

Оценка протективных свойств вакцины «АВИВАК - ИБК» из штамма Н-120 методом цилиарной активности.

Бахарева Н.В., Козаков С.Л., Кузовлёва А.Г., Норкина С.Н., Терентьева Е.В.

Инфекционный бронхит (ИБК) - острое контагиозное заболевание цыплят и кур различного возраста. Основным способом борьбы с болезнью является профилактическая вакцинация молодняка и несушек, в связи с чем эффективность проводимых мероприятий во многом зависит от качества вакцины.

Прошло более 50 лет с момента, когда от цыплят из провинции Брабант (Нидерланды) был выделен вирус инфекционного бронхита кур, который, пройдя 120 последовательных пассажей через эмбрионы кур, стал известен как вакцинный штамм Н-120 (Bijlenga et al., 2004). Вместе с тем, известно, что штаммы вируса ИБК, при пассажирова-нии на развивающихся куриных эмбрионах, постепенно снижают не только свою вирулентность и, как следствие, реактогенность, но и иммуногенность (Kliev A.V., Cumming B.B. 1988). Примером такого длительного пассирования может служить апатогенный не-иммунизирующий штамм Beaudette, который не вызывает изменений в мерцательном эпителии трахеи и развивается преимущественно в субэпителиальных клетках (Geilhausen

H. E. et al. 1973). В связи с этим нам представлялось интересным узнать иммуногенную активность вируса штамма Н-120, используемого нами для производства вакцины.

Материалы и методы

Материалы

1. Производственный вирус инфекционного бронхита кур штамма «Н-120» с активностью 5,79 lg ЭИД/мл;
2. Вирулентный вирус инфекционного бронхита кур штамма «Чапаевский» с активностью 5,2 lg ЭИД₅₀/мл;
3. SPF-цыплята.

Методы

Двухнедельные цыплята были разделены на 4 группы по 10 голов, размещены в отдельные изоляторы и обработаны следующим образом:

- Птиц 1 и 2 группы не вакцинировали;
- Цыплята из 3 и 4 группы были иммунизированы соответственно перорально (per os) и интратрахеально (i/tr) вакцинным вирусом ИБК штамма «Н-120» в дозе 3,5 lg ЭИД₅₀/гол.

Через 3 недели после вакцинации птиц из 2, 3 и 4 группы интратрахеально заражали вирулентным вирусом ИБК штамм «Чапаевский» (0,1мл) в дозе 2,7±0,1 lg ЭИД₅₀.

На 38 и 41 день опыта во всех группах убивали по 5 цыплят и незамедлительно исследовали эксплантаты, приготовленные по Darbyshire J.H. (1980). Для этого каждую трахею удаляли с минимальным травматизмом и поперечно разрезали на кольца, толщиной около 1,5 мм. Из верхней части трахеи вырезали 3 эксплантата, из средней части - 4 и из нижней - 3, получая таким образом по

10 эксплантатов от каждой птицы. Индивидуальные эксплантанты для предотвращения высыхания помещали в тёплую питательную среду MEM с температурой 37° С и исследовали в световом микроскопе при малом увеличении (x200). Цилиарная активность (подвижность ресничек) характеризовалась своеобразным «мерцанием» эпителия (рис. 1), выстилающего внутреннюю поверхность трахеи.

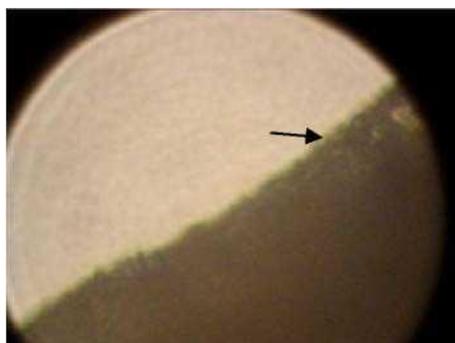


Рисунок 1. Мерцательный эпителий в трахеальном эксплантате Птиц, давших 50 % и более эксплантатов с цилиарной активностью, считали иммунно защищенными от действия вирулентного вируса ИБК

Результаты исследования

Как видно из таблицы у цыплят контрольной группы цилиарная активность сохранялась во всех эксплантатах, что служит подтверждением чистоты проводимого эксперимента.

У невакцинированных птиц из группы 2, зараженных вирулентным вирусом ИБК штамм «Чапаевский», подвижность трахеальных ресничек отсутствовала, однако на 6 день после заражения в отдельных эксплантатах наблюдали начальную стадию репарации мерцательного эпителия.

У большинства цыплят из группы 3, привитых перорально, на 3-й день после заражения выявлено наличие подвижности ресничек в 8-10 эксплантатах, что свидетельствует об их защищённости от действия вирулентного вируса. И только у одного из 5 привитых цыплят наблюдали отсутствие «мерцания» эпителия в 6 трахеальных кольцах. На шестой день после инфицирования вирусом ИБК штамм «Чапаевский» цилиарную активность отмечали у всех птиц.

У цыплят, вакцинированных интратрахеально группа 4, уже на 3-й день после заражения обнаружена цилиарная активность в 100 % случаев.

Таблица 1

Цилиарная активность эксплантатов цыплят

№ групп-пы	Г руппа под-опытных птиц	Через 3 дня после заражения					Через 6 дней после заражения				
		№ цыплёнка					№ цыплёнка				
		1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
1	Контроль	10*	10	10	10	10	10	10	10	10	10
2	Вирус ИБК штамм Чапаевский	0	0	0	0	0	0	1	2	1	0
3	Н-120 per os +Чапаевский	10	8	10	4	9	10	10	10	10	10
4	Н-120 in/tr +Чапаевский	7	10	10	10	10	10	10	10	10	10

* - количество эксплантатов, обладающих цилиарной активностью

Выводы

Полученные результаты показывают, что применяемый для изготовления вакцин против ИБК производственный вирус инфекционного бронхита кур штамм «Н-120» продолжает являться достаточно иммуногенным по отношению к вирулентным вирусам инфекционного бронхита кур, относящихся к серотипу Массачусетс.

Литература

1. Кюне П. Исследования перекрестной защиты после применения живых ослабленных ibv-вакцин nobilis® ib 4-91 и nobilis® ib ma5 (тип «массачусетс»). Сборник материалов Ш Международного ветеринарного конгресса по птицеводству 2007г. стр.89-94.
2. Bijlenga G., J. K. A. Cook, J. Gelb, Jr. and J. J. de Wit. 2004. Development and use of the H strain of avian infectious bronchitis virus from the Netherlands as a vaccine: a review. *Avian Pathology* 33: 550-557.
3. Darbyshire J.H. Assessment of cross-immunity chickens to strains of avian infectious bronchitis virus using tracheal organ cultures. *Avian Pathology*, 9: 179-184, 1980.
4. Geilhausen H.E., F.B. Ligon, P.D. Lukert. 1973. The pathogenesis of virulent and avirulent avian infectious bronchitis virus. *Arch.Gesamte Virusforsch.* 40:285-290.
5. Kliev A.V., R.B. Cumming. 1988. Immunity and cross-protection to nephritis produced by Australian infectious bronchitis viruses used as vaccines. *Avian Pathology* 17:829-839.