

# Lehetőségek az in ovo vakcinázás minőségellenőrzésére

Medveczki András  
Felföldi Balázs  
Tatár Kis Tímea  
Palya Vilmos



# A vakcinázási eszközök fejlesztésének története



Az emberi hibák kiküszöbölése és a sebesség növelése érdekében tett erőfeszítések története



2000-3000/h



800-1000/h

A kikelt csibe nem várakozik az oltás miatt 4-10 órát



25-70 000/h

# Az in ovo vakcinázás kevesebb mint 30 év alatt elterjedt a világon

**1982: Első publikálás- Sharma és Burmeister**

1985: Szabadalmi védettség -Embrex inc.

**1991: Első kereskedelmi gyakorlati felhasználás**

2000: A főbb keltetők az USA-ban ezt használják és ezen kívül 27 országban

**2006: ECAT alapítása**

**2009: >85% USA broiler piacának in ovo vakcinázást kap, ezen kívül 36 országban 6 kontinensen jelentős az in ovo technika a broiler vakcinázást tekintve**





## Magyarországon a broilerek döntő többségét in ovo vakcinázzák

- 2014-2018: a terméktanácsnak jelentő broiler termelők állományának kb. **80%-a in ovo vakcinázást kap**
- **Döntően(>98%) immunkomplex-IBD vakcinával**



# In ovo vakcinázás elvi vázlata –Swarma és Burmeister



Megfelelő időben a tojásba juttatjuk a vakcinát

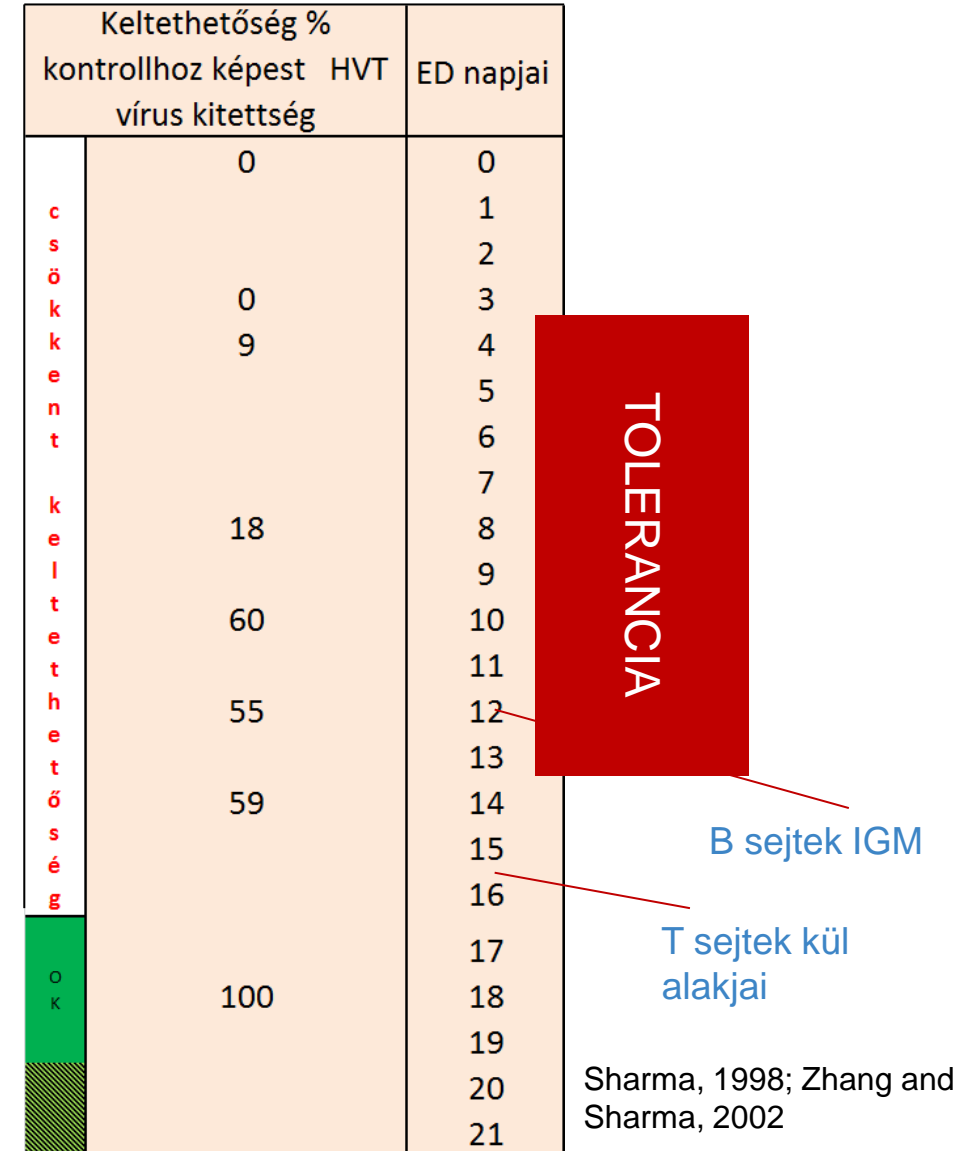
- keltethetőség
- immunkompetencia

A vakcina adag az amnion tömlőbe kerül,  
(vagy intraembrionálisan)

Extraembrionális (allantois, légkamra)  
vakcinázás esetén nem számíthatunk  
védelemre

Az amnionon folyadékot az embrió lenyeli

A vakcinavírus elterjed és kiváltja a védelmet



# A minőség ellenőrzés pontjai

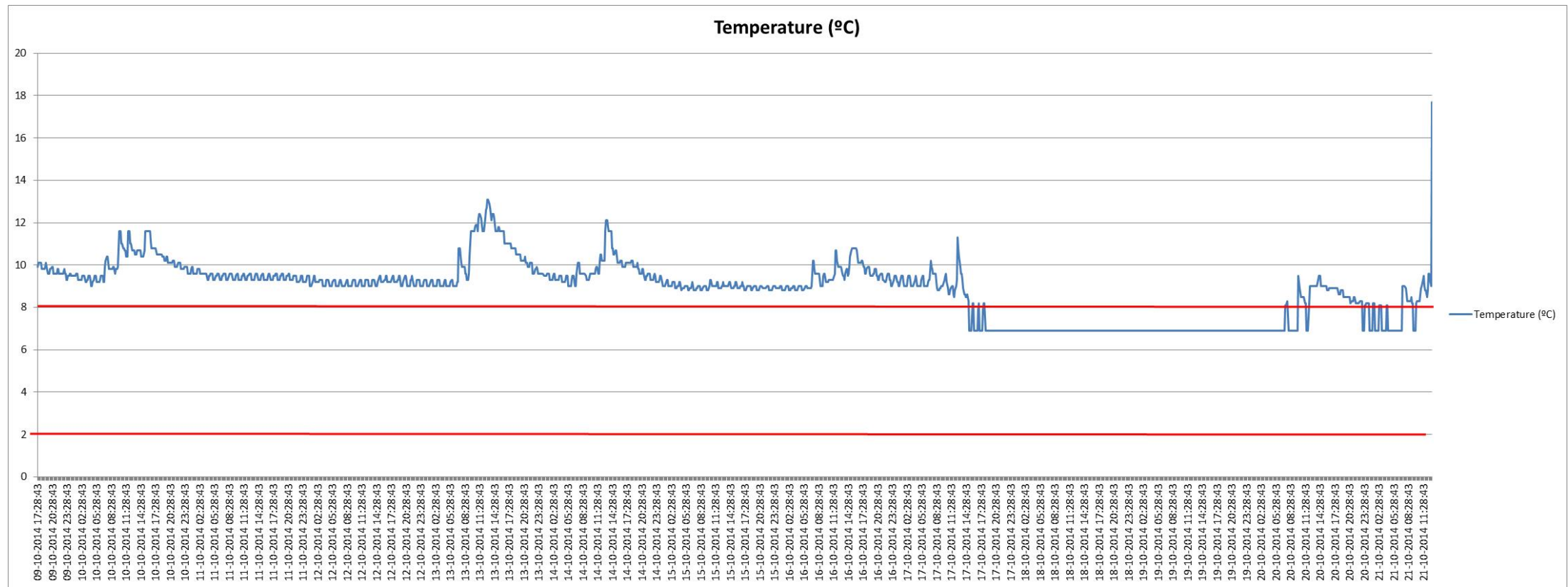


Keltető	Laboratórium
Vakcina tárolás (ellenőrző hőmérők: min- max, adatgyűjtő)	
Vakcina előkészítés (sterilitás, titer vesztes megelőzés )	
Embriófejlettség ellenőrzése-Vakcinázás ideje	
Vakcinázás	Szerológiai, PCR, ellenőrzés
Kérfestékes ellenőrzés	
Próbatálcás ellenőrzés	
Dózis térfogat ellenőrzés	
Dózis pozíciójának az ellenőrzése	
Kelés ellenőrzése	Mikrobiológiai ellenőrzések

# Spray vakcina hűtő 2014 okt.9. -okt. 21. közt thermodata logger 3 óránkénti adatgyűjtése



**Amit természetesnek veszünk azt is ellenőrizni KELL!**



# Embrió kora: 18-19,2 nap között megfelelő



Megállapítása: Tojástöréses vizsgálat.

A tojásokat a gép különböző pontjairól kell venni: fent, középen, lent - kívül és belül

17,5 nap korai



Sziktömlő kb fele a sziktömlő  
+ testhossznak ,  
Fej a láb között  
Belek láthatóak egyes  
embrióknál

18,5 nap optimális



Sziktömlő kb. 1/3-a  
Fej a szárny alatt  
Érett szik

19 nap végső



Sziktömlő 1/4-e  
Belső felvágás max 2%  
Tollak még nedvesek



# Óra szerinti keltetési időkhöz képest lehet eltérés a tényleges embrió-fejlettségében (ED)



ED-t befolyásoló tényezők: Szülőpár kora, tojás-tárolás, gép hőmérséklet, beállítások, előmelegítések hossza és pontossága



Inkább 18 napos



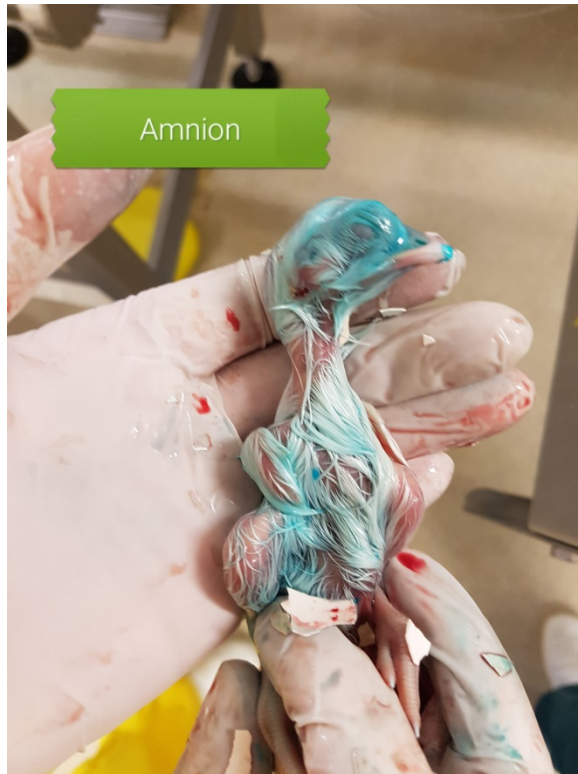
17,5 nap körüli

**1 műszak 8 óra!**

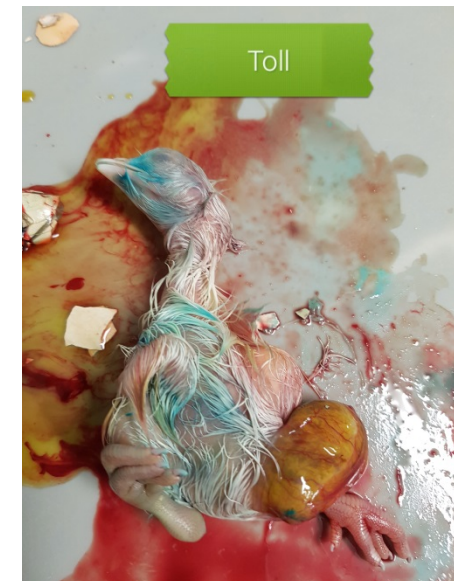
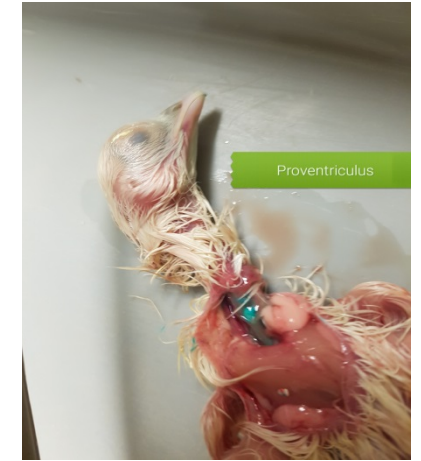
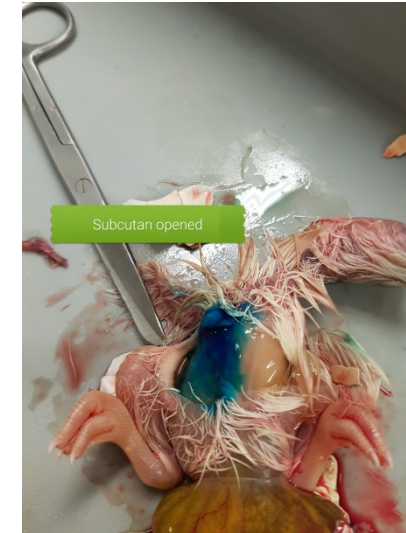
# Dózis depozíciója: 95-98% intraembrionális depozíció



Amnion folyadék az  
optimális



~~Allantois  
extraembrionális  
elfogadhatatlan~~



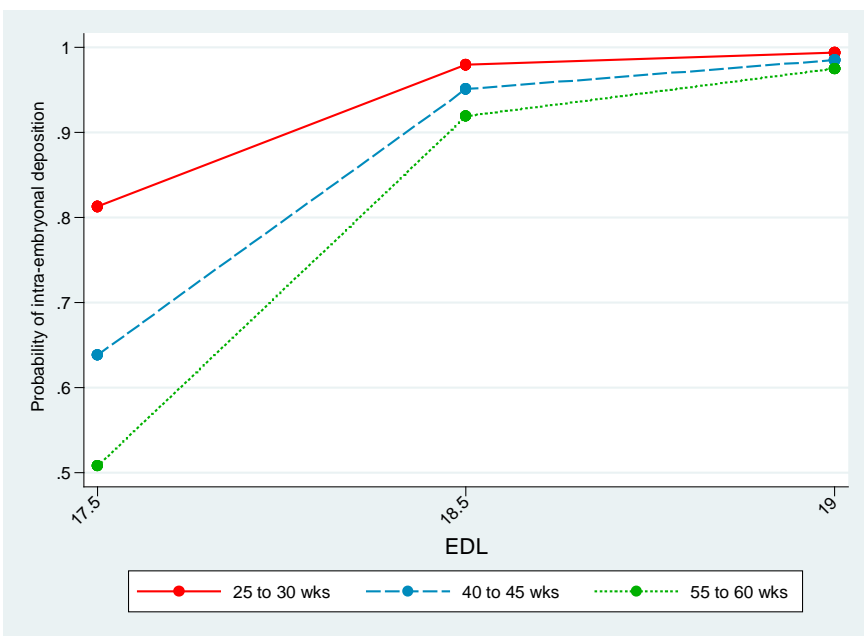
# Vakcina adag pozíciója az embriófejlettség függvényében



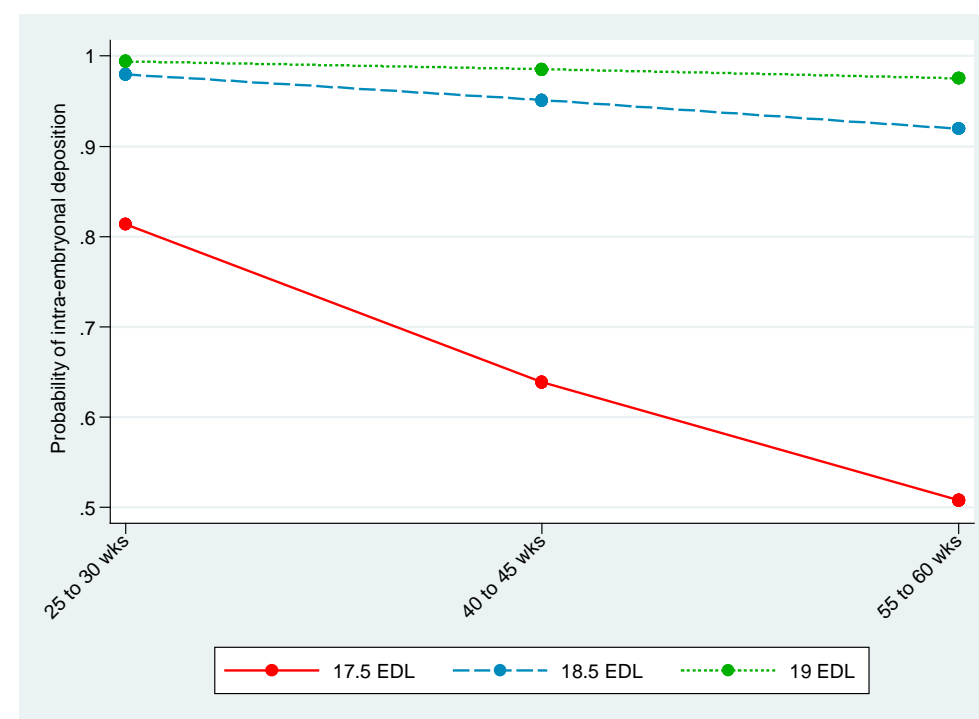
Optimálisnál idősebb embrió: nagyobb a valószínűsége, hogy intraembriónális (test) szúrást kap vagy a szárazabb tollra kerül a vakcina

Optimálisnál fiatalabb az embrió: nagyobb az allantois tömlő, így nagyobb az esély, hogy allantoisba kerül a vakcina –nincs védelem

Minél idősebb a szülőpár annál inkább ügyelni kell a korrekt pozíciójú oltásra



Intraembryonic= nem légkamra és nem allantois





# Vakcinázási technika

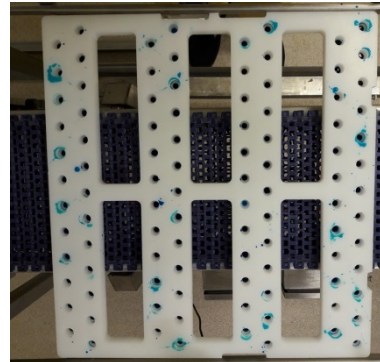


**Gép működés:** Karbantartás= Higiéniai és műszaki paraméterek

## Alkatrészellátás és rendelkezésre állás

**Üzemközbeni fertőtlenítések:** A gép automatikusan leáll ha nincs fertőtlenítés, de az oldat fertőtlenítő hatását nem érzékeli. **Mindig megfelelően kell a fertőtlenítő oldatot elkészíteni. Bármilyen hiba, a kelésben rögtön érződik.**

**Dózis kontroll:** próbatálcás vizsgálat



**Off center injekció:** a légkamra területén belül: a dual-pressure-rendszerrel nem gond, egyéb rendszereknél igazítás az injekció előtt

**Lateralis injekció:** embriókárosodás Igazítás

**Fordított tojás:** embriókárosodás. A tojásgyűjtéskor és a tojásfogadáskor kell a megfelelő pozíciót biztosítani. **Megoldás az automatizáció:** Ovosense vagy egyéb gépek.



# In ovo oltás telepi állományszintű szerológiai ellenőrzése



- Statisztikai relevancia fontos. Mintavételek száma, minták nagysága stb.
- Az immunkomplex IBD vakcina terjed, a 6 hetes szerológia elfedheti az oltás esetleges hibáit (5-10%)
- Olyan vakcinát kell felhasználni az ellenőrzésre, amely nem terjed
- Olyan vizsgálati módszert kell választani, amely leginkább megfelelő a nem terjedő vakcina ellenőrzésére

# PI005 kísérlet szerológiai adatai



## Anyag és Módszer

- Broiler (Ross 308 vagy Cobb 500).
- rHVT –ND vakcina (*in ovo*)
- Elhelyezés: 10 istálló, 1400 m<sup>2</sup>, 26,000 madár/ istálló;
- Az első vizsgálatot egy második követte egy hasonló farmon kb. 520,000 broiler bevonásával. Ugyanattól a szülőpártól 2 hetes különbséggel telepítve
- *In ovo* gép: ECAT-ID Egginject<sup>®</sup>;
- rHVT-ND alkalmazása a transzfernél óra szerint és töréses vizsgálattal 18,5 nap 19,5 nap szélső értékkel,
- D0 MDA ND átlag titerok:

	rHVT-ND 1	rHVT-ND 2
HAG teszt (log <sub>2</sub> )	8.26	9.4
BioChek ELISA	16020	17244

# Mérések, oltás-minőségellenőrzési szempontból kiemelt vizsgálatok



- 3. hét-4 . hét -5 . hét -6. hét: vérvétel (50 random egyed/csoport ):
  - **ND ELISA**
    - „rHVT ID Vet” (ID Screen® Newcastle Disease Indirect ELISA; product code: NDVS),
    - „BioChek” (BioChek Newcastle Disease antibody test kit; product code: CK116 NDV)
    - „NP ID Vet” (ID Screen® Newcastle Disease Nucleoprotein Indirect ELISA; product code: NDVNP)
  - **IBD ELISA** (BioChek Infectious Bursal Disease Virus Antibody test kit; product code: CK113 IBD).
- 6 . hét: lépek, szervgyűjtés a vágóhídon (50 random egyed/csoport):
  - rHVT-ND specifikus real –time PCR vizsgálat (VTM ND insert specifikus).

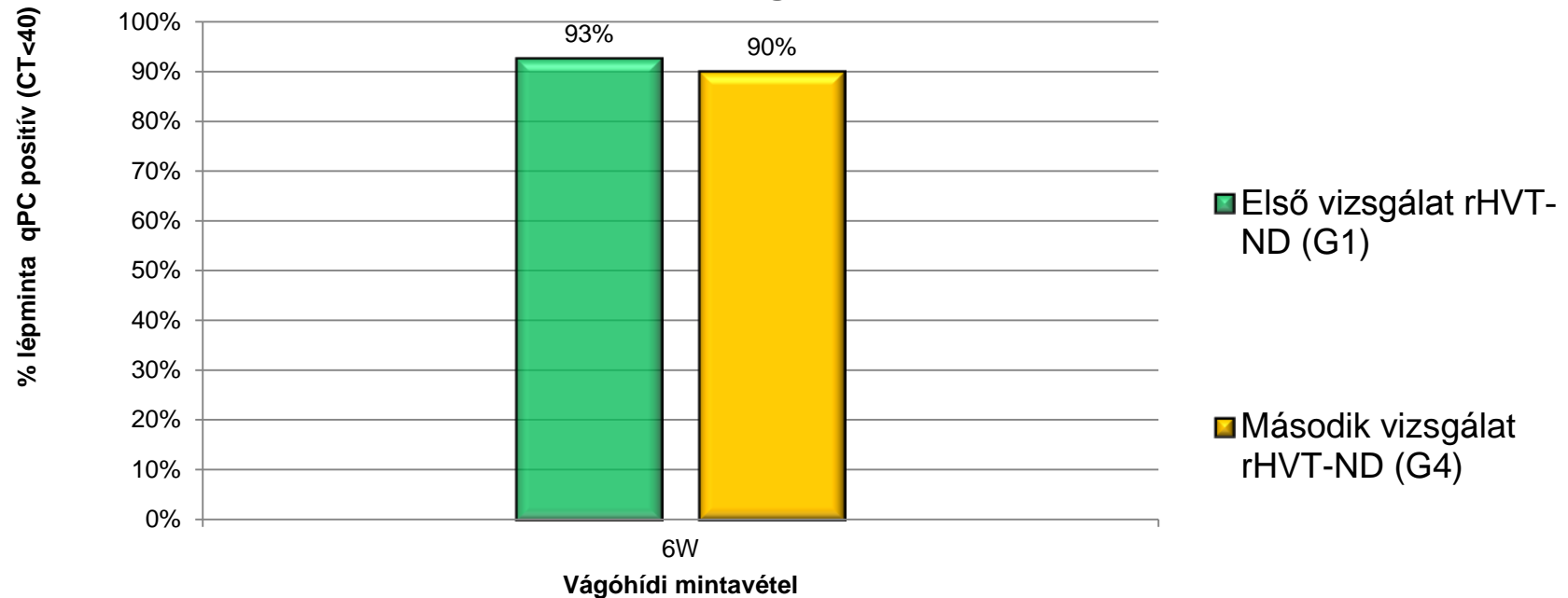
rHVT-ND		
<b>Első vizsgálat</b>	1. Csoport /Group 1	Telep 1: (264,000)
<b>Második vizsgálat</b>	4. Csoport /Group 4	Telep 2: (260,000)
<b>ED18.5</b>	Bújtatás, vakcinázás: Embrio kor ellenőrzés In ovo rHVT-ND & icxIBD (Egginject)	
<b>D0</b>	Kelés, Keltetői vakcinázás (in-line spray,): 793B + Massachusett típusú H120 törzset tartalmazó vakcina	

# Az rHVT-ND vakcina jelenléte a lépmintákban



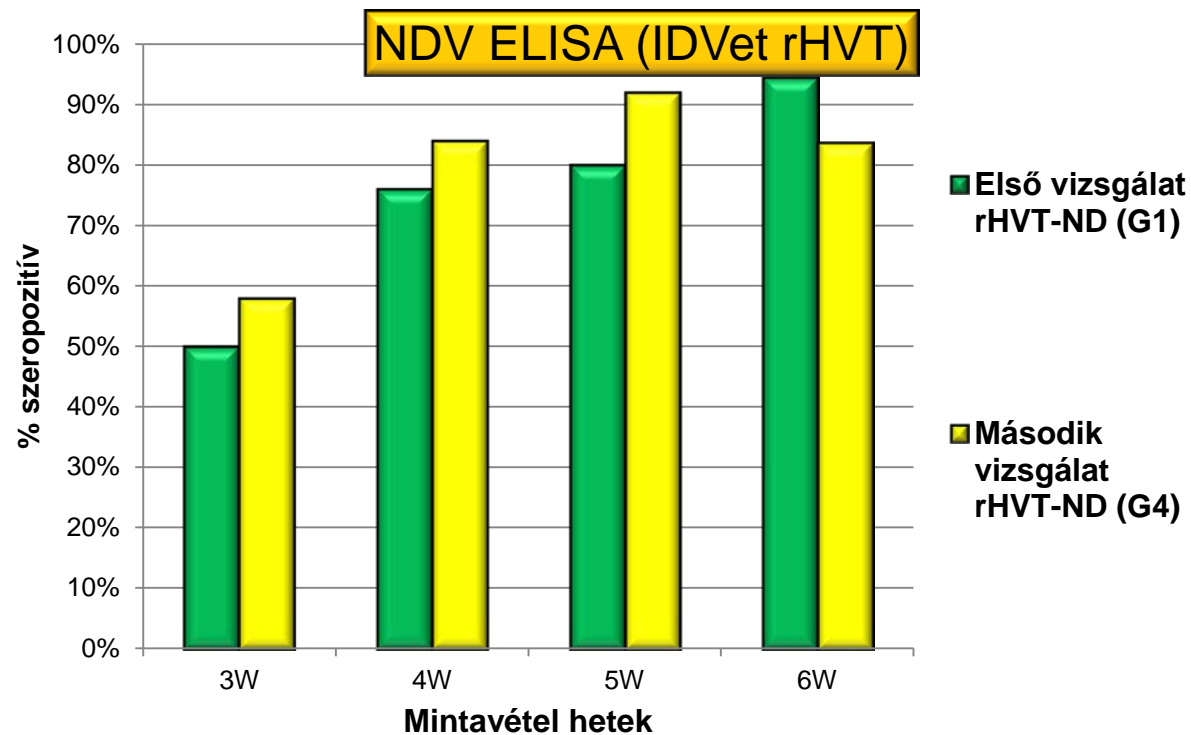
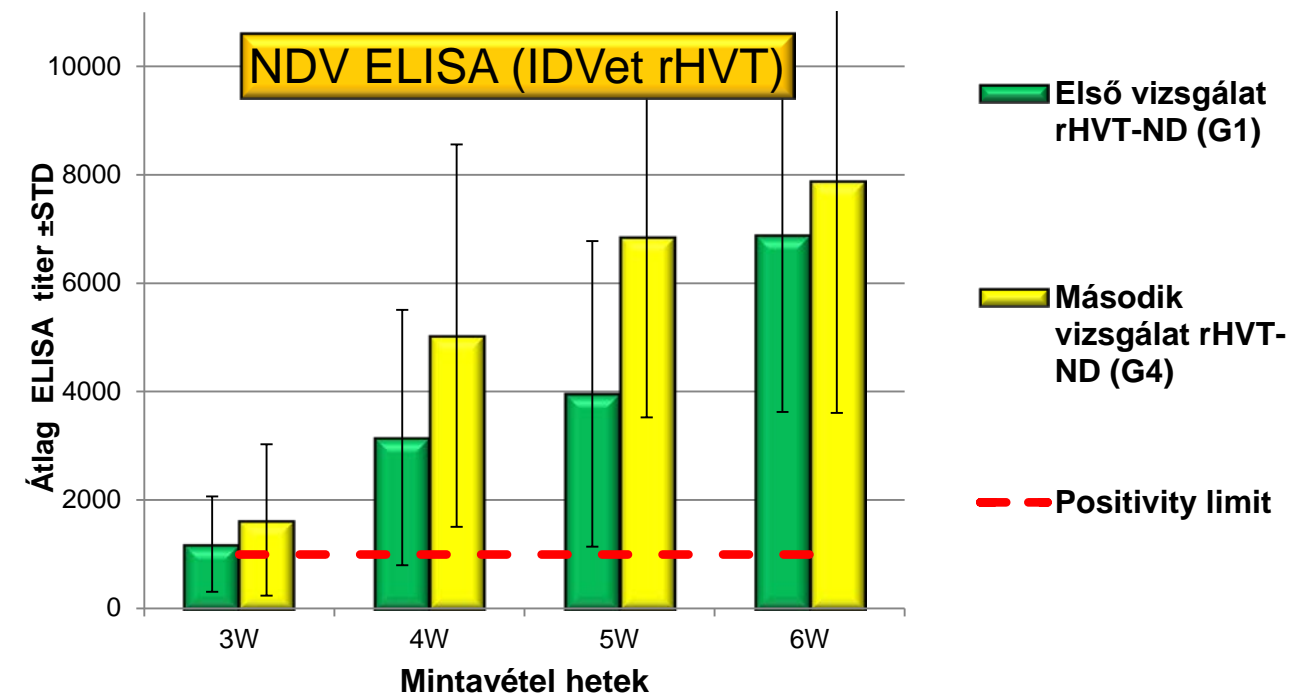
Az in ovo vakcinázás sikeresnek tekinthető

## rHVT-ND kimutathatóság lépből





# Eredmények: NDV ELISA: IDVet rHVT-ND

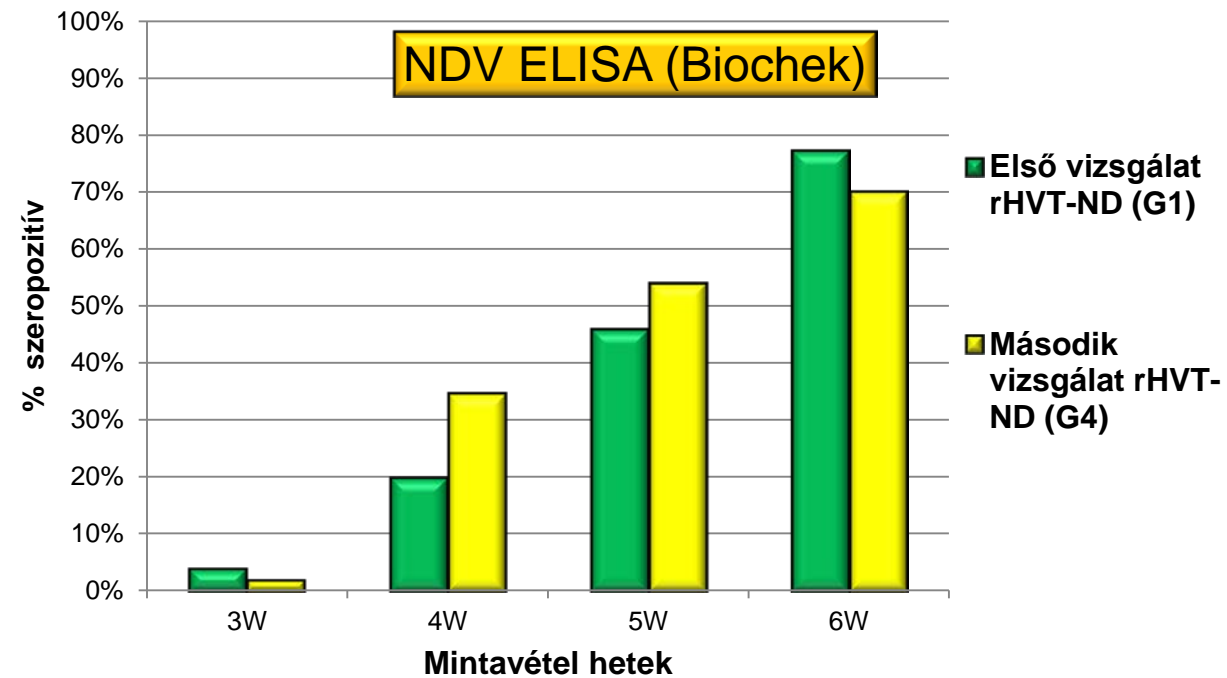
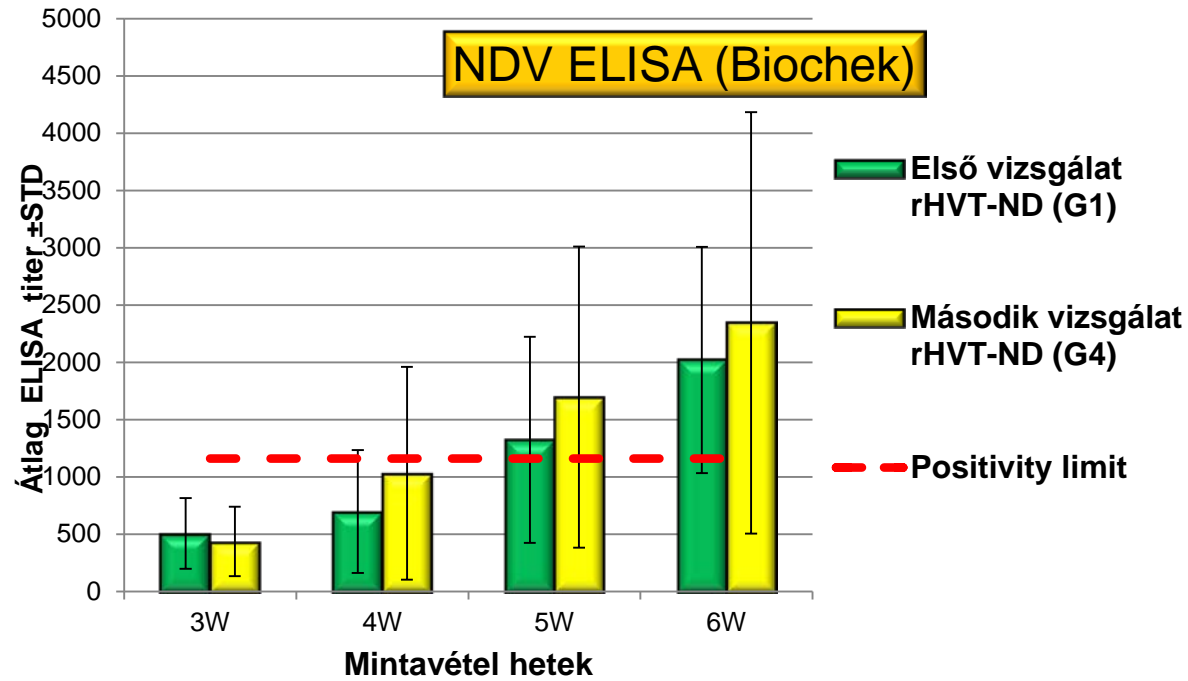


IDVet rHVT kit az rHVT -ND vakcina (F fehérje) által kiváltott immunválaszra van érzékenyítve. Az rHVT-ND vakcina robosztus immunválaszt váltott ki az eredmény korrelál a PCR vizsgálattal

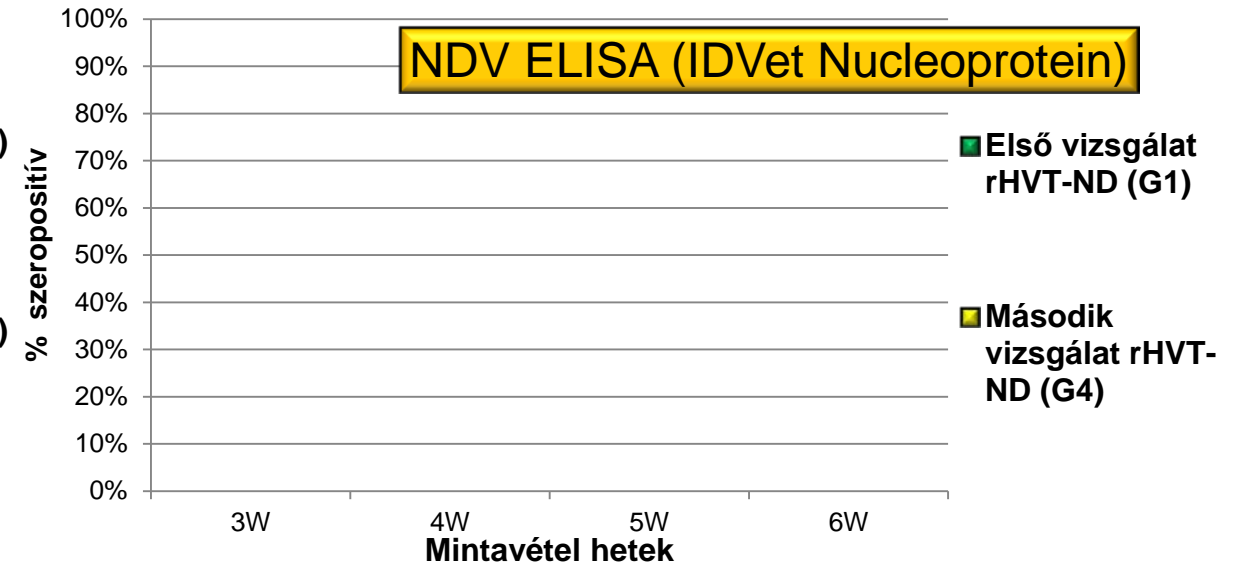
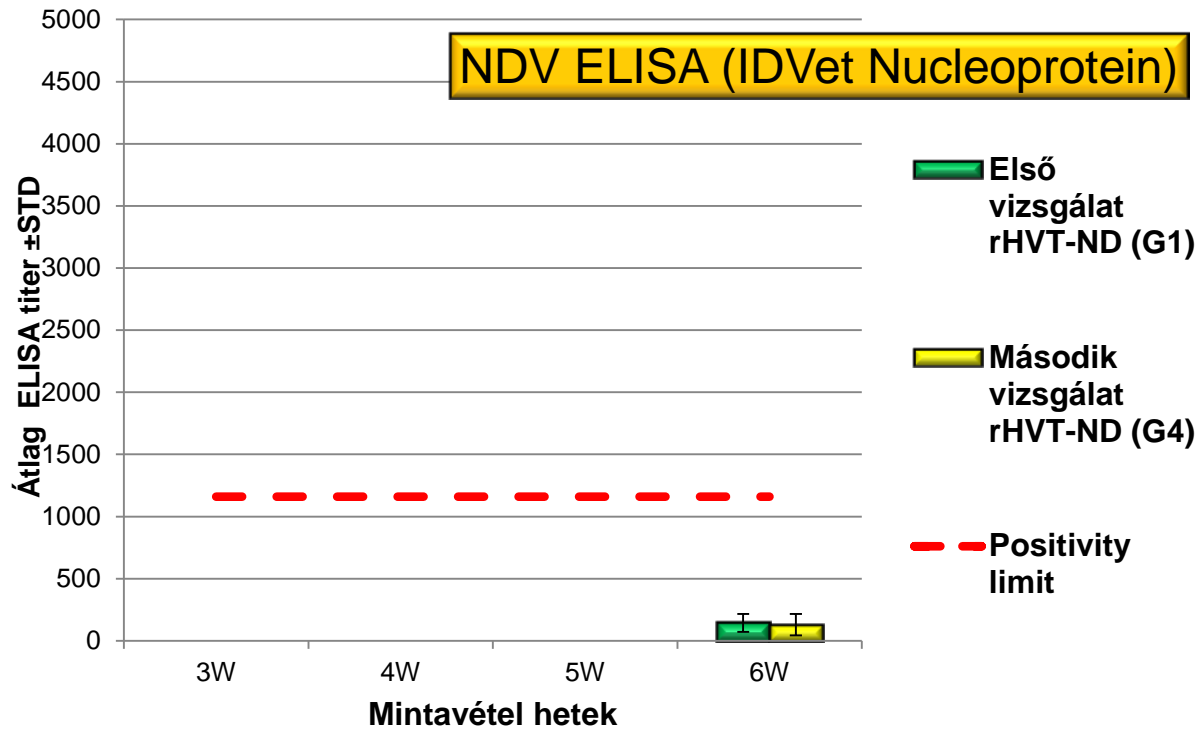
# Eredmények: BioCheck ND ELISA



A normál BioCheck ELISA kevésbé alkalmas minőség ellenőrzés szempontjából

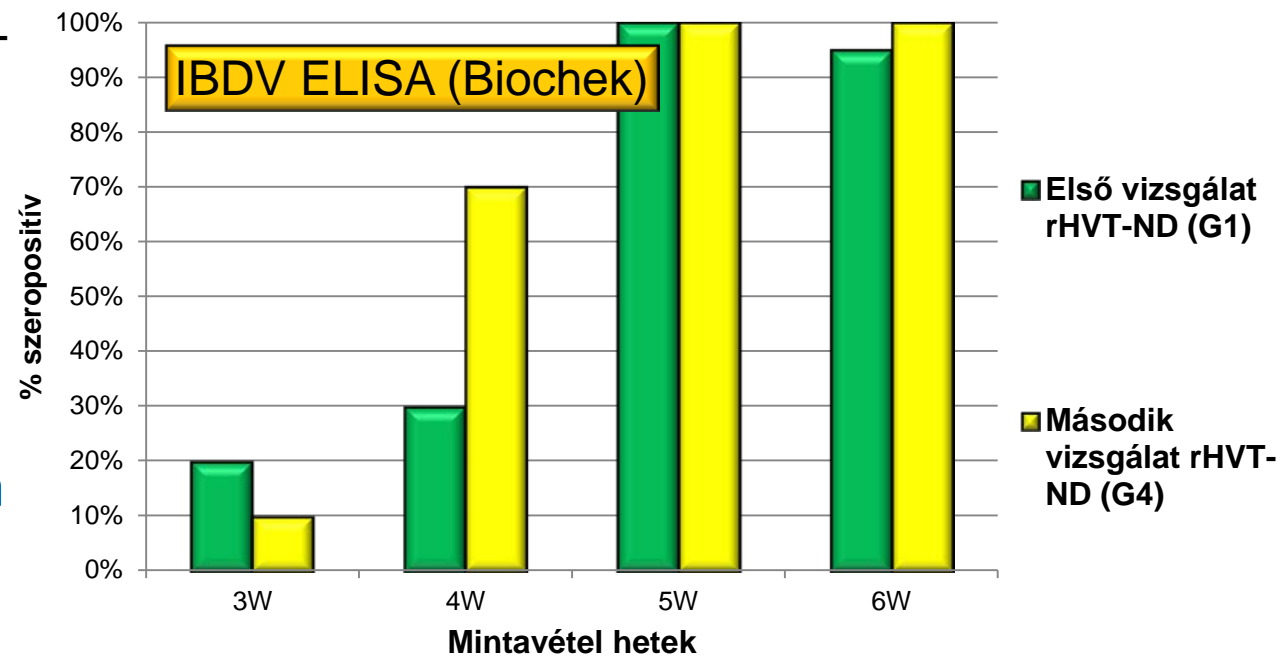
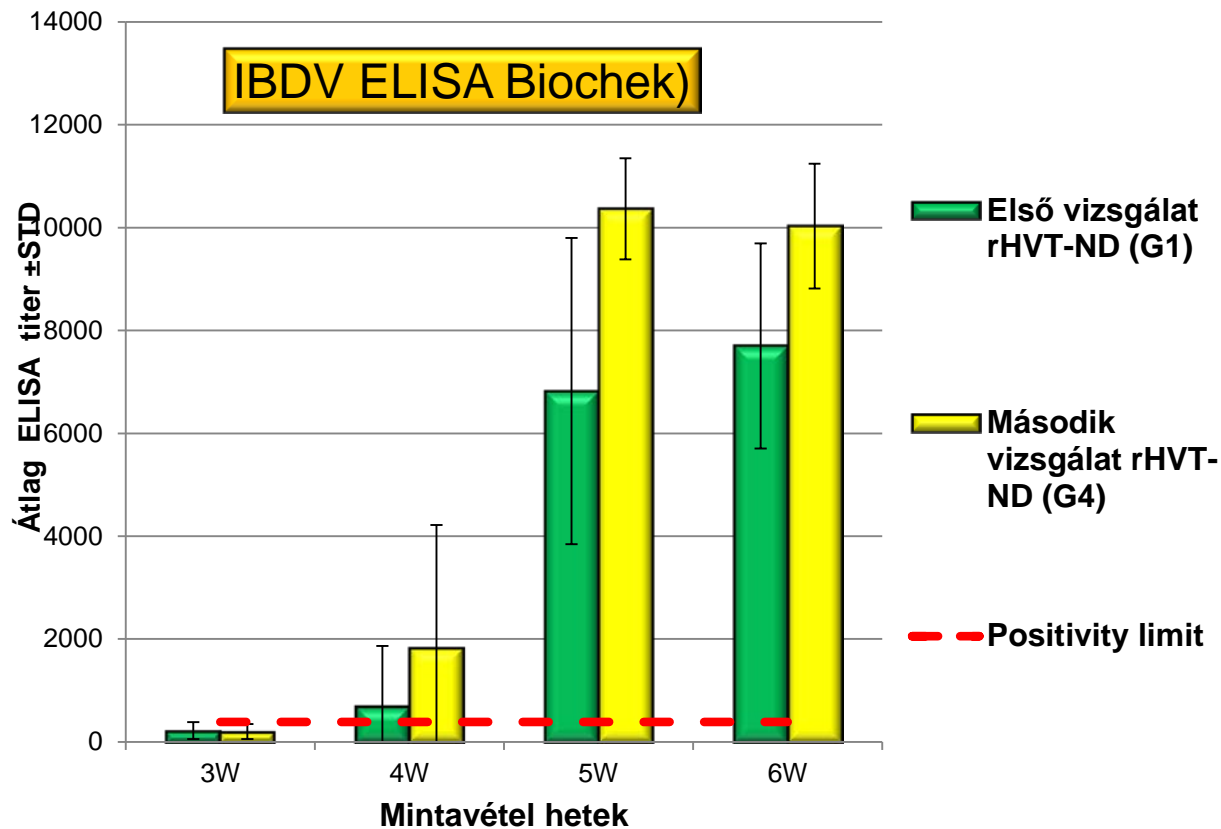


# Eredmények ID Vet Nucleoprotein ELISA



Az rHVT- ND vakcina csak az NDV F fehérjét fejezi ki a nucleoprotein fehérjék nincsenek jelen a vakcinázás után . Így ezzel a módszerrel azt zártuk ki, hogy az rHVT IDVet kittel talált áthangolódás háttérében szomszédos állományokból esetlegesen behurcolt élővírusos ND vakcina által kiváltott immunválasz állna.

# Eredmények IBD ELISA: immuncomplex IBD vakcina



Az immunkomplex vakcina terjed az állományon belül. Ez elfedi az esetleges kisebb vakcinázási hibákat .



# Következtetések



Az in ovo vakcinázás és annak ellenőrzése bonyolult, összetett folyamat

Önmagában a megfelelően működő gép nem elégséges

Az in ovo vakcinázás kialakítását és annak minőségét csak több szakember rendszerbe foglalt programozott munkája képes biztosítani. Tudományos ismeretek, szakember gárda , labor háttér, helyi alkatrész bázis, stb . Ezek megléte fontosabb mint a gép paraméterei

Az in ovo vakcinázás szerológiai ellenőrzéséhez nem terjedő vakcinát érdemes választani  
Célszerű vektor HVT vakcinát használni

A szerológiai módszereket az adott vakcinázáshoz kell megválasztani



Köszönöm a figyelmet!