

ляции вируса среди птицепоголовья многих регионов страны.

2. О «благополучии» в отношении ИЛТ следует рассуждать, как об условном благополучии в связи с отсутствием типичной ларинготрахеальной формы болезни с выраженной клинической картиной и высокой смертностью.

3. Ситуация в «благополучных» хозяйствах может существенно измениться при воздействии стресс-факторов с эволюцией, типичной для большинства факторных болезней: латентная форма — атипичные формы — острое течение в классической форме и с переходом от спорадических случаев к эпизоотическому течению.

РЕЗЮМЕ

Задача настоящей работы состояла в ретроспективной оценке распространения вируса инфекционного ларинготрахеита птиц (ИЛТ) на территории РФ, а также косвенном определении эффективности вакцинации (или специфической профилактики данного заболевания) за 2005 год. В настоящем сообщении обобщены результаты серологического мониторинга по ИЛТ в сыворотках крови у птиц мясных и яичных кроссов, доставленных из 178 птицеводств 48 областей 7 Федеральных округов РФ. Показано повсеместное распространение заболевания в исследуемых регионах и сложный характер динамики иммунного ответа у различных возрастных групп, как в благополучных, так и в неблагополучных по заболеванию хозяйствах.

ABSTRACT

The work was aimed at the post-evaluation of the infectious laryngotracheitis spread on the RF territory as well as at the indirect determination of the vaccination efficiency (or of the specific prophylaxis of the disease) in 2005. The data on serologic monitoring of ILT blood sera obtained from meat and egg cross-chickens are summarized. The sera were taken from 178 poultry plants located in 48 oblasts of 7 RF Federal districts. The disease wide spread was demonstrated in the examined regions. The complexity of the immune-response dynamics in chickens of various ages on the plants both free from the disease and affected ones was also shown.

Литература

1. В.Ф. Бабкин. Инфекционный ларинготрахеит птиц (Разработка инактивированных вакцин, методов диагностики и системы противоэпизоотических мероприятий: автореф. дис. ... д-ра вет. наук). Харьков, 1996. 33 с.
2. А.В. Борисов. Вакцины для птицы // Животноводство России. 2004. № 6. С. 15–16.
3. В.Н. Ирза, А.В. Борисов, В.В. Борисов, С.К. Старов. Современные стратегии вакцинопрофилактики инфекционных болезней птиц в российском птицеводстве. Тенденции и перспективы. БИО. 2005. № 7. С. 6–7.
4. В.Н. Сурин, А.Я. Самуйленко, Б.В. Соловьев, Н.В. Фомина. Вирусные болезни животных. М.: ВНИТИБП, 1998. 928 с.
5. В.Н. Ирза, А.В. Борисов, В.В. Борисов и др. Проблемы респираторных заболеваний в современном птицеводстве // 1-й Междунар. вет. конгресс по птицеводству. М., 2005. С. 14–22.
6. T.J. Bagust, J.S. Guy. Под ред. Б.У. Кэлнека. Ларинготрахеит // Болезни домашних и с.-х. птиц. М., 2003. С. 608–622.
7. J.R. Andreasen, J.R. Glisson, M.A. Goodvin. Studies of ILV: immunity in broilers // Avian Diseases. 1989. V. 33, № 3. P. 516–523.

УДК 619:616.98:578.834.11:636.52/.58:616-085.371

О.А. Чупина, Д.А. Глейзер

ИССЛЕДОВАНИЕ ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ ОТЕЧЕСТВЕННЫХ ИЗОЛЯТОВ ВИРУСА ИНФЕКЦИОННОГО БРОНХИТА КУР

Введение

Инфекционный бронхит кур (ИБК) — высококонтагиозное вирусное респираторное заболевание, причиняющее значительный урон птицеводству. Высокая ва-

риабельность возбудителя и его широкое распространение способствуют постоянному возникновению новых, серологически отличных от уже известных, вариантов вирусов ИБК [1, 2].

Важным условием эффективной иммунопрофилактики ИБК является соответствие антигенных свойств полевых изолятов возбудителя и штаммов, используемых для изготовления вакцины, поэтому постоянно возникает потребность выделения и дифференциации выявленных вариантов вируса.

Выделение и серологические исследования вируса ИБК традиционно проводятся с использованием развивающихся куриных эмбрионов (РКЭ), первичных клеточных культур куриных фибробластов, печени, почек эмбрионов [1]. При адаптации вируса к указанным культуральным системам требуется в среднем 5–10 пассажей, что практически занимает более 2 месяцев, прежде чем вирус начинает накапливаться в экстраэмбриональной жидкости или культуральной среде и вызывать патогномичные изменения эмбрионов или оказывать цитопатическое действие на культуры [5, 8]. При этом иммунобиологические свойства возбудителя зачастую изменяются. Некоторые штаммы вируса ИБК даже после продолжительного пассирования в КЭ не проявляют четкого эмбриопатического действия, что затрудняет детекцию и количественный учет вируса [5].

Показано, что при инфицировании птиц вирус в первую очередь внедряется в цилиарные клетки трахеи и вызывает их поражение, проявляющееся в разрушении ткани и остановке движения ресничек эпителия [4]. Поэтому первичным субстратом культивирования вируса ИБК могут служить переживающие эксплантаты наиболее восприимчивой к данному возбудителю органа — трахеи. Полевой вирус способен реплицироваться в такой системе без предварительной адаптации, что сокращает время исследования и предотвращает изменение свойств вируса [7].

Таким образом, целью работы являлось исследование иммунобиологических особенностей некоторых отечественных изолятов вируса ИБК и оценка их антигенного родства к наиболее распространенным в России вакцинным штаммам с использованием трахеальной органный культуры (ТОК).

Материалы и методы

Для антигенной идентификации полевых изолятов вируса осуществляли постановку реакции нейтрализации (РН) с сыворотками к референтным штаммам вируса ИБК, при этом биологической тест-системой служила ТОК.

Отечественные изоляты вируса ИБК:

«Калужский», «Таганрогский», «Щелковский». Данные вирусы были выделены в ФГУ ВНИИЗЖ в период с 2001 по 2005 гг. из патологического материала птицеводческих хозяйств.

Вакцинные штаммы вируса ИБК: «Н-120» серотипа Массачусетс, «D274» серотипа D207, «4/91» серотипа 793В.

Сыворотки: гипериммунные к данным вариантам вируса сыворотки крови кур.

Трахеальная органный культура. Переживающие эксплантаты готовили из трахей СПФ-РКЭ сроком инкубации 20 суток. Культуру поддерживали в роллерном аппарате при 37° С в стеклянных пробирках со средой ПСП с добавлением антибиотиков — гентамицина сульфата и энрофлоксацина.

Для постановки РН с одним разведением сыворотки [3] готовили ряд последовательных десятикратных разведений каждого из исследуемых штаммов. Гипериммунные сыворотки крови цыплят инактивировали при 58° С в течение 30 мин и разводили питательной средой в соотношении 1:10. Смесь равных объемов разведений от 10^{-1} до 10^{-6} вирусной суспензии и сыворотки инкубировали при комнатной температуре в течение одного часа и вносили по 0,2 мл в пробирки с ТОК с объемом среды ПСП 0,8 мл. Наличие или отсутствие цилиостаза учитывали в течение 5–6 суток после заражения. Титр вируса определяли в дозах, вызывающих цилиостаз в половине культур (CD_{50}). Индекс нейтрализации штаммов с гомо- и гетерологичными сыворотками рассчитывали по методу Рида и Менча. Цилиостаз в ТОК, наступивший ранее 48 ч после заражения, считали неспецифическим.

Антигенное родство возбудителей к вышеуказанным штаммам — представителям различных антигенных групп вируса ИБК — определяли по формуле Архетти.

Результаты и обсуждение

При адаптации изолятов «Калужский» и «Таганрогский» к СПФ-КЭ, отмечали, что полевой вирус начинал вызывать специфичные для ИБК изменения и гибель куриных эмбрионов не ранее 6–7 пассажа. Вирус же изолята «Щелковский», хотя и накапливался в экстраэмбриональной жидкости, не вызывал четких поражений и гибель РКЭ. Подобное явление для ряда изолятов вируса ИБК отмечалось ранее [8].

В ТОК уже в первом пассаже вирусы исследованных изолятов вызывали дистрофию и десквамацию цилиарного эпителия через 48 ч и цилиостаз через 72–96 ч пос-

Антигенное родство изолятов вируса ИБК в реакции нейтрализации (%)

Изоляты	«4/91», серотип 793В	«D274», серотип D207	«Н-120», серотип Массачусетс	«Калужский»	«Таганрогский»
«Калужский»	2	53	72	-	-
«Таганрогский»	95	9	5	42	-
«Щелковский»	9	11	47	14	7

ле заражения. Для определения титра вируса и для оценки его антигенных свойств ТОК была признана более удобной и экономичной. Титры вирусов в ТОК составили 6,12 CD_{50} /мл для изолята «Калужский», 6,23 CD_{50} /мл для изолята «Таганрогский», 6,0 CD_{50} /мл для изолята «Щелковский». Таким образом, ТОК является чувствительной моделью, для изолята «Щелковский» единственно возможной, позволяющей провести количественный учет вируса.

Полученные результаты реакции нейтрализации показали, что индексы нейтрализации (ИН) специфических сывороток к исследуемым изолятам были выше 2,0 Ig, что свидетельствует об их специфичности к соответствующим штаммам. Так, ИН гомологичных сывороток к изолятам «Калужский», «Таганрогский» и «Щелковский» составили 3,22, 3,73 и 3,67 Ig соответственно. ИН с гетерологичными изолятами в реакции были ниже и составляли от 0,2 до 1,8 Ig, что указывает на антигенные различия изолятов вируса ИБК.

Антигенное родство R различных штаммов возбудителя ИБК представлено в таблице.

Данные, приведенные в таблице, свидетельствуют, что изолят «Таганрогский» вируса ИБК принадлежит к серотипу 793В, поскольку он обнаружил 95% сходства с референтным штаммом «4/91» данного серотипа. Родство с изолятом «Калужский» составило 42%, а с остальными штаммами оно не превышало 10%.

РЕЗЮМЕ

Проведено исследование серологических особенностей отечественных изолятов вируса инфекционного бронхита кур (ИБК) в реакции нейтрализации на трахеальной органной культуре. Трахеальная органная культура высокочувствительна к вирусу ИБК, пригодна и удобна для его выделения и оценки антигенного родства штаммов вируса ИБК.

Показано, что изоляты «Калужский» и «Щелковский» вируса ИБК обладают выраженными антигенными отличиями от распространенных вакцинных штаммов. Изолят «Таганрогский» по результатам реакции нейтрализации относится к серотипу 793В. Данные изоляты вируса ИБК могут быть использованы в качестве вакцинных.

ABSTRACT

Serological characteristics of domestic isolates of infectious bronchitis virus of chickens have been studied in neutralization test in trachea organ culture. Trachea organ culture is highly sensitive to infectious bronchitis virus of chickens; it is suitable and convenient for the virus isolation and for evaluation of antigenic relatedness between the strains of infectious bronchitis virus of chickens.

“Kaluzhsky” and “Schelkovsky” isolates of infectious bronchitis virus of chickens demonstrated to have pronounced antigenic differences from widely-spread vaccine strains. According to the results of neutralization test, “Taganrogsky” isolate belongs to serotype 793В. These isolates of infectious bronchitis virus of chickens may be used for vaccine preparation.

Изоляты «Калужский» и «Щелковский» нельзя отнести ни к одному из серотипов, использованных в опыте. Наиболее близкое антигенное родство они обнаруживали со штаммом «Н-120» серотипа Массачусетс, что свидетельствует о возможном происхождении данных вариантов вируса от живых вакцин, применяемых в хозяйствах [6].

Проведенные исследования показали наличие существенных антигенных отличий отечественных изолятов «Калужский» и «Щелковский» от штаммов, используемых для приготовления вакцин. В связи с наличием широкого антигенного спектра изоляты «Калужский», «Таганрогский» и «Щелковский» могут быть рекомендованы для приготовления инактивированных вакцин.

Выводы

Трахеальная органная культура высокочувствительна к вирусу ИБК, пригодна и удобна для его выделения и типирования. Полевой вирус не требует предварительной адаптации к данной культуральной системе.

Серологические исследования показывают, что изоляты «Калужский» и «Щелковский» вируса ИБК обладают выраженными антигенными отличиями от распространенных вакцинных штаммов. Изолят «Таганрогский» по результатам реакции нейтрализации относится к серотипу 793В. Отечественные изоляты вируса ИБК могут быть использованы в качестве вакцинных.

Литература

1. В.Н. Сюрин, А.Я. Самуйленко, Б.В. Соловьев, Н.В. Фомина. Инфекционный бронхит птиц // Вирусные болезни животных. М., 1998. С. 183–198.
2. В.Д. Сергеев. Диагностика инфекционного бронхита кур // БиоВет. 2001. № 2. С. 16.
3. Н.И. Троценко, Р.В. Белоусова, Э.А. Преображенская. Практикум по ветеринарной вирусологии. 2-е изд. М.: Колос, 1999. 272 с.
4. G.R. Dhinakar, R.C. Jones. Infectious bronchitis virus: immunopathogenesis of infection in the chicken // Avian Pathol. 1997. V. 26. P. 677–706.
5. A.E. Castro, B. Reynolds, D. Hill et al. Diagnosis of avian infectious bronchitis virus in clinical and field specimens using tracheal ring organ cultures and serology // Proc 37th West. Poultry Dis. Conf.; February 29–March 2. USA, California, Davis, 1988. P. 36–40.
6. H. Li, H. Yang. Sequence analysis of nephropathogenic infectious bronchitis virus strains of the Massachusetts genotype in Beijing // Avian Path. 2001. V. 30, № 5. P. 535–541.
7. H. Csermeli, R. Thijssen, F. Orthel et al. Serological classification of recent IBV isolates by the neutralization of immunofluorescent foci // Avian Pathol. 1988. V. 17. P. 139–148.
8. J.H. Darbyshire, J.G. Rowell, J.K. Cook, R.W. Peters. Taxonomic studies on strains of infectious bronchitis virus using neutralization tests in tracheal organ cultures // Archiv. Virol. 1979. V. 61. P. 227–238.

УДК 619:616.98:578.834.11:636.52/.58:616-085.371

О.А. Чупина

ПРОТЕКТИВНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ИЗОЛЯТА «ЩЕЛКОВСКИЙ» ВИРУСА ИНФЕКЦИОННОГО БРОНХИТА КУР

Введение

Инфекционный бронхит кур (ИБК) является серьезной проблемой для современного промышленного птицеводства. Борьба с этим заболеванием осложняется тем, что вирус, его вызывающий (представитель семейства Coronaviridae, рода Coronavirus), способен проявлять высокую изменчивость, связанную с появлением новых антигенных штаммов. Важным условием успешной специфической профилактики инфекционного заболевания является изучение антигенных свойств полевых изолятов возбудителя и их использование в качестве вакцинных [1].

На птицефабрике «Щелковская» Московской области в 2004 г. была отмечена вспышка респираторного заболевания, сопровождавшегося высокой заболеваемостью и смертностью птицы, что наносило хозяйству значительный экономический ущерб.

В ходе исследований биологических свойств из патматериала от заболевших кур нами был выделен изолят вируса ИБК «Щелковский», доказана его патогенность для восприимчивого поголовья, определены антигенные различия с известными вакцинными штаммами. Нуклеотидное секвенирование области гена S1, кодирующего спайковый белок, который в основном и определяет антигенные свойства вируса [4], показало, что вариант вируса ИБК, вызывавший заболевание, который получил название изолят «Щелковский», имеет

высокий уровень гомологии с вакцинным штаммом «Н-120» (серотип Массачусетс), использовавшимся в хозяйстве при иммунизации. Однако применение для профилактики вакцин из штаммов указанного серотипа оказалось неэффективным.

Целью наших исследований было определение протективных свойств изолята «Щелковский» для возможного его использования в дальнейшем в качестве вакцинного.

Материалы и методы

Для опыта по перекрестному заражению использовали 36 СПФ-цыплят. 12 птиц не были иммунизированы и служили контролем, а остальные в возрасте 3 суток были иммунизированы инаktivированными эмульгированными препаратами вируса ИБК. Введение препаратов проводили внутримышечно в объеме 0,5 мл в грудную мышцу. 12 цыплят прививали препаратом изолята «Щелковский», титр которого до инаktivации составлял $6,2 \lg \text{CD}_{50}/\text{мл}$, а 12 других цыплят — препаратом штамма «Н-120» серотипа Массачусетс с титром до инаktivации $7,2 \lg \text{ЭИД}_{50}/\text{мл}$. Через 21 сутки после иммунизации цыплят разделили на 6 изолированных групп по 6 птиц в каждой и подвергали контрольному заражению. Схема опыта по перекрестному заражению цыплят представлена в табл. 1.

Заражение цыплят проводили вирусосодержащей суспензией изолята «Щелковский» и штамма «М-41» серотипа Массачусетс в дозе 10000CD_{50} и 10000ЭИД_{50} , соот-