

ОЦІНКА ЕФЕКТИВНОСТІ ВАКЦИН ІЗ ВАРІАНТНИХ ШТАМІВ ПРОТИ ІНФЕКЦІЙНОГО БРОНХІТУ БРОЙЛЕРІВ

*І. К. Авдос'єва, канд. вет. наук,
О. О. Басараб, науковий співробітник,
В. В. Регенчук, завідувач сектору,
І. Л. Мельничук, старший науковий співробітник*

Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів та кормових добавок

У статті наведені результати серологічного контролю ефективності вакцинації бройлерів вакцинами із варіантних штамів проти ІБК при застосуванні імуноферментного методу (ІФА). Протестовано понад 79 партій бройлерів після застосування живих вакцин, що містили різні варіантні штами проти ІБК (Var 233 A, L1168, 1/96). Про якісну проведену вакцинацію свідчили показники: наявність 90–100% позитивних титрів, висока ступінь однорідності КВ <40–70%; індекс вакцинації ІВ < 90 (Var 233 A) і < 150 (L1168, 1/96). Про недоброякісну проведену вакцинацію чи наявність польового вірусу ІБК свідчили показники: наявність титрів, значення яких були нижче очікуваних із високим ступенем неоднорідності, збільшення % негативних зразків сироваток, що часто асоціювалися із збільшенням значення КВ >70% та ІВ >90 (Var 233 A) чи >150 (L1168, 1/96).

Ключові слова: ІНФЕКЦІЙНИЙ БРОНХІТ, БРОЙЛЕРИ, ВАКЦИНИ, ЕФЕКТИВНІСТЬ ВАКЦИНАЦІЇ, СЕРОЛОГІЧНИЙ МОНІТОРИНГ.

Серологічний моніторинг є одним із важливих інструментів розробки та підтримки ефективних програм вакцинацій птиці проти вірусних захворювань, в тому числі проти інфекційного бронхіту.

Інфекційний бронхіт курей (ІБК) — гостре високо контагіозне вірусне захворювання, що наносить значні економічні збитки промислового птахівництва. Останнім часом появились незвичайні клінічні прояви цього захворювання – ураження м'язів у бройлерів, нирок та репродуктивної системи без ураження респіраторної системи у несучок, що пов'язано з появою варіантних штамів, які відрізняються від “класичного” своїм тропізмом.

Висока інфекційність вірусу, різноманітність серотипів, швидка мінливість, чутливість популяції та інші фактори призводять до того, що ІБК залишається надалі серйозною проблемою для птахівництва.

ІБК наносить великі економічні збитки галузі за рахунок: зниження м'ясної продуктивності, зниження яєчної продуктивності на 50–60%, погіршення якості яйця, підвищення загибелі та вибраковки птиці, підвищення сприйнятливості до інших хвороб.

Однією із особливих властивостей вірусу ІБК є велика кількість різноманітних антигенних типів збудника, що пов'язано з відмінностями в амінокислотній послідовності протеїну S1, зумовленими мутаціями або рекомбінацією генетичного матеріалу [1]. Навіть незначні зміни у гені S1 призводять до появи нових антигенних варіантів вірусу.

Вірус може посилювати свою вірулентність за рахунок високої мінливості. Так, вірус ІБК серотипу D212 (вакцинний штам D1466) спочатку викликав слабо виражену клінічну картину захворювання, проте в останні роки штами цього серотипу, ізольовані у Нідерландах та Великобританії, викликають респіраторну форму захворювання з дуже важким перебігом. Крім цього, встановлено, що декілька штамів різних серотипів можуть циркулювати в одному регіоні одночасно, що утруднює профілактику ІБК [1, 3].

Роль супутніх інфекцій, що ускладнюють важкий перебіг ІБК: *M. gallinarum* викликає збільшення випадків важких ринітів, трахеїтів та аеросакулітів у птиці; *E. coli* скорочує інкубаційний період хвороби, а ураження респіраторного тракту, нирок та м'язів носять більш виражений характер; При асоціації з ІБК виникає так званий "синдром опухання голови".

Таким чином, декілька патогенів, які синергічно взаємодіють із вірусом ІБК або вакцинами проти ІБК, обумовлюють важкий та протяжний перебіг хвороби, проте механізм цього прояву не зовсім ясний. Існує думка, що синергізм являє собою наслідок пригнічення імунної відповіді чи ураження епітелію слизових оболонок вірусом ІБК, що призводить до підвищення проникнення та реплікації секундарної інфекції.

Глікопротеїн S1 вірусу ІБК належить до основних антигенів, який стимулює утворення віруснейтралізуючих та гемаглютинуючих антитіл, видаючись найбільш вірогідним стимулятором специфічного (гомологічного) захисту, проте білки S2 і N мають важливе значення у формуванні перехресного захисту. Добре відома роль гуморального імунітету у захисті курей від захворювання на ІБК. Доведено, що наявність високих титрів гуморальних антитіл добре корелює з високою захищеністю від розповсюдження вірусу з нирок та статевого тракту, а також від зниження несучості. Антитіла перешкоджають розповсюдження вірусу із трахеї до інших чутливих органів, таких як нирки і яєчники [2].

Втім, при ІБК велике значення має локальний імунітет на рівні слизових оболонок респіраторного та репродуктивного трактів, а також очей. Цей локальний захист слизових оболонок забезпечується формуванням секреторних антигенів класу А. Рівень IgA у сльозах краще корелює зі стійкістю до зараження, ніж рівень антитіл у сироватці.

Одними із напрямків у боротьбі з ІБК є своєчасна діагностика захворювання, систематична вакцинопрофілактика живими та інактивованими вакцинами, застосування вакцин проти варіантних штамів з метою забезпечення перехресного імунітету, вакцинація з першого дня (в інкубаторії). Незважаючи на виконання програми вакцинації, ІБК наносить значні економічні збитки птахівничим господарствам у різних країнах світу.

Застосування живих вакцин проти ІБК не завжди викликають захист птиці від ІБК, так як з'являються нові серотипи у процесі рекомбінації чи спонтанної мутації вірусу.

Тому важливим є систематичне проведення серологічного моніторингу як засобу не тільки контролю ефективності застосування вакцин проти ІБК, але як одного із лабораторних методів для здійснювати ранньої діагностики захворювання.

Завдяки моніторингу та ранньому виявленню захворювання можна знизити виробничі витрати за допомогою підвищення ефективності програм вакцинації та звести до мінімуму збитки від хвороби. Проте сам факт використання вакцин не є гарантом захисту поголів'я від вірусних захворювань. Позитивний ефект від вакцинопрофілактики птиці буде досягнутий тільки при постійному проведенні серологічного контролю.

Існує декілька методів серологічного контролю: РНГА (реакція непрямой гемаглютинації), РІД (реакція імунної дифузії), РН (реакція нейтралізації), імуноферментний аналіз (ІФА). Незважаючи на те, що традиційні імунобіологічні методи як і раніше широко використовуються у ветеринарній практиці, метод ІФА займає провідне місце при проведенні серологічних досліджень. Використання даних серології, отриманих за допомогою ІФА, дозволяє контролювати імунну відповідь після вакцинації проти ІБК, а також є одним із тестів при постановці діагнозу.

Метод ІФА характеризується високою чутливістю, швидкістю отримання результатів, масовістю досліджень. Завдяки простоті, специфічності і високій чутливості метод ІФА дуже зручний для скринінгу великої кількості зразків.

Це експрес-тест для виявлення материнських, а згодом і поствакцинальних антитіл. Перевагою ІФА є її безпека (оскільки використовується інактивований вірус), зручність в роботі (автоматизація проміжних стадій реакції - застосування вошера для промивання

плашки) і відсутність необхідності роботи з культурою клітин, а також застосування вимірювального обладнання, зокрема – спектрофотометра для зчитування значень оптичної щільності в мікроплашках за лічені секунди, що дозволяє значно збільшити кількість аналізів, які проводяться і спростити методичну процедуру виконання ІФА. Одночасно створено і впроваджено у ветеринарну практику спеціалізованих комп'ютерних програм не тільки для перекладу оптичної щільності в числове значення точного титру, але для автоматичної обробки, зберігання та створення баз даних.

Найбільшими фірмами-виробниками імуноферментних тест- наборів для виявлення антитіл проти інфекційного бронхіту являються: IDEXX (США), Synbiotics (Великобританія), Biocheck (Нідерланди).

Для проведення специфічної профілактики бройлерів проти ІБК застосовують живі вакцини, що містять різні штами вірусу ІБК, а саме: Н120, Ма 5, 4/91, В-48, CR 8121 AM, а також в останні роки вакцини, що містять варіантні штами — (*Var 233 A* , *L1168, 1/96*) та комплексні Н120 + Д274.

Метою нашої роботи було визначення ефективності вакцинації бройлерів проти ІБК вакцинами, що містили різні варіантні штами.

Матеріал і методи. Аналіз зареєстрованих вакцин в Україні проти ІБК із варіантних штамів, характеристика методів серологічного контролю ІБК, тест-системи фірми “Bio Check” для визначення специфічних антитіл проти ІБК, сироватки крові від м'ясних кросів Кобб-500 і Росс-308, що були імунізовані вакцинами виготовленими із різних варіантних штамів проти ІБК – *Var 233 A* , *L1168, 1/96*.

Серологічний контроль ефективності вакцинопрофілактики проти ІБК бройлерів проводили ІФА за допомогою тест системи “Bio Check” згідно інструкції.

Результати й обговорення. В Україні зареєстровано 79 вакцин проти ІБК, в тому числі живих — 32, інактивованих — 29 та асоційованих — 18.

Існує декілька методів серологічного контролю ІБК: імуноферментний аналіз (ІФА), РН (реакція нейтралізації), РНГА (реакція непрямой гемаглютинації), РДП (реакція дифузної преципітації). Коротка характеристика методів серологічного контролю наведені у табл. 1.

Таблиця 1

Характеристика методів серологічного контролю ІБК

Характеристика методів	ІФА	Реакція нейтралізації	Реакція гемаглютинації	Реакція дифузної преципітації
Час проведення	2 години	2-10 днів	2-3 години	1-2 дні
Кількість сироватки	0,005 мл.	0,2-1 мл.	0,025 мл.	0,03 мл.
Одночасне проведення великої кількості зразків	Так	важко	так	так
Комп'ютеризація і використання програмного забезпечення	Так	ні	ні	ні
Неспецифічна реакція	-	-	+	+
Методика постановки реакції	проста	комплексна	проста	проста
Продуктивність праці	висока	низька	середня	низька

В цілому ІФА було протестовано понад 79 партій бройлерів після застосування вакцин, що містили різні варіантні штами проти ІБК (*Var 233 A* , *L1168, 1/96*). При проведенні отриманих результатів успіх вакцинації визначали за трьома основними критеріями імунної відповіді: величиною середнього титру, відсотком коефіцієнту варіації (КВ), а також індексу вакцинації (ІВ) – нового параметру оцінки результатів вакцинації при використанні ІФА.

Про якісну проведену вакцинацію свідчили показники: високий і однорідний середній титр, значення якого знаходилось в очікуваних межах, що визначали за типом вакцини і

методом її застосування, наявність 90 - 100% позитивних титрів та висока ступінь однорідності з КВ <70%. Новий параметр очікуваного результату ІВ становив < 90 при застосуванні живої варіантної вакцини із штаму Var 233A , тоді як при застосуванні вакцин, що містили штами L1168,1/96 - ІВ становив < 150.

Результати серологічного моніторингу сироваток крові бройлерів у 42-46-добовому віці, вакцинованих проти ІБК наведені в табл. 2.

Таблиця 2

Дані серологічного моніторингу сироваток крові бройлерів 42-45 добового віку, вакцинованих проти ІБК

Вакцини	Штами	К-сть партій	Межі коливання середніх титрів		% КВ	
			норма	фактично	норма	фактично
ТАbіс ІВ Var	Var 233A	29	1000-4000	737-9891	40-70	14-49
POULVAC QX	L1168	12	2000-10000	1388 -11150	40-70	16-85
Cevac IBird	1/96	38	1000-6000	1188-10666	40-70	22-105

Дані серологічного моніторингу середніх титрів бройлерів 42-45 добового віку вакцинованих вакцинами із варіантних штамів наведені на рисунках 1–3.

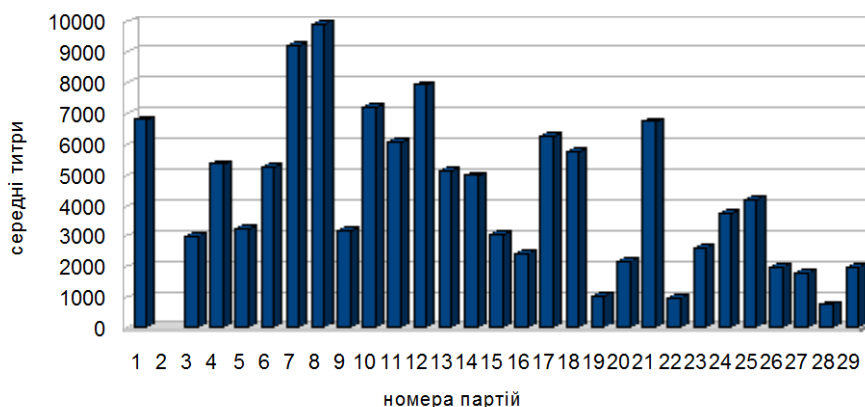


Рис. 1. Середні титри антитіл у бройлерів, вакцинованих Cevac IBird

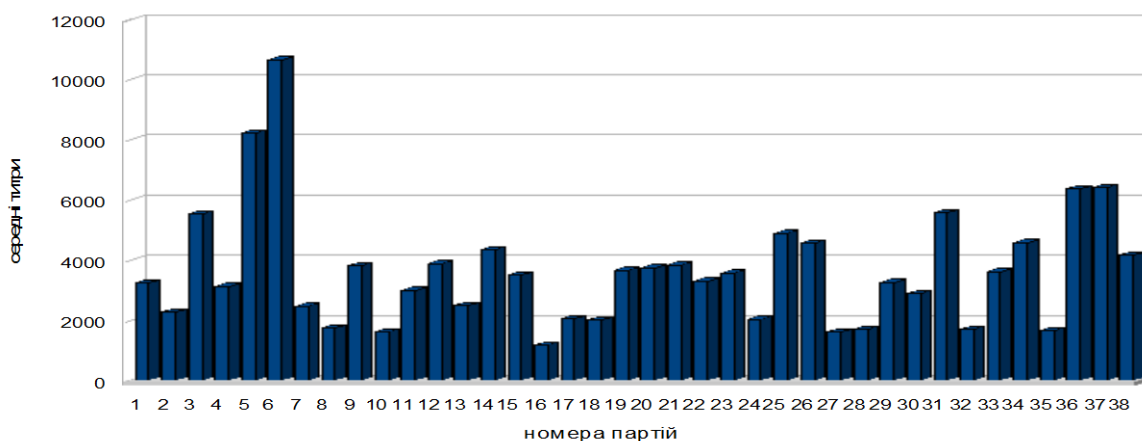


Рис. 2. Середні титри антитіл у бройлерів, вакцинованих TABic Var 233 A

Встановлено наявність протективних антитіл при застосуванні вакцин із варіантних штамів, а саме : TABic IB Var (штам Var 233A) - 93% (27 партій); Poulvac QX (штам L1168) – 100% (12 партій); Cevac IBird (штам 1/96) – 81,6% (31 партія). Проте вище базової норми виявлені середні титри при застосуванні вакцини Poulvac QX(штам L1168) – 25% (3 партії), TABic IB Var (штам Var 233A)- 44,8% (13 партій), тоді як при застосуванні Cevac IBird (штам 1/96) титрів вище базової норми не виявлено.

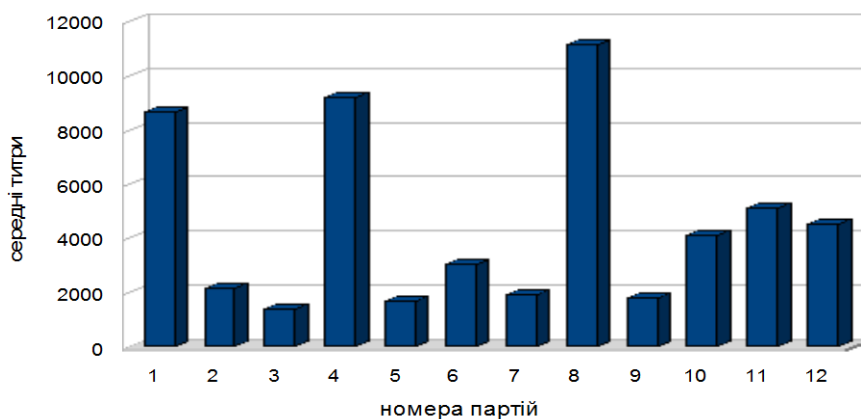


Рис. 3. Середні титри антитіл у бройлерів вакцинованих Poulvac IB QX

Результати ІВ при застосуванні вакцин із варіантних штамів TAbic IB Var (штам Var 233A), Poulvac QX(штам L1168), Cevac IBird (штам 1/96) наведені у табл. 3.

Таблиця 3

Дані ІВ при застосуванні вакцин із варіантних штамів проти ІБК (бройлери 42-45 добового віку)

Штами	Кількість стад	Базова норма	Індекс вакцинації (ІВ)				
			Фактичне значення ІВ	< 90 чи < 150		> 90 чи >150	
				к-ть партій	%	к-ть партій	%
TAbic IB Var	29	< 90	19-480	14	48,3	15	51,7
POULVAC QX	12	< 150	15-395	7	58,3	5	41,7
Cevac IBird	38	< 150	18-314	29	76,3	9	23,7

Оцінка імунної відповіді у ІФА включає порівнювання отриманих значення середніх титрів з очікуваними титрами після вакцинації. Якщо титри антитіл підвищені після імунізації чи відповідають базовій нормі, то це свідчить про якісну проведену вакцинацію. Якщо титри в частині поголів'я в стаді високі, у той час як у другій частині нульові, то тестування показує, що стадо, можливо, інфіковане або це говорить про недоброякісну проведену вакцинацію.

ІВ знаходиться в певних межах, залежно від типу і кратності застосованої вакцини, а в інфікованих стадах значно переверщує аналогічне у стадах без клінічних проявів інфекції.

Таким чином, широке застосування ІФА при проведенні серологічного моніторингу надає змогу проводити чіткий контроль ефективності застосування тої чи іншої вакцини і дозволяє коректувати схеми проведення специфічної профілактики проти ІБК, а у випадку прояву польового зараження птиці ІБК є одним із методів ранньої діагностики захворювання.

ВИСНОВКИ

1. Протестовано понад 79 стад бройлерів після застосування вакцин, що містили різні варіантні штамів проти ІБК - Var 233 A, L1168, 1/96.

2. Про якісно проведену вакцинацію свідчили показники: високий і однорідний середній титр, наявність 90–100% позитивних титрів та висока ступінь однорідності КВ <70% та ІВ < 90 чи >150.

3. Про недоброякісно проведену вакцинацію чи наявність польового вірусу ІБК свідчили показники: наявність титрів, значення яких були нижче очікуваних з високим ступенем неоднорідності, збільшення відсотка негативних зразків сироваток, що часто асоціювалися із збільшенням значення КВ > 70% та ІВ >90 чи >150.

Перспективи подальших досліджень. Планується подальше проведення серологічного моніторингу з метою підвищення ефективності застосування вакцин проти ІБК, в залежності від епізоотичної ситуації.

EFFICIENCY OF VACCINE STRAINS AGAINST VARIANT INFECTIOUS BRONCHITIS OF BROILERS

I. Avdosieva, O. Basarab, V. Regenchuk, I. Melnichuk

State Scientific Research Control Institute of Veterinary Medicinal Products and Feed Additives,
11, Donetska str., Lviv, 79019, Ukraine

S U M M A R Y

The results of serological monitoring of the chickens vaccination efficiency with vaccines against variant strains of ICC when using ELISA method (ELISA) are shown in the article. There had been tested more than 79 broiler parties after application of live vaccines containing different variant strains against the ICC (Var 233 A, L1168, 1/96). On quality implementation of vaccination showed next indicators: the presence of 90-100% positive titers, high degree of homogeneity $CV < 40-70\%$ IP code vaccination < 90 (Var 233 A) and < 150 (L1168, 1/96). About defective implementation of vaccination or presence of IBC virus testified next indicators: availability of titles, whose values were below expectation with a high degree of heterogeneity, increase of negative serum samples rate, often associated with an increase in KO value $> 70\%$ and $IP > 90$ (Var 233 A) or > 150 (L1168, 1/96).

Keywords: INFECTIOUS BRONCHITIS, BROILERS, VACCINES, EFFICIENCY OF VACCINATION, SEROLOGICAL MONITORING.

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ВАКЦИН ИЗ ВАРИАНТНЫХ ШТАММОВ ПРОТИВ ИНФЕКЦИОННОГО БРОНХИТА БРОЙЛЕРОВ

И. К. Авдосьева, О. Б. Басараб, В. В. Регенчук, И. Л. Мельничук

Государственный научно-исследовательский контрольный институт ветеринарных препаратов и кормовых добавок
ул. Донецкая, 11, г. Львов, 79019, Украина

А Н Н О Т А Ц И Я

В статье приведены результаты серологического контроля эффективности вакцинации бройлеров вакцинами с вариантных штаммов против ИБК при применении иммуноферментного метода (ИФА). Протестировано более 79 партий бройлеров после применения живых вакцин, содержащих различные варианты штаммы против ИБК (Var 233 A, L1168, 1/96). О качественной проведенной вакцинации свидетельствовали показатели: наличие 90 - 100% положительных титров, высокая степень однородности $KB < 40-70\%$; индекс вакцинации ИВ < 90 (Var 233 A) и < 150 (L1168, 1/96). О недоброкачественной проведенной вакцинации или наличие полевого вируса ИБК свидетельствовали показатели: наличие титров, значение которых были ниже ожидаемых с высокой степенью неоднородности, увеличение процента отрицательных образцов сывороток, часто ассоциировались с увеличением значения $KB > 70\%$ и $ИВ > 90$ (Var 233 A) или > 150 (L1168, 1/96).

Ключевые слова: ИНФЕКЦИОННЫЙ БРОНХИТ, БРОЙЛЕРЫ, ВАКЦИНЫ, ЭФФЕКТИВНОСТЬ ВАКЦИНАЦИИ, СЕРОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. *Овчинников Е. В., Бочков Ю. А., Батченко Г. В.* Генетическая характеристика полевых изолятов вируса инфекционного бронхита кур, выявленных в России // Труды федерального центра охраны здоровья животных. — 2007. — Т. 5. — С.303–315.
2. *Cavanagh D., Nagi S. A.* Infectious bronchitis / Diseases of Poultry, 11th edition, Ames, Iowa State University Press. — 2003. — P.101–119.
3. *Cook J. K. A., Orbell S. J., Woods M.* Breadth of protection of the respiratory tract provided by different live-attenuated infectious bronchitis viruses of heterologous serotypes // Avian Patology. — 2008. — Vol. 28. — P.477–485.

Рецензент — О. С. Калініна, к. вет. н., доцент, ЛНУВМ та Б імені С. З. Гжицького.