія Азербайджана, Баку

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СЕРОКОНВЕРСИИ ПРИ НЬЮКАСЛСКОЙ БОЛЕЗНИ ПТИЦ, ТЕСТИРУЕМЫХ С ПОМОЩЬЮ РТГА И ELISA

В целом иммунная система может специфическим образом распознавать многие тысячи антигенов. Иммунный ответ основан на специфичности выработанных антител, которые являются основными реагентами для реакции торможения гемагглютинации (РТГА) и энзим-связывающего иммуноферментного анализа (ELISA – enzyme-linked immunosorbent assay). Выявление их присутствия в крови является важным фактором для изучения процессов ньюкаслской болезни и ее диагностики.

Проведены серологические реакции с целью выявления нормальных и патологических титров антител при ньюкаслской болезни у кур и индеек.

Образование специфических антител в ответ на антигенную стимуляцию является многофакторным. При помощи ELISA можно определить не только антигены и антитела, но и иммунные комплексы, и каждый будет способствовать диагностике ньюкаслской болезни. В общем свободно циркулирующий антиген существует в течение более короткого промежутка времени, чем свободно циркулирующее антитело. Повторное заражение тем же самым патогеном или обострение вызовут кратковременное увеличение объема свободно циркулирующего антигена, сопровождаемого повышенным уровнем образования циркулирующих антител [1, 2].

Антигены возбудителя ньюкаслской болезни стимулируют образование специфических антител, которые используются при ELISA в качестве индикатора инфекции. Обычно антителообразование является долговечным и часто происходит при отсутствии стимулирующих антигенов. Поэтому наличие антител не является показателем присутствия текущей инфекции в данный момент, но свидетельствует о ее воздействии на организм [3, 4].

Нейтрализация, агглютинация, прикрепление к рецепторам для недопущения внутриклеточной локализации и лизис – это хорошо известные

факторы биологического действия антител против возбудителя болезни. Если известен механизм работы иммунитета, т. е. воздействия антитела на антигены, и выделены антигены, то их можно использовать в ELISA исследовании для определения скорости образования и продолжительности жизни защитного антитела.

Однократное получение положительных результатов тестов позволяет судить лишь о наличии у птицы специфических антител, которые могли появиться как в результате заболевания, так и после вакцинации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эпизоотологическое обследование проводили в районах Бейлаган и Барда. Брали кровь кур и индеек из частных хозяйств. Применяли реакцию РТГА и метод ELISA.

Для реакции РТГА использовали специфический антиген, полученный из референс-лаборатории OIE (Всемирной организации здравоохранения животных) – IzSVE (Радова, Италия). Метод РТГА основан на простой реакции между вирусом и сывороткой крови.

Метод ELISA применяли, используя набор «Биочек» (Нидерланды), предназначенный для количественного определения антител (Ab) к заболеваниям в сыворотке крови домашних птиц.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Районы Бейлаган и Барда были выбраны не случайно. Здесь расположены птичий рынок, куда поступает птица из близлежащих мест для продажи, и это создаёт благоприятные условия для распространения болезни.

На фоне пассивного и поствакцинального иммунитета выявление болезни представляет определенные трудности, поэтому мы решили сделать сравнительный анализ. Исследования проводили в Республіканській ветеринарній лабораторії (г. Баку).

Результаты ELISA считывали в спектрофотометре «Биотек» (США) при фильтре 405 нм, где луч преломляется и ридер производит читку каждой лунки. Конечный результат изображался в компьютере. С помощью программы CEN5 делали скрининг-анализ, а также анализ патологических и нормальных титров.

Как видно из табл. 2, положительные пробы в РТГА и ELISA показали разные титры. Полученные данные позволяют сделать вывод о том, что различия между нормальными и патологическими титрами достаточно высоки, что доказывает присутствие вируса болезни Ньюкасла. Если титры близки по значению, это значит, что в хозяйствах была проведена вакцинация.

Отметим, что для контроля качества результатов были сделаны повторные анализы. Полученные данные сравнивали по системе Леви – Дженингса. Сделав интерпретацию по этим данным, можно построить график (см. рис.).

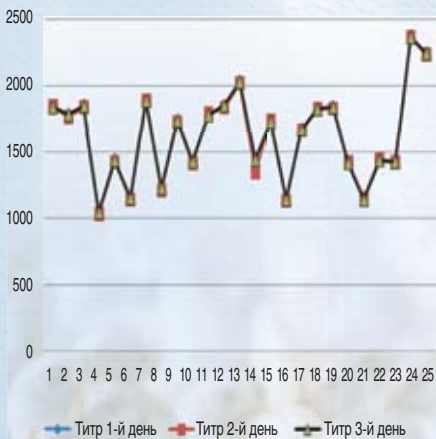
Как видно из графика, титры тестов, полученные в разные дни, имеют близкие значения, что доказывает валидность результатов.

Таблиця 1 – Результати, полученные после вычисления с помощью соответствующей формулы и программы Excel

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Negative control 0,13		Sample 7 1890	-0	Sample 15 1741	-0	Sample 23 1423	6,233	Sample 31 1844	-0	Sample 39 2085	-0
B	Positive control 0,229		Sample 8 1216	5,3	Sample 16 1142	-0	Sample 24 2360	-0,016	Sample 32 1425	-0	Sample 40 1885	-0
C	Sample 1 1850	-0	Sample 9 1742	-0	Sample 17 1675	-0	Sample 25 2245	-0,002	Sample 33 1,31	5,72	Sample 41 1375	-0
D	Sample 2 1780	-0	Sample 10 1425	-0	Sample 18 1835	6	Sample 26 0,055	0,043	Sample 34 1445	-0	Sample 42 1655	-0
E	Sample 3 1855	0	Sample 11 1790	-0	Sample 19 1844	-0	Sample 27 1485	0,014	Sample 35 1744	-0	Sample 43 1238	-0
F	Sample 4 1043	-0	Sample 12 1850	0	Sample 20 1425	-0	Sample 28 1235	5,783	Sample 36 1435	-0	Sample 44 1365	-0
G	Sample 5 1435	-0	Sample 13 2034	6,3	Sample 21 1142	-0	Sample 29 1342	-0,016	Sample 37 1795	-0	Sample 45 1035	-0
H	Sample 6 1144	-0	Sample 14 1445	-0	Sample 22 1445	-0	Sample 30 1425	-0,014	Sample 38 1363	5,96	Sample 46 1395	-0

Таблиця 2 – Титры, полученные после анализов РТГА и ELISA

Название района	Вид птицы	Количество проб	РТГА		ELISA		Результат
			нормальные титры	патологические титры	нормальные титры	патологические титры	
Бейлаган	Куры	170	130 пр. – 1:2, 1:4, 1:8	26 пр. – 1:32, 1:64	1000–1200	40 пр. – 1:2000	40 положительных и 210 отрицательных проб
	Индейки	80	66 пр. – 1:4, 1:8	14 пр. – 1:64		14 пр. – 1:2100	
Барда	Куры	155	180 пр. – 1:2, 1:4	52 пр. – 1:16, 1:32, 1:128	1000–1200	52 пр. – 1:2000	60 положительных и 190 отрицательных проб
	Индейки	95	87 пр. – 1:4, 1:8	8 пр. – 1:16, 1:64		3 пр. – 1:2100	



Контроль качества для проведенных тестов

ВЫВОДЫ

1. Полученные данные свидетельствуют о вариации между нормальными и патологическими титрами. Сравнение значений результатов и значений в стандартных процедурах РТГА и ELISA показывает, что большинство проб дали нормальные титры (1:2, 1:4).
2. Присутствие высоких титров (1:32, 1:64) говорит о наличии патологических титров в оставшихся пробах,

а не о влиянии вакцинации, так как обычно при вакцинации более 80% проб дают одинаковый титр. Следовательно, проведенные анализы показали различие между патологическими и нормальными титрами в сыворотке крови домашних птиц, что позволяет сделать правильную интерпретацию.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Зейналова Ш.К. Сравнительная оценка методов микробиологической диагностики ньюкаслской болезни / Ш.К. Зейналова, Э.М. Агаева // Известия аграрной науки (Грузия). – 2011. – Т. 9. – № 4. – С. 117–120.
2. Сюрин В.Н. Диагностика вирусных болезней животных / В.Н. Сюрин, П.В. Белоусова, Н.В. Фомина. – М.: Агропромиздат, 1991. – С. 237–254.
3. Brown J. The relationship between the hemagglutination-inhibition test and ELISA for detection of antibody to Newcastle disease / J. Brown, R.S. Resurrection, T.G. Dickson // Avian Dis. – 1990. – Vol. 34. – P. 585–587.

4. Cadman H. Comparison of enzyme-linked immunosorbent assay and haemagglutination inhibition test for the detection of antibodies against Newcastle disease virus in ostriches / H. Cadman, P. Kelly, N. Angelis e.a. // Avian Pathol. – 1997. – Vol. 26. – P. 357–363.

Одержано 2.04.2013

A comparative study of performance seroconversion with Newcastle disease, which is tested by the reaction of hemagglutination inhibition and ELISA. Shalala Karam Zeynalova

In general, the immune system can recognize a specific way many thousands of antigens. The immune response is based on the specificity of the developed antibodies, which are the main agents for hemagglutination inhibition (HAI) and enzyme-binding immunosorbent analysis (ELISA). Identifying their presence in the blood is an important factor for the study of Newcastle disease and its diagnosis.

The author of the article was conducted serological tests for the detection of normal and abnormal antibody titers at Newcastle disease in chickens and turkeys. ☉