

УДК 636.09:616.233-002:578.834:636.5

**ІМУНОБІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ІЗОЛЯТУ Б-5 ВІРУСУ ІНФЕКЦІЙНОГО БРОНХІТУ КУРЕЙ****НЕМАШКАЛО А. Ю.**, аспірант  
**ПОСТОЄНКО В. О.**, д. с.-г. наук  
**ПОПОВА Г. А.**, ст. наук. співр.  
**ПЕДОРЕНКО І. Ю.**, інженерІнститут ветеринарної медицини НААН,  
м. Київ.  
[vet@ivm.kiev.ua](mailto:vet@ivm.kiev.ua)

*Вивчено антигенну спорідненість польового ізоляту вірусу інфекційного бронхіту курей Б-5 з польовими ізолятами Б2 і КН4 QX-подібного типу в перехресній реакції нейтралізації, а також з вакцинним штамом H120 серотипу Massachusetts. Показано, що ступінь антигенної спорідненості з цими ізолятами 86 % та 79 % відповідно, а з вакцинним штамом 17 %.*

**Інфекційний бронхіт, вірус інфекційного бронхіту, польові ізоляти, серотип QX, вакцинний штам H120, антигенна спорідненість**

Інфекційний бронхіт курей (ІБК) – гостре висококонтагіозне вірусне захворювання, яке проявляється у курчат респіраторним або уремичним синдромом, у курей – враженням гермінативних органів, що призводить до тривалого зниження несучості та суттєвого погіршення якості яєць. До вірусу ІБК сприйнятливі всі вікові групи курей, але найбільш чутливі курчата 7–45-добового віку та доросла птиця в репродуктивний період. Захворювання може спричинити загибель курчат до 30–60-добового віку та значні втрати у виробництві за рахунок зниження якості продукції в уражених стадах курей м'ясного і яєчного напрямів. Основним джерелом поширення інфекційного бронхіту є хворі та перехворілі курчата і кури, які виділяють вірус у зовнішнє середовище та є вірусоносіями до 105 діб після одужання [1, 2].

Контроль інфекційного бронхіту (ІБ) базується на щепленні птахопоголів'я з використанням живих та інактивованих вакцин різних серотипів. Найчастіше використовують вакцинний штам ВІБ Massachusetts H120. Це обумовлено здатністю цього штаму забезпечувати гетерологічний перехресний захист проти різних серотипів ВІБ, особливо в комбінації з вакцинними штамми інших серотипів [3, 4].

ІБК широко розповсюджений у світі та постійно персистує завдяки інтенсивному розвитку птахівничої галузі. Застосування живих вакцин може бути причиною появи і розпо-

всюдження вірусу ІБК у промислових господарствах різних регіонів серед щепленого поголів'я. Його мінливість здійснюється за рахунок змін геному (результат накопичення поодиноких мутацій і рекомбінацій з появою та співіснуванням багатьох нових серотипів і варіантів. Відсутність або низький перехресний захист від щеплення існуючими вакцинами призводить до великих труднощів у профілактиці та контролі, тому це захворювання є однією з найсерйозніших проблем у промисловому птахівництві [3]. Тому актуальними напрямками досліджень є: проведення постійного моніторингу циркулюючих серотипів вірусу ІБК серед щепленого поголів'я; виділення та ідентифікація польових ізолятів; вивчення їх імунобіологічних і молекулярно-генетичних властивостей для підвищення ефективності профілактики та контролю цього вкрай розповсюдженого інфекційного захворювання. ВІБ був і залишається однією з основних причин величезних економічних збитків промислового птахівництва всього світу [5].

У зв'язку з цим, нами протягом 2011-2015 років проводиться постійний моніторинг ВІБ у птахогосподарствах України. Польовий ізолят Б-5 ВІБ було виділено в 2013 році з господарства бройлерного напрямку, в якому відмічалося респіраторне захворювання птиці на фоні щеплення проти ІБК. За результатами ЗТ-ПЛР виявлено РНК ВІБ двох серотипів – Massachusetts і QX-подібного. З ізолятом було проведе-

но 3 пасажі на курячих ембріонах (КЕ) в присутності специфічної сироватки до серотипу Massachusetts [7]. Разом з цим, з інших двох господарств на фоні спалахів ІБ-подібного захворювання серед щепленого проти ІБ птахопоголів'я, ідентифіковано ще 2 ізоляти ВІБ, які отримали назву Б2 та КН4. Ізолят Б2 виділений від хворих курчат-бройлерів, а КН4 - від курей-несучок. За допомогою ЗТ-ПЛР з серотипспецифічними праймерами ВІБ вони ідентифіковані як QX-подібний тип. Окрім QX типу в ЗТ-ПЛР в обох господарствах виявили також тип Massachusetts, що свідчить про циркулювання під час спалаху захворювання не менше двох типів ВІБ – QX та Massachusetts [3].

У розвитку наведених досліджень метою даної роботи було визначення антигенної спорідненості польових ізолятів ВІБ Б-5, Б2 та КН4 між собою та з вакцинним штамом Massachusetts H120.

#### Матеріали і методи

У роботі використовували виділені нами раніше ізоляти та вакцинний штам Massachusetts H120 ВІБ:

Б-5 – польовий ізолят QX-подібного типу 3 пасажу у вільних від патогенної флори курячих ембріонах (ВСП-КЕ) з титром інфекційної активності  $10^{7.2}$  ЕІД<sub>50</sub>/см<sup>3</sup>;

Б2 – польовий ізолят QX-подібного типу 7 пасажу ВСП-КЕ з титром інфекційної активності  $10^{7.0}$  ЕІД<sub>50</sub>/см<sup>3</sup>;

КН4 – польовий ізолят QX-подібного типу 7 пасажу у ВСП-КЕ з титром інфекційної активності  $10^{7.5}$  ЕІД<sub>50</sub>/см<sup>3</sup>;

H120 – вакцинний штам 5 пасажу у ВСП-КЕ з титром інфекційної активності  $10^{7.0}$  ЕІД<sub>50</sub>/см<sup>3</sup>;

ВІБ розмножували у ВСП-КЕ 10-денної інкубації, які одержували від ТОВ «БІОТЕСТЛАБ» (м. Київ).

Антигенну спорідненість ізолятів ВІБ Б-5, Б2 та КН4 QX-подібного типу між собою та з вакцинним штамом H120 серотипу Massachusetts визначали шляхом постановки перехресної реакції нейтралізації (РН) за загальноприйнятою методикою у варіанті з одним розведенням гіперімунної антисироватки (1:10) та з послідовними 10-разовими розведеннями вірусу. Розведення всіх матеріалів,

що використовувались в реакції, проводили на фосфатному буфері. В РН використовували антисироватки на досліджувані віруси, отримані шляхом гіперімунізації курчат. В якості контролю використовували нормальну сироватку. Реакцію нейтралізації проводили на 8-денних КЕ. Дію ВІБ на КЕ оцінювали за загубленню ембріонів та появою ембріонів-карликів (зменшення маси власне ембріона на  $\geq 25\%$ ). Загибель КЕ в перші 24 години після зараження вважали неспецифічною. Титр інфекційної активності розраховували по Керберу в модифікації Ашмаріна [8, 9].

Індекс нейтралізації (ІН) підраховували шляхом ділення титру ЕІД<sub>50</sub> ефективної дози суміші вірусу з позитивною сироваткою на титр ЕІД<sub>50</sub> суміші вірусу з нормальною сироваткою [8].

Розрахунок ступеню антигенної спорідненості штамів проводили за формулою Арчетті [10]. Якщо рівень антигенної спорідненості був вище 50 %, то варіанти вірусу відносяться до одного серотипу; якщо на рівні 25-50 % - засвідчують про низьку антигенну спорідненість; нижче 25 % - досліджувані об'єкти відносяться до різного серотипу [10].

#### Результати та обговорення

Антигенну спорідненість польових ізолятів ВІБ Б-5, Б2 та КН4 QX-подібного типу між собою та з вакцинним штамом H120 серотипу Massachusetts досліджували в перехресній реакції нейтралізації. Результати реакції по індексу нейтралізації досліджуваних штамів відповідними антисироватками наведені в таблиці.

Ізоляти ВІБ Б-5, Б2, ВІБ КН4 та штам H120 нейтралізувались гомологічними сироватками. Ізолят ВІБ КН4 повністю нейтралізувався антисироваткою отриманою на ізолят ВІБ Б2, а при нейтралізації ізоляту Б2 антисироваткою на ізолят ВІБ КН4 залишкова інфекційна активність вірусу складала 1 Іг. Антигенна спорідненість між цими ізолятами дорівнювала 92 %. Ізолят Б-5 нейтралізувався антисироватками на ізоляти Б2 та КН4, залишкова інфекційна активність складала 1 та 0,9 Іг відповідно, антигенна спорідненість з цими ізолятами досягла 86 % та 79 % відповідно.

Напроти, антисироватки, отримані на ізоляти ВІБ Б2 та КН4, практично не нейтралізували штам H120, як і сироватка на штам H120 не

**Таблиця. Індекси нейтралізації польових ізолятів ВІВ Б-5, Б2 і КН4 QX-подібного типу та вакцинного штаму ВІВ Н120 серотипу Massachusetts в перехресній реакції нейтралізації**

ВІВ	Тип	Титр інфекційної активності, ЕІД <sub>50</sub> /см <sup>3</sup>	Індекси нейтралізації з антисироваткою до ВІВ, lg:			
			Б-5	Б2	КН4	Н120
Б-5	QX-подібний	10 <sup>6,9</sup>	6,9	5,9	6,0	2,7
Б2	QX-подібний	10 <sup>6,5</sup>	5,8	6,5	5,5	1
КН4	QX-подібний	10 <sup>6,0</sup>	5,5	6,0	6,0	1
Н120	Massachusetts	10 <sup>6,5</sup>	0,5	0,5	≤0,5	6,5

нейтралізувала ці ізоляти. Ступінь антигенної спорідненості польових ізолятів ВІВ Б2 та КН4 з вакцинним штамом Н120 складала 10,2 % та 11 % відповідно. Антисироватка на штам Н120 частково нейтралізувала ізолят Б-5, а антисироватка на Б-5 не нейтралізувала Н120, антигенна спорідненість складала 17 %.

Оскільки ВІВ типу QX є новим для нашої країни, необхідне подальше вивчення молекулярно-генетичних та імунобіологічних властивостей виділених ізолятів з метою удосконалення засобів профілактики цього захворювання.

**Висновки.** Польові ізоляти Б2 (виділений від курчат-бройлерів) та КН4 (виділений від

курей-несучок) є антигенно спорідненими між собою (92 %) . Польовий ізолят Б-5 антигенно споріднений з ізолятами Б2 та КН4 на 86 % та 79 % відповідно. Дані ізоляти відносяться до одного серотипу. Навпаки, рівень антигенної спорідненості цих ізолятів з вакцинним штамом Н120 Massachusetts низький (10,2 % та 11 % відповідно), з ізолятом Б-5 – 17 %. Це означає, що вони відносяться до різних серотипів.

У наступних дослідженнях доцільним є вивчення молекулярно-генетичних та імунобіологічних властивостей виділених ізолятів з метою удосконалення засобів профілактики цього захворювання в Україні.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Вирусные болезни животных / В.Н. Сюрин, А.Я. Самуйленко, Б.В. Соловьев, Н.В. Фомина. – М.: ВНИТИБП, 1998. – С. 183 – 198
2. Сидорчук А.А. Инфекционные болезни животных: учебник, под ред. А.А. Сидорчука. – М.: Колос, 2007. – С. 448 – 453
3. Виділення та ідентифікація польових ізолятів вірусу інфекційного бронхіту курей QX-подібного типу. Вивчення їх патогенності для курчат / Є.О. Краснобаєв, О.М. Дерябін, Г.А. Попова [та ін.] // Ветеринарна біотехнологія. – 2013. – №22. – С. 270 – 283
4. Генетическая характеристика полевых изолятов вируса инфекционного бронхита кур, выявленных в России. / Е.В.Овчинникова, Ю.А.Бочков, Г.В.Батченко [и др.] // Труды федерального центра охраны здоровья животных. – 2007. – Т.V. – С.303 – 310
5. Cavanagh D. Coronavirus avian infectious bronchitis virus. / D.Cavanagh. // VeterinaryResearch. – 2007. – Vol.38. – P. 281 – 297
6. Development and use of the H strain of avian infectious bronchitis virus from the Netherlands as a vaccine: a review. / Gosse Bijlenga, Jane K. A. Cook, Jack Gelb Jr [et al.] // Avian Pathology. – 2004. – Vol. 33. – P. 550 – 557
7. Немашкало А.Ю. Виділення QX-подібного ізоляту вірусу інфекційного бронхіту курей. / А.Ю. Немашкало. – Матеріали наук.-

- практ. конф. молодих вчених, 26 черв. 2014 р. – К. : КОМПРИНТ, 2014. – С. 10 – 12.
8. Сюрин В.Н. Справочник вирусных болезней животных. / Сюрин В.Н. , Белоусова Р.В., Фомина Н.В. – М.: Агропромиздат, 1991. – С. 351
9. Кубаєв А. П. визначення титру інфекційної активності вірусу інфекційного бронхіту на курячих ембріонах: метод. рекомендації. / Кубаєв А. П., Гулянич М. М., Краснобаєв Є. О. – К. : КОМПРИНТ, 2014. – С. 5 – 12.
10. Методические указания по выделению, титрованию и оценке антигенного родства вариантов вируса инфекционного бронхита кур в трахеальной органной культуре / О.А. Чупина, С.В. Фролов, В.И. Диев, А.В.Борисов. – Владимир: ФГУ «ВНИИЗЖ», 2006. – 19 с.

## ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ИЗОЛЯТА Б-5 ВИРУСА ИНФЕКЦИОННОГО БРОНХИТА КУР

Немашкало А. Ю., Постоенко В. А., Попова Г. А., Педоренко И. Ю.

*Институт ветеринарной медицины НААН, г. Киев.*

*Изучено антигенное родство полевого изолята вируса инфекционного бронхита кур Б-5 с полевыми изолятами Б2 и КН4 QX-подобного типа в перекрестной реакции нейтрализации, а также с вакцинным штаммом H120 серотипа Massachusetts. Показано, что степень антигенного родства с этими изолятами 86% и 79% соответственно, а с вакцинным штаммом 17%*

***Инфекционный бронхит, вирус инфекционного бронхита, полевые изоляты, серотип QX, вакцинный штамм H120, антигенное родство***

## IMMUNOBIOLOGICAL PROPERTIES OF ISOLATE B-5 VIRUS INFECTIOUS BRONCHITIS

A. Nemashkalo, V. Postoienko, G. Popova, I. Pedorenko

*Institute of veterinary medicine NAAS, Kyiv, Ukraine*

*Purpose of this study was to determine the antigenic relationship of the field isolates VIB B-5, B2 and KN4 between each other and the vaccine strain H120 Massachusetts.*

### ***Results:***

*The antigenic relationship of the field isolates was investigated in cross neutralization test. Isolates VIB B-5, B2, KN4 and strain H120 was neutralized with homologous sera. Isolate B-5 antiserum to neutralized isolates B2 and KN4 residual infectious activity was 1 and 0,9 lg respectively, antigenic relationship of these isolates reached 86% and 79% respectively. Antiserum for strain H120 partially neutralized isolate B-5 and B-5 antiserum are not neutralized H120, antigenic relationship was 17%.*

### ***Conclusions:***

*Field isolate B-5 antigenically related with isolates B2 and KN4 on 86% and 79% respectively. These isolates belong to one serotype. In contrast, the level of antigenic relationship isolate B-5 with vaccine strains H120 Massachusetts is 17%. This means that they belong to different serotypes.*

*It is reasonable to study the molecular-genetic and immunological properties of selected isolates to improve means of preventing the disease in Ukraine*

***Infectious bronchitis, infectious bronchitis virus, field isolates, serotype QX, vaccine strain H120, antigenic relationship***