

/ M.A. Ponaskov, P.A. Krasochko, V.A. Mashero // Aktualnye problemy lecheniia i profilaktiki boleznei molodniaka: materialy Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii, Vitebsk, 3-5 noiabria 2021 g. / UO VGAVM; redkol.: N. I. Gavrichenko (gl. red.) [i dr.]. – Vitebsk: VGAVM, 2021. – S. 117–121.

11. Razrabotka assotsiirovannoi vaksiny protiv IRT, PG-3, VD-BS i khlamidioza krupnogo rogatogo

skota / V.V. Evstifeev [i dr.] // Veterinarnyi vrach. – 2020. – No. 6. – S. 21–28.

12. Krasochko, P. A. Biotekhnologicheskie osnovy konstruirovaniia i ispolzovaniia immunobiologicheskikh preparatov dlia molodniaka krupnogo rogatogo skota: dis. ... d-ra biol. nauk: 03.00.23 / P. A. Krasochko. – Shchelkovo, 2009. – 439 l.



УДК 619:616.9/615.371:636.5

DOI: 10.53083/1996-4277-2022-213-7-61-66

С.Ю. Жбанова, Г.Ш. Наврузшоева, Н.В. Пименов

S.Yu. Zhbanova, G.Sh. Navruzshoeva, N.V. Pimenov

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГРУППОВОГО УРОВНЯ СПЕЦИФИЧЕСКИХ АНТИТЕЛ МЕТОДОМ ИФА ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ИММУНИЗАЦИИ ПРОТИВ ИНФЕКЦИОННОГО БРОНХИТА КУР

### DETERMINATION OF THE GROUP LEVEL OF SPECIFIC ANTIBODIES BY ELISA DURING IMMUNIZATION AGAINST INFECTIOUS BRONCHITIS IN CHICKENS

**Ключевые слова:** инфекционный бронхит кур, птица, вакцинация, штамм, вирус, иммуноферментный анализ, антитела.

Представлены результаты исследований уровня специфических антител при перекрёстной иммунизации промышленной птицы. На птицефабриках Таджикистана зарегистрированы случаи внезапного снижения яичной продуктивности кур-несушек, сопровождающиеся ухудшением товарного вида и качества яиц. Одной из возможной причин этих проблем является инфекционный бронхит. Эффективность вакцинации при проведении борьбы с IBV зависит от наличия данных о том, какие штаммы вируса циркулируют в популяции промышленной птицы. Для отслеживания постоянно меняющегося вируса инфекционного бронхита проводится своевременная программа диагностических исследований и надзора, которая позволяет соответствующим образом обновить вакцины. На основании тщательного комплексного анализа (эпизоотологического, клинического, патологоанатомического) и результатов лабораторных исследований диагностировали IBV. В приведенных материалах представлены диагностические исследования по выявлению спектра серовариантов IBV и генетического разнообразия возбудителей инфекционного бронхита кур (ИБК, IBV) на некоторых птицефабриках Таджикистана. Установлена циркуляция возбудителей ИБК, вызванного «вариантными» штаммами вируса. Был проведен ряд исследований, посвященных изучению различных комбинаций типов IBV-вакцин против различных штаммов вирусов инфекционного бронхита кур. По результатам исследований методом ИФА для профилактики ИБК разработана стратегия вакцинации на основе штаммов 4/91 и Ma5. Доказано, что используемые вакцины обеспечивают

перекрестную защиту от IBV и высокий групповой уровень специфических антител. Комбинация типов вакцин Nobilis Ma5 и Nobilis AB 4/91 обеспечивает защиту, которая не позволяет циркулирующим вирусам реплицироваться и передаваться среди сельскохозяйственных птиц. В результате изменения схемы вакцинации и использования вакцин из штаммов AB 4/91 и Ma5 в производственных условиях на птицефабрике яичного направления, у цыплят и взрослой птицы, иммунизированных по комбинированной схеме, поочередно, коэффициент вариации был значительно лучше, чем после применения вакцины из штамма H120. Величина средних титров антител достигает протективного уровня, позволяющего защитить птицу от заболевания.

**Keywords:** infectious bronchitis in chickens, poultry, vaccination, strain, virus, enzyme immunoassay, antibodies.

This paper presents the research findings on the level of specific antibodies during cross-immunization of commercial poultry. Cases of a sudden decrease in egg production of laying hens have been registered in poultry farms in Tajikistan which are accompanied by a deterioration in the presentation and quality of eggs; one of the possible causes of these problems is infectious bronchitis. The effectiveness of vaccination in the fight against IBV depends on the availability of data on which strains of the virus are circulating in the population of commercial poultry. To track the ever-changing infectious bronchitis virus, a timely diagnostic research and surveillance program is carried out which allows the vaccines to be updated accordingly. Based on a thorough comprehensive analysis (epizootological, clinical, pathoanatomic) and the results of laboratory tests, IBV was

diagnosed. The above materials present diagnostic studies to identify the spectrum of IBV serovariants and the genetic diversity of pathogens of infectious bronchitis of chickens (IBC, IBV) on some poultry farms in Tajikistan. The circulation of IBD pathogens caused by "variant" strains of the virus was determined. A number of studies were conducted to study various combinations of types of IBV vaccines against various strains of infectious bronchitis viruses in chickens. Based on the results of ELISA studies, a vaccination strategy based on strains 4/91 and Ma5 was developed for the prevention of IBD. It was proved that the vaccines used provided cross-protection against IBV and a high group level of specific antibodies. The combination of

the Nobilis Ma5 and Nobilis AB 4/91 vaccine types provides protection that prevents circulating viruses from replicating and transmitting among poultry. As a result of the change in the vaccination scheme and the use of vaccines from the AB 4/91 and Ma5 strains under production conditions at the egg producing poultry farm, in chickens and adult poultry immunized according to the combined scheme, alternately, the coefficient of variation was significantly better than after the use of the vaccine from the H120 strain. The results of the studies showed that the value of the average titers of antibodies reaches a protective level that allows protecting the poultry against the disease.

**Жбанова Светлана Юрьевна**, к.в.н., вед. науч. сотр., Ветеринарный институт Таджикской академии сельскохозяйственных наук, г. Душанбе, Республика Таджикистан, e-mail: appl1778@mail.ru.

**Наврүзшоева Гулнора Ширинджоновна**, к.в.н., доцент, ФГБОУ ВО Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина, г. Москва, Российская Федерация, e-mail: gulnora01@mail.ru.

**Пименов Николай Васильевич**, д.б.н., профессор, ФГБОУ ВО Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина, г. Москва, Российская Федерация, e-mail: pimenov-nikolai@yandex.ru.

**Zhbanova Svetlana Yurevna**, Cand. Vet. Sci., Leading Researcher, Veterinary Institute of the Tajik Academy of Agricultural Sciences, Dushanbe, Republic of Tajikistan, e-mail: appl1778@mail.ru.

**Navruzshoeva Gulnora Shirindzhonovna**, Cand. Vet. Sci., Assoc. Prof., Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology named after K.I. Skryabin, Moscow, Russian Federation, e-mail: gulnora01@mail.ru.

**Pimenov Nikolay Vasilevich**, Dr. Bio. Sci., Prof., Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology named after K.I. Skryabin, Moscow, Russian Federation, e-mail: pimenov-nikolai@yandex.ru.

### Введение

ИБК – инфекционный бронхит кур – является высококонтагиозным заболеванием, поражающим респираторные органы молодой птицы, а также урогенитальную систему взрослых кур-несушек. Этиологическим агентом является возбудитель инфекционного бронхита кур (IBV) [1].

Предотвращение клинических признаков заболевания, а также уменьшение репликации вируса и его последующей передачи достигается путем вакцинации против IBV. Ослабленные живые и инактивированные вакцины в настоящее время являются единственным и наилучшим средством специфической профилактики, на котором основана стратегия борьбы с вирусом IBV [2]. Использование вакцин для предотвращения заболевания инфекционным бронхитом кур зависит от типа вводимой вакцины, методов и сроков (возраста птицы), программы вакцинации [3].

Обычно вакцины из ослабленных живых штаммов вводят цыплятам в первые часы после вывода в инкубатории, а затем в цыплятнике в зависимости от эпизоотической ситуации примерно с 15- до 20-дневного возраста [4].

Племенным птицам, родительскому поголовью бройлерных птиц или ремонтному молодняку

ку яйценокских пород, для создания устойчивого длительного иммунитета следует вводить инактивированные вакцины против инфекционного бронхита, в возрастном периоде от 16 до 18 недель. Перед вакцинацией инактивированной вакциной в обязательном порядке первично проводят вакцинацию живой вакциной, строго соблюдая наставление по применению вакцины [5].

Возбудитель ИБК, как и многие другие РНК-вирусы, обладает способностью высокого генетического разнообразия при размножении и развивает множество штаммов при паразитировании. Ветеринарным специалистам для обеспечения полноценной защиты от инфекционного бронхита следует использовать разные типы IBV вакцин, но даже и в таких случаях не всегда обеспечена перекрестная защита [6].

Генерация генетически разнообразных штаммов IBV происходит вследствие мутаций при репликации вируса, различных вставок и образования множества рекомбинаций. Такой большой уровень генетических изменений влечет появление многих других новых вирусов [7].

**Цель и задачи исследования:** сравнить различные схемы иммунизации и предложить современную программу с использованием соот-

ветствующих вариантных штаммов вакцин; при помощи эффективной вакцинации обеспечить эпизоотическое благополучие птицефабрики от ИБК.

### Объекты и методы

Исследования выполняли в Институте ветеринарной медицины ТАСХН в лаборатории по изучению болезней птиц. Объектами изучения и анализа причин снижения яйценоскости и заболевания сельскохозяйственных птиц были промышленные птицефабрики Таджикистана. Для исследования получено и проанализировано методом ИФА тест-системами IDEXX на ИБК свыше 460 проб сывороток крови цыплят и кур разного возраста. За период с 2017 по 2022 гг. проведен мониторинг из более 66 птицевладельцев Республики Таджикистан, исследовали сыворотки крови кур и цыплят до и после вакцинации против ИБК.

Диагностический анализ ИБК основан на выявлении антител (вируснейтрализующих и преципитирующих). Кроме того, исследовали сыворотки с диагностической целью при бессимптомном течении инфекционного бронхита кур. Исследования проводили в динамике, для чего получали парные сыворотки крови от одной и той же группы птиц. Серологический мониторинг ИБК, основанный на методологии ИФА, пред-

ставляет собой надежные данные об иммунном статусе птицепоголовья. Использовали комплект наборов ИФА производства США IDEXX, стандартизированное оборудование и универсальную компьютерную программу обработки и хранения полученных результатов. Гуморальная реакция птицы на иммунизацию проявляется напряженностью поствакцинального иммунитета и выражается величиной титров сывороточных антител. Установливали средние геометрические титры, средние арифметические титры, коэффициент вариации (% CV),  $\log^2$ .

Вакцинные препараты использовали с соблюдением инструкции.

### Экспериментальная часть

В условиях производства – птицефабрика яичного направления ООО «Тарз» в 2018 и 2020 гг. применялась схема вакцинации против ИБК с использованием вакцин на основе штамма Н-120 (табл. 1). Цыплят иммунизировали в суточном возрасте живой вакциной из штамма Н-120 методом введения – спрей и далее в 12, 35 сут. интраназально; в 71 и 95 дней методом выпаивания. В возрасте 100-105 дней ревакцинировали трехвалентной инактивированной вакциной внутримышечно в грудную мышцу.

Таблица 1

*Программа вакцинации птиц яичного направления на птицефабрике ООО «Тарз» 2018-2020 гг.*

Возраст птицы	Вакцина	Производитель	Метод введения
0	Н-120	ВНИИЗЖ	спрей
12	Н-120	ВНИИЗЖ	интраназально
35	Н-120	ВНИИЗЖ	интраназально
71	Н-120	ВНИИЗЖ	выпаивание
95	Н-120	ВНИИЗЖ	выпаивание
100-105	НБ+ИБК+ССЯ	ВНИИЗЖ	в/м

Однако применение такой схемы вакцинации полностью не защищало птицу от ИБК. Как у цыплят, так и у взрослой птицы отмечались клинические признаки инфекционного бронхита, что подтверждают данные исследований методом ИФА. Данные иммунного ответа на 21-й день после вакцинации инактивированной вакциной в возрасте 126 дней приведены в гистограмме (рис. 1).

Установлено: средние геометрические титры 1531, средние арифметические 2363; % CV (коэффициент вариации) – 123,1;  $\log^2$  – 11,4. В двух пробах отмечены максимальные титры 9143 и 12184; минимальные титры в 9 пробах (от 561

до 980); что свидетельствует о неровном иммунитете в промышленном стаде и возможности циркуляции полевого вируса.

Схема вакцинации против ИБК на птицефабрике ООО «Тарз» была изменена в 2020-2022 гг. Иммунизацию проводили вакцинами вариантных штаммов Nobilis AB 4/91 и Ma5 (табл. 2).

Оценку биологических препаратов проводили по способности индуцировать у привитых птиц антитела к возбудителю IBV, которые определяли в ИФА. Лабораторный контроль напряженности иммунитета – отбор крови через 21 сут. после ревакцинации (рис. 2).

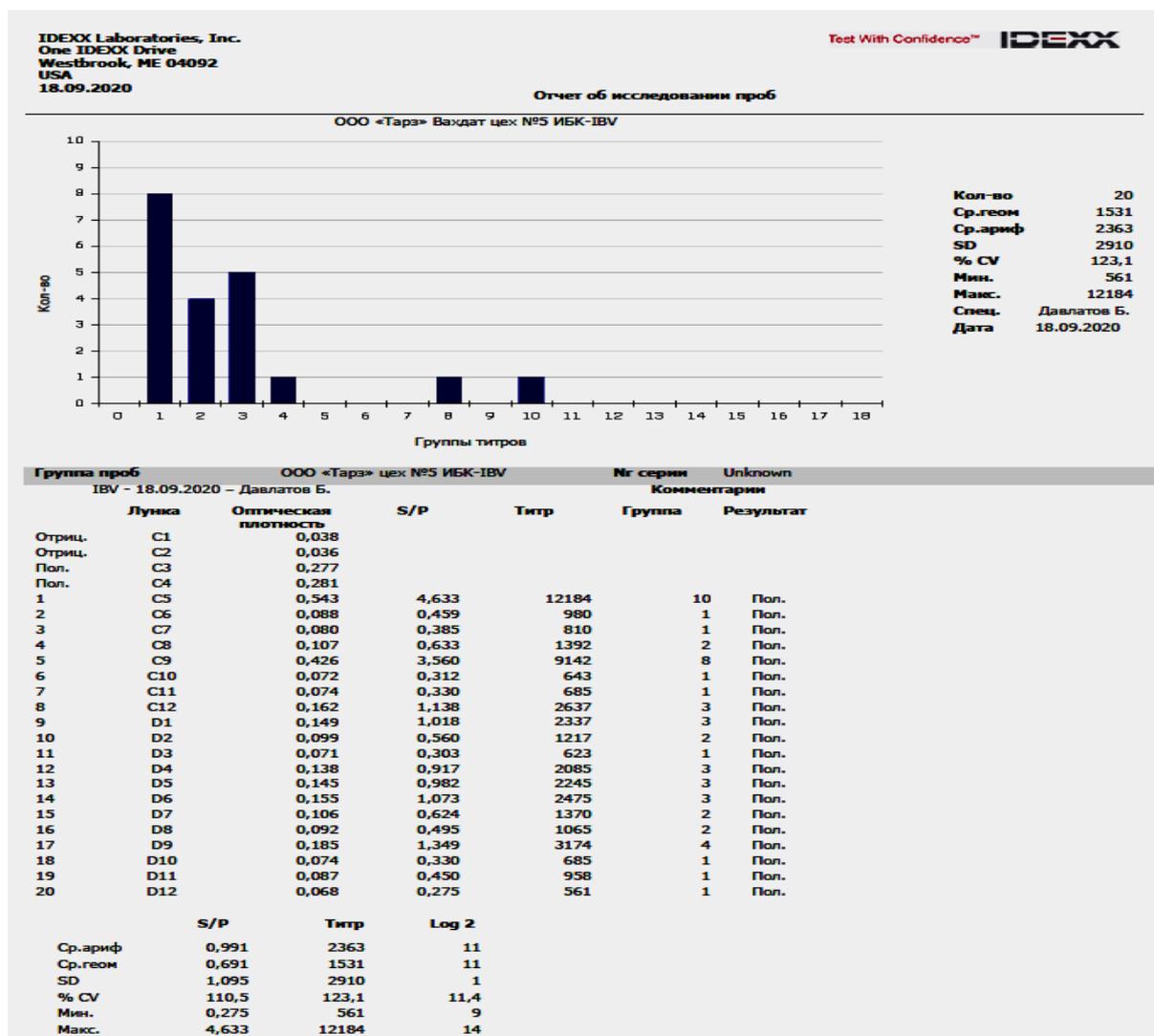


Рис. 1. Гистограмма группы титров против IBV у кур-несушек ООО «Тарз», вакцинированных по схеме с использованием штамма H-120 метод ИФА

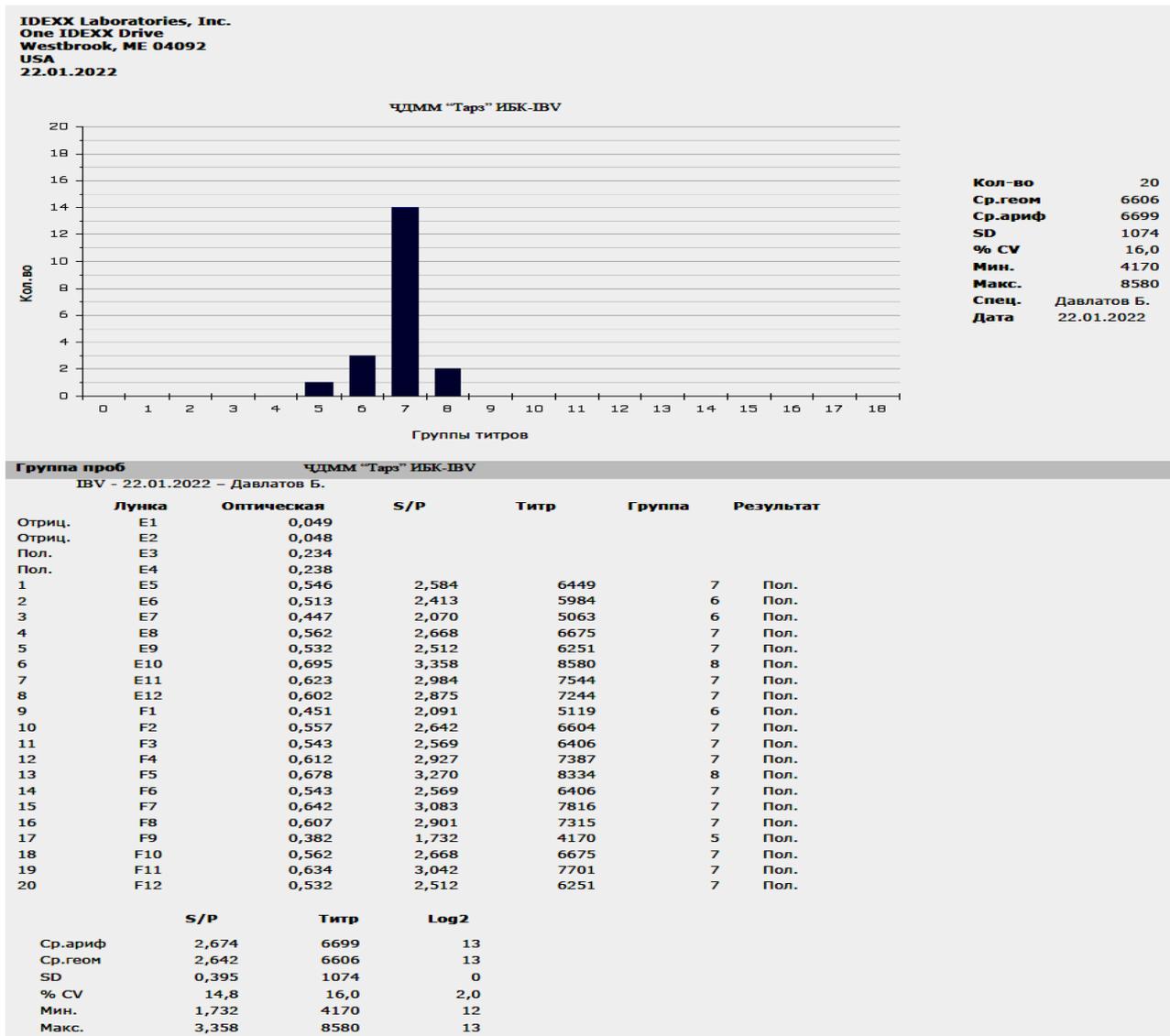
Таблица 2

Программа вакцинации птиц яичного направления на птицефабрике ООО «Тарз» 2020-2022 гг.

Возраст птицы	Вакцина	Производитель	Метод введения
0	Nobilis Ma5	Intervet	спрей
7	Nobilis AB 4/91	Intervet	и/о
28	Nobilis Ma5	Intervet	выпойка
44	Nobilis Ma5	Intervet	и/о
80	Nobilis Ma5	Intervet	и/о
80	Nobilis AB 4/91	Intervet	и/о
126	Nobilis Ma5	Intervet	и/о
126	Nobilis AB 4/91	Intervet	и/о
126	НБ+ИБК+ССЯ	Intervet	в/м

Установлено, что после иммунизации ремонтной молодки в возрасте 126 дней через 21 сут. после прививки был зафиксирован удовлетворительный групповой уровень специфических антител к IBV (средние геометрические титры 6606, средние арифметические 6699), %CV (коэффициент вариации) – 16,0. Получен-

ные данные свидетельствуют об активном иммунитете и надежной защите птиц от полевых штаммов ИБК. В исследуемом птичнике на протяжении длительного времени (период наблюдения 8 мес.) отмечены высокие продуктивные показатели.



**Рис. 2. Эффективность вакцинации против ИБК с использованием вакцин из штаммов АВ 4/91 и Ма5, гистограмма группы титров против IBV у кур-несушек ООО «Тарз» метод ИФА**

**Результаты исследований и их обсуждение**

Разработанная нами стратегия вакцинации, как гомологичными типами вакцин, так и в комбинации с гетерологичными вакцинами, вводимыми многократно, послужила важным инструментом контроля IBV на птицефабрике ООО «Тарз».

Оздоровление птицеводческих хозяйств республики от вариантных штаммов вируса ИБК возможно при помощи корректировки существующих схем и методов вакцинации, кратности введения вакцины из штаммов АВ Ма5, АВ 4/91.

На основании диагностических исследований проводили разработку схем и стратегий борьбы с инфекцией. В производственных условиях у цыплят и взрослой птицы, иммунизированных по комбинированной схеме вакцинами из штаммов АВ 4/91 и Ма5 поочередно, коэффициент вариации – %CV 16,0 (рис. 2) значительно луч-

ше, чем после применения вакцины из штамма Н-120 %CV – 123,1 (рис. 1). Результаты исследований показали, что величина средних титров антител при использовании вакцин вариантных штаммов достигает протективного уровня среднего арифметического титра 6699 (log2 – 13).

**Выводы**

1. Разработана стратегия вакцинации на основе штаммов АВ 4/91 и Ма5 для профилактики инфекционного бронхита кур, вызванного «вариантными» штаммами вируса. Используемые вакцины обеспечивают перекрестную защиту от IBV, групповой уровень специфических антител был выше с коэффициентом вариации – %CV 16,0 (рис. 2). Коэффициент вариации получен из расчета универсальной компьютерной программы США IDEXX по обработке полученных результатов.

2. Комбинация типов вакцин Nobilis Ma5 и Nobilis AB 4/91 обеспечивает защиту, которая не позволяет циркулирующим вирусам реплицироваться и передаваться среди цыплят, устраняя возможность возникновения мутаций.

3. Таким образом, ключом к программе контроля для IBV является широко распространенное и своевременное наблюдение. Знание штаммов IBV, циркулирующих в настоящее время в данной области, имеет решающее значение и будет гарантировать, что выбранные вакцины и программа вакцин являются наилучшей стратегией для борьбы с этим экономически важным заболеванием.

### Библиографический список

1. Рождественский, И. К. Опыт производства и применения комбинированных инактивированных противовирусных вакцин в птицеводстве / И. К. Рождественский, О. Ф. Хохлачев. – Текст: непосредственный // Материалы конференции по птицеводству. – Зелиноград, 2003. – С. 209-210.
2. Жбанова, С. Ю. Генотипы вируса инфекционного бронхита кур, циркулирующего в Таджикистане / С. Ю. Жбанова, Р. Розиков, Т. М. Салимов, Ф. Д. Хасанов. – Текст: непосредственный // Маҷаллаи илмию амалӣ Амнияти озуқаворӣ. – 2018. – № 4-6 (59). – С. 21-22.
3. Токарских, В. В. Характеристика изолятов вируса ИБК, выделенных от птиц яичного и мясного направления / В. В. Токарских, М. Г. Мазурина, А. Б. Терюханов. – Текст: непосредственный // Комплекс противоэпизоотических и специальных мероприятий по борьбе с болезнями птиц: сборник научных трудов. – Ленинград, 1990. – С. 73-79.
4. Javadov, E. D. Diagnosis and prevention of new infectious diseases of birds / E. D. Javadov // Farm Animals. – 2013. – No. 2. – S. 69-75.
5. Куриленко, А. Н. Основные направления борьбы с инфекционным бронхитом кур / А. Н. Куриленко, В. А. Седов, Н. В. Пименов. – Текст: непосредственный // Ветеринарная медицина. – 2004. – № 4. – С. 21-23.
6. Alexander, D.J., Gough, R.E. (1977). Isolation of avian infectious bronchitis virus from experimentally infected chickens. *Research in Veterinary Science*. 23 (3): 344-347. [https://doi.org/10.1016/S0034-5288\(18\)33129-1](https://doi.org/10.1016/S0034-5288(18)33129-1).
7. Cook J.K.A., Huggins M.B. (1986) Newly isolated Serotypes of infectious bronchitis virus: Their role in disease. *Avian Pathology*, 15:1, 129-138, DOI: 10.1080/03079458608436272.

### References

1. Rozhdestvenskiy, I.K. Opyt proizvodstva i primeneniya kombinirovannykh inaktivirovannykh protivovirusnykh vaksin v ptitsevodstve / I.K. Rozhdestvenskiy, O.F. Khokhlachev // Materialy konferentsii po ptitsevodstvu. – Zelinograd, 2003. – S. 209-210.
2. Zhbanova, S.Yu. Genotipy virusa infektsionnogo bronkhita kur, tsirkuliruyushchego v Tadjikistane / Zhbanova S.Yu., Roziqov R., Salimov T.M., Khasanov F.D. // Maҷallai ilmiyu amalӣ Amniyati oзуқavorӣ. – 2018. – No. 4-6 (59). – S. 21-22.
3. Tokarskikh V.V. Kharakteristika izolyatov virusa IBK, vydelennykh ot ptits yaichnogo i myasnogo napravleniya / Tokarskikh V.V., Mazurina M.G., Teryukhanov A.B. // Kompleks protivoepizooticheskikh i spets. meropriyatiy po borbe s boleznyami ptits: Sb. nauch. tr. – Leningrad, 1990. – S. 73-79.
4. Javadov, E. D. Diagnosis and prevention of new infectious diseases of birds / E.D. Javadov // Farm Animals. – 2013. – No. 2. – S. 69-75.
5. Kurilenko, A.N. Osnovnye napravleniya borby s infektsionnym bronkhitom kur / A.N. Kurilenko, V.A. Sedov, N.V. Pimenov // Veterinarnaya meditsina. – 2004. – No. 4. – S. 21-23.
6. Alexander, D.J., Gough, R.E. (1977). Isolation of avian infectious bronchitis virus from experimentally infected chickens. *Research in Veterinary Science*. 23 (3): 344-347. [https://doi.org/10.1016/S0034-5288\(18\)33129-1](https://doi.org/10.1016/S0034-5288(18)33129-1).
7. Cook J.K.A., Huggins M.B. (1986) Newly isolated Serotypes of infectious bronchitis virus: Their role in disease. *Avian Pathology*, 15:1, 129-138, DOI: 10.1080/03079458608436272.

