

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 инактивированными 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 инактивации составлял $6,2 \lg \text{CD}_{50}/\text{мл}$, а 12 других цыплят — препаратом штамма «Н-120» серотипа Массачусетс с титром до инактивации $7,2 \lg \text{ЭИД}_{50}/\text{мл}$. 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-

Схема опыта по перекрестному заражению

№ группы	Штамм, использованный для	
	иммунизации	заражения
1	Штамм «Н-120»	Изолят «Щелковский»
2	Изолят «Щелковский»	
3	Не иммунизированы	
4	Штамм «Н-120»	Штамм «М-41»
5	Изолят «Щелковский»	
6	Не иммунизированы	

ветственно, в объеме 1 мл, из которого по 2 капли наносили на конъюнктиву глаз, по 2 капли вводили интраназально, а остальное количество — перорально.

Через 4 суток после контрольного заражения был проведен убой и вскрытие птиц. Органы исследовали на наличие характерных для ИБК поражений. Для исследования цилиарной активности (ЦА) извлекали трахею, избегая повреждения тканей, и помещали ее в среду ПСП. Не позднее 1 часа после вынужденного убоя из верхнего, среднего и нижнего отделов трахеи бритвенным лезвием готовили по 3 поперечных среза толщиной 0,5–1 мм и исследовали под световым микроскопом при увеличении $\times 100$. Для каждой птицы и для группы определяли среднюю ЦА трахеи в баллах. Свойственное нормальному органу скоординированное биение цилий на всей внутренней поверхности кольца принимали за 4 балла, интенсивное движение ресничек на 3/4 периметра — 3 балла, достаточно активное движение цилий на участке, составляющем около половины поверхности эпителия — 2 балла, а остаточную активность цилий на отдельных участках трахеи или на 1/4 ее внутренней поверхности — 1 балл [4]. Устойчивыми к заражению считали цыплят; средняя ЦА трахеи которых составляла не менее 2 баллов [2].

Результаты и обсуждение

Ранее проведенные исследования изолята «Щелковский» выявили его антигенные различия с известными вакцинными штаммами. Однако для ветеринарной практики обнаружение многочисленных серотипов вируса ИБК при помощи реакции нейтрализации в лабораторных моделях лишь частично актуально, так как установлено, что результаты реакции нейтрализации с гомо- и гетерологическими штаммами не всегда совпадают с результатами при заражении животных гетерологическими штаммами [5]. Для решения вопроса о протективных свойствах анти-

тел, формирующихся к изоляту «Щелковский», проводили опыты по перекрестному заражению цыплят. Поскольку данный изолят является патогенным, для инокуляции цыплятам применяли инактивированные препараты исследуемых штаммов. Результаты клинических и патологоанатомических исследований зараженных цыплят представлены в табл. 2.

Полученные результаты свидетельствуют, что отсутствие клинических признаков респираторного заболевания при проведении опыта не может служить единственным критерием устойчивости птицы к заражению вирусом ИБК, так как поражение цилиарного эпителия, которое при этом может наблюдаться микроскопически, предполагает репликацию вируса в организме и создает условия для развития вторичной инфекции. Так, в группе 4 у клинически здоровых цыплят было обнаружено значительное снижение ЦА трахеи. Снижение цилиарной активности, не сопровождавшееся клиническими признаками, отмечалось и в группах 1 и 2. Возможно, дальнейшее развитие патологического процесса привело бы к проявлению у них внешних признаков заболевания.

Иммунизация цыплят инактивированным вирусом в раннем возрасте в данном случае оказывала защитное воздействие на животных, так как интактные цыплята поражались вирусом ИБК в большей степени, чем иммунизированные, и при заражении иммунизированных цыплят гомологичными штаммами тяжесть клинических признаков и степень поражения цилиарного эпителия трахеи оказалась ниже, чем при заражении гетерологичными штаммами.

После иммунизации инактивированным препаратом из штамма «Н-120» цыплята были восприимчивы к заражению изолятом «Щелковский». Группа цыплят, иммунизированных изолятом «Щелковский», в целом оказалась устойчивой к заражению гетерологичным штаммом «М-

Показатели клинических и патологоанатомических исследований
цыплят, имеющих различный иммунный статус

№ груп-пы	Характеристика группы		Доля клиничес-ки боль-ных птиц*	Осмотр при вскрытии	Число защищенных птиц, исхо-дя из ЦА	Сред-няя ЦА, баллов
	вирус ИБК, использован-ный для им-мунизации	вирус ИБК, использо-ванный для заражения				
1	Шт. «Н-120»	Изолят «Щелков-ский»	2/6	Гиперемия верхней части трахеи у 4 цып-лят, очаговая пнев-мония у 2 цыплят	0	1,0
2	Изолят «Щелков-ский»		0/6	Покраснение вер-хней трети тра-хеи у 1 цыпленка	4	2,2
3	Контроль		6/6	Отек и гиперемия тра-хеи у 6 птиц, пнев-мония у 3 цыплят	0	0,1
4	Шт. «Н-120»	Штамм «М-41»	0/6	У 1 цыпленка гипе-ремия верхней час-ти трахеи и очаго-вая пневмония	1	1,7
5	Изолят «Щелков-ский»		1/6	Гиперемия тра-хеи у 1 цыпленка	5	2,6
6	Контроль		5/6	Гиперемия трахеи, в осо-бенности верхней час-ти, у 4 цыплят, оча-говая пневмония	2	1,3

* - в числителе – количество клинически больных птиц, в знаменателе – количество птиц в группе

41» (серотип Массачусетс, гомологичный штамму «Н-120»). Это согласуется с данными, полученными нами ранее в реакции нейтрализации, о значительно более широкой вируснейтрализующей способности антител к полевому изоляту «Щелковский» по сравнению с вируснейтрализующей активностью антител к вакцинному штамму «Н-120».

Заключение

Данные, полученные в ходе перекрес-

тного заражения, свидетельствуют о неспособности вакцинного штамма «Н-120» защитить цыплят от заражения изолятом «Щелковский». В то же время изолят «Щелковский» обладает широкой протективной активностью и способен защитить цыплят не только против заражения гомологичным вирусом, но и штаммом «М-41» серотипа Массачусетс. Данные особенности позволяют рекомендовать его для изготовления инактивированных вакцин.

РЕЗЮМЕ

В результате опытов по перекрестному заражению цыплят установлено, что новый вариантный изолят «Щелковский» вируса инфекционного бронхита кур обладает широким антигенным спектром и выраженной протективностью по отношению к штамму серотипа «Массачусетс», что позволяет рекомендовать его для применения в качестве вакцинного.

ABSTRACT

The results of cross-infection indicate wide antigenic range and expressed protectivity of the IBV "Schelkovo" isolate in chickens as compared to the "Massachusetts" strain. That allows it to be used as a vaccine strain.

Литература

1. В.Д. Сергеев. Диагностика инфекционного бронхита кур // БиоБио. 2001. № 2. С. 16.
2. B. Al-Targha, J. Kojnok, Gs. Varro. Immunisation of day-old chicks having maternally derived antibodies against infectious bronchitis: degree of protection as monitored by ciliary activity after intratracheal challenge // Acta Vet. Hungarica. 1991. V. 39, № 1–2. P. 83–93.
3. J.K.A. Cook, J.H. Darbyshire, R.W. Peters. The use of chicken tracheal organ cultures for the isolation and assay of avian infectious bronchitis virus // Arc. Virol. 1976. V. 50. P. 109–118.
4. J. Ignjatovic, L. Galli. Immune responses to structural proteins of avian infectious bronchitis virus // Avian Pathol. 1995. V. 24. P. 313–332.
5. L.G. Raggi, G.G. Lee. Lack of correlation between infectivity, serologic response and challenge results in immunization with an avian infection bronchitis vaccine // J. Immunol. 1965. V. 94. P. 538–543.