

УДК 619:616.98:578.834:616.233:616.61-002:636.5

**ВЛИЯНИЕ ПОЛЕВЫХ И ВАКЦИННЫХ ШТАММОВ ВИРУСА
ИНФЕКЦИОННОГО БРОНХИТА КУР НА ЦИЛИАРНЫЙ АППАРАТ И
ГИСТОМОРФОЛОГИЮ ТРАХЕИ, ЛЕГКИХ И ПОЧЕК ЦЫПЛЯТ**

Нестерова Л.Ю., Пащенко О.А.

Луганский национальный аграрный университет

По результатам цилиостатического теста и гистологических исследований трахеи, легких и почек установлены отличия полевых изолятов ЛИ-1 и ЛИ-2 вируса инфекционного бронхита кур от вакцинных штаммов Ма-5, Н-120 и 4/91.

Ключевые слова: штаммы вируса инфекционного бронхита кур, цилиостатический тест, гистологические показатели, цыплята.

**DEFINITION OF INFLUENCE OF FIELD AND VACCINE STRAINS
OF AVIAN INFECTIOUS BRONCHITIS VIRUS ON CILIA APPARATUS
AND HISTOMORPHOLOGY OF CHICKENS TRACHEA, LUNG, RENAL**

Nesterova L.Yu., Paschenko O.A.

Lugansk National Agrarian University

Results of cyliostatic test and histomorphology assays of chickens trachea, lung and renal are evidence of difference the fields' isolates LI-1 and LI-2 from vaccine strains Ma-5, 4-91, H-120 IBV.

Key words: strains of aviav infectious bronchitis virus, cyliostatic test, histological indexes, chickens.

Инфекционный бронхит кур (ИБК) во всем мире наносит значительный ущерб птицеводству. Респираторная форма течения ИБК характеризуется изменениями в трахее и легких. Нефропатогенные штаммы вируса приводят к поражениям почек, характерных для острого и хронического нефрита [1, 2].

Специфическая профилактика является эффективным средством борьбы с данной болезнью, но не всегда обеспечивает полную защиту птицы от вируса. В виду антигенного и биологического многообразия возбудителя количество его серотипов в последние годы увеличивается. Этот факт предопределяет необходимость расширения и дополнения существующей информации относительно диагностики заболевания, которая проводится с учетом эпизоотологических данных, клинических признаков, результатов патологоанатомического вскрытия и на основании лабораторных исследований, особенно при работе с эпизоотическими штаммами вируса ИБК [3].

В вирусологической практике иммуногенные свойства вируса ИБК определяют по титру вирусоспецифических антител (Ат). Однако в последнее время при разработке средств специфической профилактики этой болезни и исследовании биологических свойств производственных штаммов вируса особое внимание уделяют изучению их цилиостатической активности [4]. Полный цилиостаз, как маркер инфекционности, наблюдают в среднем на 3-и сутки после инфицирования вирусом. Однако рядом ученых было установлено, что некоторые штаммы прекращали движение ресничек через 72-144 ч [5, 6].

В связи с этим нами были проведены исследования по определению влияния изоли-

рованных штаммов ЛИ-1 и ЛИ-2 на цилиарный аппарат и гистоморфологию трахеи, легких и почек цыплят с разными титрами материнских Ат к вирусу ИБК в сыворотке крови сравнительно с вакцинными штаммами 4/91, Н-120, Ма-5.

Объекты и методы исследования

Изоляты ЛИ-1 и ЛИ-2 были выделены от птицы соответственно в 240- и 150-дневном возрасте в двух птицеводствах Луганской области. Аутентичность изолятов вирусу ИБК установлена методом ПЦР и электронной микроскопией по характерной для коронавируса морфологии вирионов.

Также использовали вакцинные штаммы вируса ИБК – 4/91, Ма-5 и Н-120.

Исследования проводили на двух группах цыплят 3-суточного возраста с уровнем материнских Ат к вирусу ИБК выше ($3-3,75 \log_2$) и ниже защитного (менее за $3 \log_2$). Каждая группа состояла из 6-ти подгрупп; цыплят первых 5-ти подгрупп инфицировали соответственно штаммами вируса ЛИ-1, ЛИ-2, Н-120, Ма-5 и 4/91; 6-я подгруппа осталась интактной и служила контрольной. Вирусосодержащий материал вводили интратрахеально и интраокулярно в дозе 10^4 ЭИД₅₀/мл. Наличие защитных титров Ат (от $3 \log_2$ и выше) к вирусу определяли в реакции непрямой гемагглютинации.

Оценку цилиарной активности трахеи проводили на цыплятах на протяжении всего эксперимента. Трахею цыпленка извлекали, с помощью пинцета и бритвенного лезвия очищали от соединительной и жировой ткани, нарезали на тонкие (0,5-1,0 мм) кольца. Полученные эксплантаты трахеи помещали в фосфатно-буферный раствор и оценивали цилиарную активность в баллах под световым микроскопом [7]. Гистологические исследования трахеи, легких, почек проводили по общепринятой методике [8].

Результаты и их обсуждение

По результатам цилиостатического теста установлено, что изоляты и вакцинные штаммы вируса ИБК вызывают замедление и прекращение движения ресничек трахеи у цыплят в течение в первые 3–4 суток. Установлена высокая достоверность увеличения цилиостатического балла цыплят 1-ой группы в первые 48 ч после инфицирования, в сравнении с данным показателем у цыплят 2-ой группы (табл. 1).

Таблица 1

Цилиарная активность трахеи цыплят, инфицированных вирусом инфекционного бронхита кур ($M \pm m$)

Штаммы вируса ИБК	Группы (n=4) с уровнем материнских антител								
	1-я (ниже защитного)				2-я (выше защитного)				
	время после инфицирования, сутки								
	1	2	3	4	1	2	3	4	5
Изолированные									
ЛИ-1	25,5± 1,55***	34,8± 1,55	33,0± 0,71	0,3± 0,25	6,3± 0,48	35,8± 0,48	39,3± 0,48	0,3± 0,25	-
ЛИ-2	40,0***	37,5± 1,04**	31,8± 0,48	0	10,8± 1,11	32,3± 0,48	40,0	0,3± 0,25	-
Вакцинные									
4/91	14,8± 1,93***	12,8± 1,55***	0	0	0,3± 0,25	0,3± 0,25	0	0	-
Н-120	19,3± 1,03***	10,0***	0	0	3,3± 0,25	3,8± 0,25	3,5± 0,29	0,8± 0,25	-

Ma-5	20,5± 0,87**	20,3± 1,11***	10,8± 2,9*	0	11,8± 1,25	0,8± 0,25	0	0	-
Контроль	0	0	0	0	0	0	0	0	-

Примечания: ЦБ – цилиостатический балл. *P<0,05; **P<0,01; ***P<0,001 между 1-ой и 2-ой группами инфицированных цыплят.

Так, у цыплят 1-ой группы полный цилиостаз трахеи (40 баллов) вызывал изолят ЛИ-2 в 1-е сутки после инфицирования, тогда как изолят ЛИ-1 индуцировал несколько меньшее снижение цилиарной активности трахеи на 2-е сутки. Во 2-ой группе цыплят после введения изолятов в течение 3-х суток происходило постепенное снижение цилиарной активности трахеи до полного ее прекращения.

Общий цилиостатический балл менее 20, после инокуляции штаммов Н-120, 4/91 и Ma-5 цыплятам обеих групп, свидетельствовал о наличии защиты трахеи от данных штаммов вируса ИБК.

Для определения степени и связи между цилиарной активностью трахеи и уровнем Ат после инфицирования штаммами вируса ИБК был проведен корреляционный анализ. По статистической обработке полученных результатов установлена обратная корреляция между цилиарной активностью трахеи и уровнем Ат у цыплят, инфицированных изолированными и вакцинными штаммами вируса ИБК, т.е. с уменьшением патогенетического действия вируса и соответственно цилиостатического балла увеличивается накопление Ат в сыворотке крови цыплят. Наиболее достоверный коэффициент корреляции установлен у цыплят после введения штамма Н-120 (P≤0,001) и изолята ЛИ-2 (P≤0,01–P≤0,001 по сравнению с другими исследуемыми штаммами ВИБК. В контрольной группе интактных цыплят подобная связь отсутствовала.

Гистологическими исследованиями трахеи инфицированных цыплят выявлены воспалительные и деструктивные процессы, в которые вовлечены все слои слизистой оболочки. Так, умеренный отек собственно слизистой оболочки трахеи был выявлен после инфицирования цыплят как изолятами, так и штаммами вируса ИБК. Кроме того, изолят ЛИ-2 вызывал децилиацию, десквамацию и альтерацию клеток респираторного эпителия. Изолят ЛИ-2, подобно штаммам Ma-5 и 4/91, индуцировал увеличение количества бокаловидных клеток, наполненных слизистым секретом. В то время изолят ЛИ-1, кроме общих признаков, вызывал также дегенерацию и слизистое перерождение эпителиальных клеток слизистой оболочки трахеи, подобно штамму Н-120 (рис 1).

В легких инфицированных цыплят обеих групп обнаруживали повышенное кровенаполнение сосудов, умеренный отек периваскулярной, интерстициальной, перибронхиальной соединительной тканей, а также лимфоидную инфильтрацию перибронхиальной соединительной ткани и собственно слизистой оболочки бронхов. Особенно это выражено у цыплят, которым инокулировали изолят ЛИ-1 и штамм Ma-5 независимо от уровня материнских Ат (рис. 2).

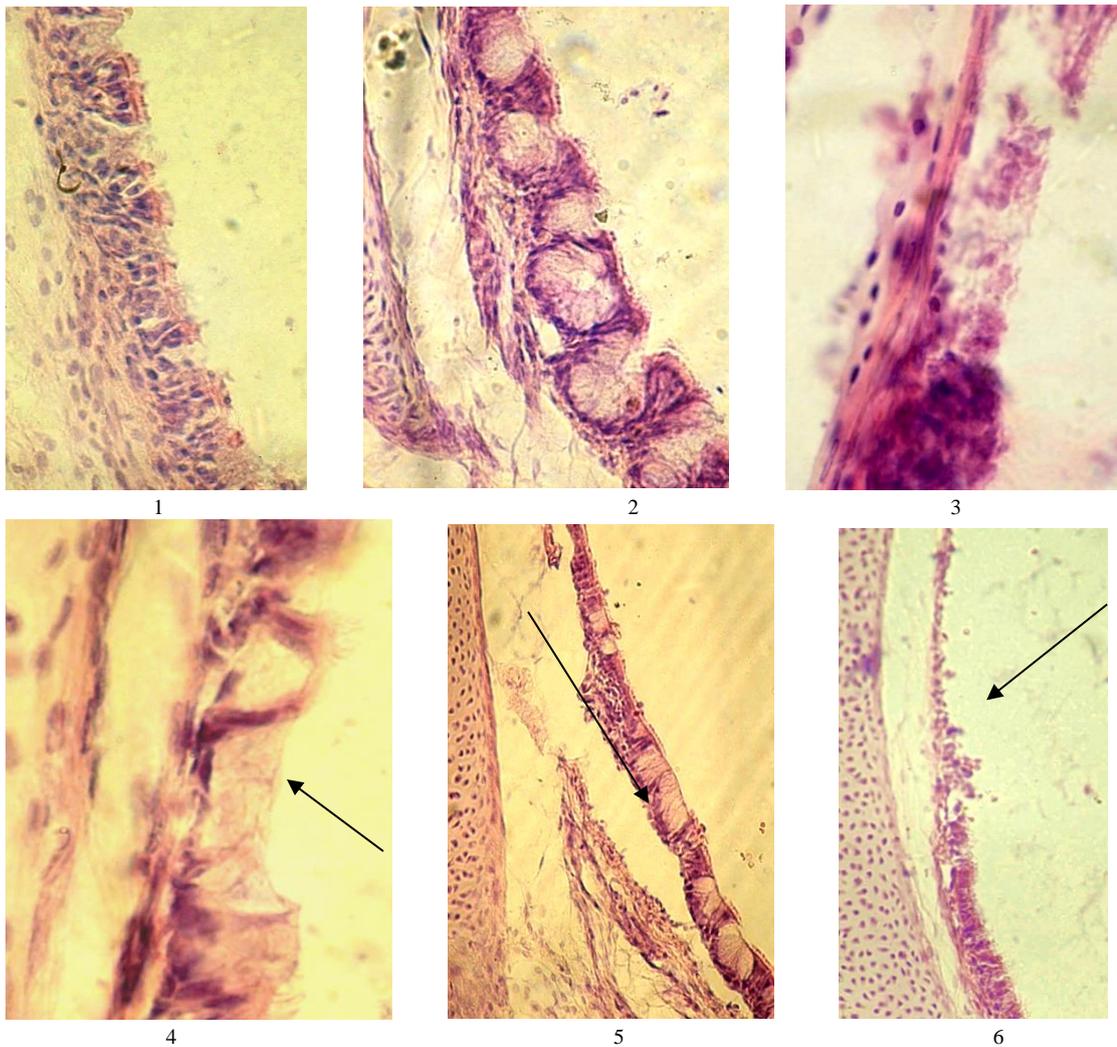


Рисунок 1. Гистологические изменения в трахее цыплят, инфицированных вирусом ИБК: 1 – трахея intactных цыплят (увелич. ок.×10, об.×40); 2 – увеличение количества бокаловидных клеток (увелич. ок.×10, об.×40); 3–4 – перерождение эпителиальных клеток слизистой оболочки (увелич. ок.×10, об.×100); 5 – десквамация слизистой оболочки (увелич. ок.×10, об.×20); 6 – дегенерация эпителиальных клеток (увелич. ок.×10, об.×20). Окраска гематоксили-эозином.

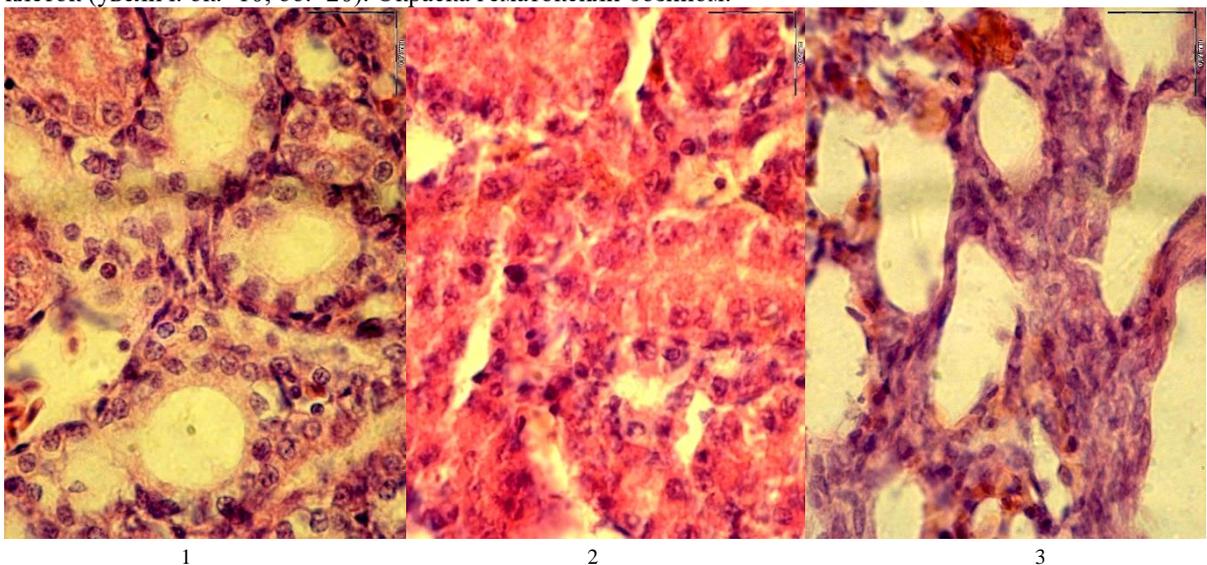


Рисунок 2. Гистологические изменения легких цыплят, инфицированных вирусом ИБК: 1 – острый венозный застой; 2 – лимфоидная инфильтрация перибронхиальной соединительной ткани и собственной слизистой оболочки бронхов; 3 – легкие intactных цыплят. Увелич. ок. ×10, об.×40. Окрасивание гематоксилин-эозином.

Острый венозный застой и лимфоидная инфильтрация отмечались по всей площади коркового и мозгового слоя почек инфицированных цыплят обеих групп. Кроме этого, штаммы 4/91 и Ма-5 индуцировали зернистую дистрофию мочевых канальцев почек (рис. 3).

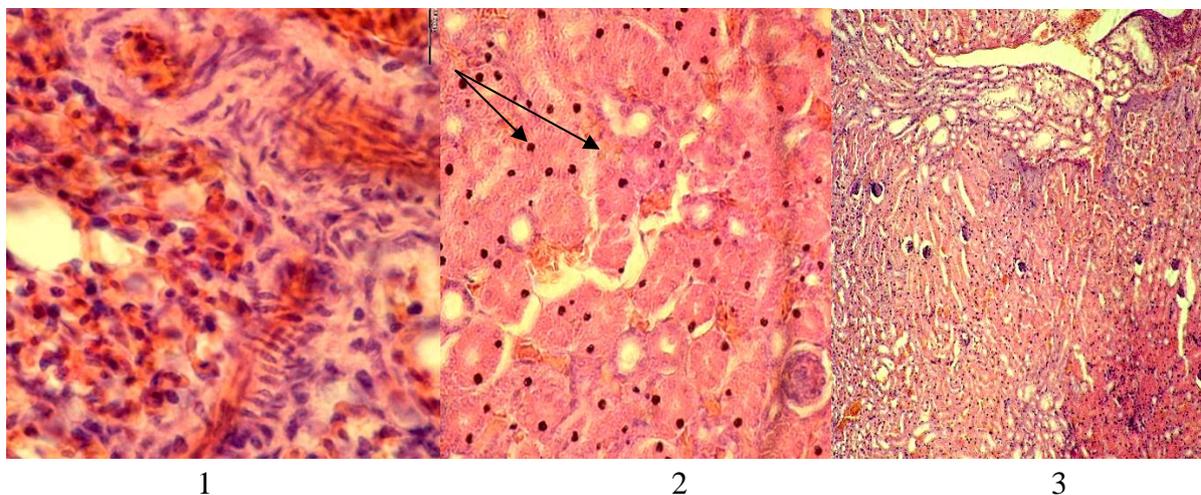


Рисунок 3. Гистологические изменения почек цыплят, инфицированных вирусом ИБК: 1 – острая застойная гиперемия (увелич. ок.×10, об.×100); 2–3 – зернистая дистрофия эпителия мочевых канальцев почек цыплят после введения штаммов Ма-5 и 4/91 (увеличь ок.×10, об.×40). Окрашивание гематоксилин-эозином.

Выводы

У цыплят без материнских Ат к вирусу ИБК цилиостаз трахеи наблюдается соответственно через 24 и 48 ч после инфицирования изолятами ЛИ-1, ЛИ-2 и сопровождается появлением антител к вирусу, тогда как пассивный иммунитет продлевает срок проявления цилиостаза трахеи и накопления Ат к вирусу. Установлена обратная корреляция между цилиарной активностью трахеи и уровнем Ат к вирусу ИБК, которая более достоверна после инокуляции изолята ЛИ-2 и штамма Н-120.

Изоляты ЛИ-1, ЛИ-2, как и вакцинные штаммы (Ма-5, Н-120, 4/91), вызывают воспалительные и деструктивные процессы в организме цыплят: умеренный отек собственно слизистой оболочки трахеи, увеличение количества бокаловидных клеток, децелиацию, деструкцию, отслоение эпителиальных клеток трахеи; острую венозную гиперемию и лимфоидную инфильтрацию легких и почек.

Список литературы

1. Вирусные болезни животных / В.Н. Сюрин, А.Я. Самуйленко, Б.В. Соловьев, Н.В. Фомина. – М.: ВНИТИБП, 1998. – С. 183-198.
2. Chen, Y. Identification and molecular characterization of a novel serotype infectious bronchitis virus (GI-28) in China / Y. Chen, L. Jiang, W. Zhao, L. Liu // *Vet. Microbiol.* – 2017 - №198. – p. 108–115.
3. Khataby, K.; Kichou, F.; Loutfi, C.; Ennaji, M.M. Assessment of pathogenicity and tissue distribution of infectious bronchitis virus strains (Italy 02 genotype) isolated from moroccan broiler chickens / K. Khataby, F. Kichou, C. Loutfi, M.M. Ennaji // *BMC Vet. Res.* – 2016. – № 12. – p. 94.
4. Чупина, О.А. Использование эксплантатов трахеи куриных эмбрионов и цыплят для изучения возбудителей инфекционных респираторных болезней птиц: дис... канд. биол. наук / Чупина Ольга Андреевна; - Владимир, 2009. – 142 с.

5. Brenda V. The preparation of chicken tracheal organ cultures for virus isolation, propagation, and titration / V. Brenda, K. Jones, M. Ruth Hennion // *Methods in Molecular Biology* – 2008. – Vol. 45. – P.103–107.
 6. Мало А. Вивчення ефективності перехресного захисту після застосування живих ослаблених вакцин проти інфекційного бронхіту Нобіліс ІБ 4-91 та Нобіліс ІБ Ма 5 (Массачусетський тип) / А. Мало, С. Орбелл, М. Хагінс, М. Вудс, Д. Кук // *Ветеринарна медицина*. – 2002. – №8. – С.42–45.
-

Нестерова Лариса Юрьевна, кандидат ветеринарных наук, доцент, Луганский национальный аграрный университет, заведующая кафедрой внутренних болезней животных факультета ветеринарной медицины.

91008, Луганск, городок Луганского национального аграрного университета, 1
Телефон: +80669067400
E-mail: lu-nesterova@ukr.net

Пащенко Ольга Алексеевна, кандидат ветеринарных наук, доцент, Луганский национальный аграрный университет, доцент кафедры качества и безопасности продукции АПК заведующая кафедрой внутренних болезней животных факультета ветеринарной медицины

91008, Луганск, городок Луганского национального аграрного университета, 1
Телефон: +380 642 96-60-40
E-mail: rector_lnau@ukr.net