

Алиев Алаутдин Серажутдинович

Инфекционная бурсальная болезнь птиц.

– СПб.: Издательство НИИЭМ им. Пастера, 2010. - 208 с.: ил.

Стр. 153-162.

## МЕТОДЫ И СПОСОБЫ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРОФИЛАКТИКИ ИНФЕКЦИОННОЙ БУРСАЛЬНОЙ БОЛЕЗНИ ПТИЦ

Наряду с достигнутыми успехами в специфической профилактике ИББ, очевидно, что иммунизация птиц против ИББ вакцинами разных производителей не всегда дает положительный результат. Это связано с типом вакцины, соблюдением правил и схем их применения, наличием и уровнем материнских антител, которые отрицательно влияют на выработку поствакцинального иммунитета как при введении живой, так и инактивированной вакцины. Указанные обстоятельства требуют поиска новых методов и способов повышения эффективности существующих мер специфической профилактики болезни.

В лабораторных условиях положительные результаты по профилактике заболевания были получены при введении птицам сыворотки реконвалесцентов или молозива коров, иммунизированных вирусом ИББ, однако использование данного метода в широких масштабах в борьбе с этой инфекцией не увенчалось успехом (Bendheim V., 1969; Lucio B, Schultz R.D., 1980). Применение лекарственных препаратов в профилактике ИББ также не имело успеха, хотя это и понятно, поскольку речь идет о вирусной инфекции, при которой использование средств химиотерапии оправдано лишь для предупреждения развития вторичных инфекций, особенно бактериальной этиологии (Ritter J.H., 1984). Сомнительно также, что симптоматическая терапия при остром течении болезни имеет какую-либо ценность. Теоретически было бы возможно бороться с диареей, но короткая продолжительность болезни затрудняет оценку результатов терапии.

Введение миболерона с кормом в течение 7 недель не предохраняет птицу от заражения вирусом ИББ (Lucio B. и Hitchner S.B., 1980). В опытах Rosenbeprer J.K. et al. (1980) показано, что применение миболерона с кормом в дозе 1,5 мкг/кг корма не вызывает снижение иммуносупрессивного воздействия вируса ИББ на организм больной птицы.

Включение в рацион птицы аскорбиновой кислоты в дозе 1 мг/кг приводит к снижению отхода птиц на 17% по сравнению с контрольно зараженной вирусом ИББ группой цыплят (Thaxton J.P. et al., 1984). Механизм влияния аскорбиновой кислоты на проявления ИББ не установлен.

Внутримышечное введение цыплятам циклоспорина - специфического супрессора Т-клеток - в дозе 100 мг/кг живой массы за три дня до и после заражения может приводить к обширным кровоизлияниям в мышцах конечностей и груди, а также высокому проценту макропоражений в фабрициевой сумке. При этом активность вируса ИББ в сумке повышается на 1-2 lg, что подтверждает участие Т-клеток в патогенезе заболевания (Roopia B., Charan S., 2001). Применение иммуностимулирующих препаратов, таких как левамизол, преднизолон, не оказывает благоприятного влияния на птиц, зараженных вирусом ИББ (Singh L.D.K., Rao A.T., 1988).

Одним из перспективных направлений в области создания новых средств профилактики ИББ является разработка препарата, включающего в себя живой вирус и вируснейтрализующую сыворотку. Такую смесь вводят в эмбрионы кур 18-суточного срока инкубации. После вывода у цыплят вырабатываются антитела на введенный иммунокомплекс, которые обеспечивают защиту 90% птиц от контрольного заражения, проведенного на 28 сутки (Whitfill C.E. et al., 1992; Jeurissen S.H., 1998). Препарат применяется не только *in ovo*, но и для цыплят суточного возраста. В иммунном комплексе доля антител ничтожно мала, и они не оказывают существенного влияния на пассивный иммунитет, но их достаточно, для того чтобы препятствовать активной репликации вакцинного штамма в организме в первую неделю жизни цыпленка. По мере снижения уровня трансвариальных антител и в результате распада антител, входящих в состав иммунного комплекса, вакцинный штамм начинает активно размножаться и стимулировать поствакцинальный иммунитет. К преимуществам данного препарата относят: возможность однократного его применения *in ovo* или суточным цыплятам

непосредственно в инкубаторе, высокая эффективность на фоне материнских антител, решение проблемы по оценке уровня материнского иммунитета для определения сроков иммунизации.

Результаты исследований многих авторов свидетельствуют, что комплекс вакцинного вируса и иммунной сыворотки является эффективным средством для специфической профилактики болезни у цыплят-бройлеров путем однократной прививки и независимо от их иммунного статуса, который в значительной степени играет отрицательную роль при обычной вакцинации (Sharma J.M. 1985, Haddad E.E. et al., 1997).

В настоящее время в промышленном птицеводстве особо остро стоит вопрос активной профилактики инфекционных заболеваний в хозяйствах, неблагополучных по нескольким инфекциям, что требует одновременной регулярной вакцинопрофилактики в отношении всех зарегистрированных болезней с последовательным применением существующих моновакцин. При составлении графика вакцинации необходимо соблюдение схем и сроков применения всех вакцин, включенных в план противоэпизоотологических мероприятий по показаниям и выбранным интервалам между прививками (для исключения возможного взаимовлияния вакцин). На сегодняшний день цыплятам до 30-40-суточного возраста (наиболее иммунологически уязвимый возраст) необходимо проводить до 10 циклов вакцинаций. Минимальный интервал между введением вакцин должен быть не менее 7 суток, а еще лучше, когда разрыв между вакцинациями составляет 14 суток и более, что обеспечивает развитие полноценного иммунного ответа.

В этой связи наиболее актуально создание поливалентных или ассоциированных вакцин для упрощения и оптимизации схемы их применения. Преимуществом указанных вакцин является сокращение числа прививок без снижения количества вводимых антигенов, а также значительное уменьшение затрат труда и минимизации стрессов при проведении вакцинации. Кроме того, при ассоциированной иммунизации у привитого поголовья формируется поствакцинальный иммунитет за короткий срок одновременно к нескольким инфекциям и не сопровождается угнетением иммунного ответа к какому-либо из антигенов. Это вполне объяснимо с точки зрения клональной теории иммунитета - для выработки иммунного ответа требуется ограниченное число Т- и В-лимфоцитов, которые, взаимодействуя между собой, формируют клон В-клеток, вырабатывающий соответствующие антитела. Организм постоянно сталкивается с огромным числом антигенов, обеспечивая (в отсутствие иммунодефицита) защиту внутренней среды. При проникновении даже одного микроорганизма организм вырабатывает десятки видов антител к каждому из белков возбудителя. При смешанных инфекциях это число возрастает многократно, так что ответ на одновременное введение нескольких вакцин не создает чрезвычайной ситуации.

В работе Чолакова Р. А. (1985) показана эффективность ассоциированной вакцинации птиц против инфекционного бронхита и ИББ, а также инфекционного бронхита, ИББ и ньюкаслской болезни, так как иммунитет у цыплят, вакцинированных отдельно против каждой инфекции и в ассоциации, был на одном и том же уровне.

Вместе с тем, по данным Cardoso W.M. et al. (2006), эффективность поливалентной вакцины против болезни Ньюкасла, инфекционного бронхита и ИББ, по сравнению с моновалентными, оказалась несколько ниже. При анализе результатов опытов установлено, что вирус ИББ при совместном введении не подавляет иммунитет птиц в отношении других антигенов, входящих в состав поливалентной вакцины. Некоторое угнетение иммуногенеза против ньюкаслской болезни оказывал вирус инфекционного бронхита, хотя снижение не было существенным и не оказывало влияния на протективную активность антигена возбудителя болезни Ньюкасла при контрольном заражении вирулентным вирусом.

Во многих зарубежных странах для специфической профилактики ИББ и болезни Марека используют одновременное введение вакцин против ИББ и болезни Марека в аллантоисную полость эмбриона на 18-й день инкубации (Knoblich H.V., 2000). У привитых цыплят к моменту контакта с полевым вирусом формируется напряженный иммунитет против обеих инфекций.

В работе Chang J.-D.T. et al. (1985) показана высокая эффективность бивалентной культуральной вакцины, созданной на основе вакцинных штаммов вирусов болезни Марека и ИББ. Выраженный защитный эффект выявлен как при иммунизации бивалентной вакциной, так и при иммунизации моновакцинами против болезни Марека и ИББ. Бивалентную вакцину рекомендуют использовать в полевых условиях, чтобы снизить затраты на иммунизацию птицы.

Эффективность бивалентной вакцины против ИББ и болезни Марека колебалась от 53,84 до 69,27%; титр нейтрализующих антител к вирусу ИББ составил 6,0-6,4 log, (Чуйко О.М., 2008).

Сложная эпизоотическая ситуация по болезни Марека и ИББ в птицеводческих хозяйствах в

большинстве случаев обусловлена циркуляцией высокопатогенных штаммов возбудителей этих инфекций. Следовательно, эффективность специфической профилактики против болезни Марека и ИББ в значительной мере зависит от уровня формирования активного иммунитета к моменту контакта птицы с полевым вирусом. Степень такого риска в неблагополучных хозяйствах достаточно высока из-за большой концентрации возбудителей данных инфекций и их устойчивости во внешней среде.

Экспериментально охарактеризована реактогенность и антигенная совместимость вакцины из штамма «КБК» и полиштамдного препарата против болезни Марека для суточных цыплят яичного и мясного направления при подкожном и внутримышечном введениях. При одновременной иммунизации против болезни Марека и ИББ реактогенность вакцин не изменяется, иммунитет не снижается, а сроки его наступления соответствуют отдельной иммунизации данными вакцинами.

Ассоциированная вакцинация против болезни Марека и ИББ индуцирует выработку антител к вирусу ИББ по результатам в РДП к 25-суточному возрасту в 100% случаев. В ИФА уровень антител был одинаков как при моновакцинации против ИББ, так и при одновременной иммунизации против ИББ и болезни Марека (среднегеометрический титр в ИФА - 2359, процент корреляции - 25-27). Количество случаев болезни Марека при патологоанатомическом вскрытии составляло от 200 до 220 на 100 тыс. птиц в течение 180 дней содержания, что на 20-35 случаев ниже, чем при вакцинации птицы только против болезни Марека.

Применение вакцины против ИББ не оказало негативного влияния на уровень напряженности иммунитета против болезни Ньюкасла. Титр антител в РЗГА к вирусу болезни Ньюкасла через 15 дней после однократной иммунизации равнялся 1:16-1:64 и только в единичных случаях - 1:8-1:128 (при интраназальной прививке). Процент группового иммунитета составлял 92-98.

Ассоциированная вакцинация суточных цыплят против болезни Марека и ИББ имеет большие перспективы и возможна при наличии пассивного иммунитета не более чем у 30% птицы. Данный способ иммунизации обеспечивает надежную защиту и против ИББ, и против болезни Марека. Он позволяет снизить затраты на вакцинацию минимум в 2 раза. Сохранность птицы в опытных группах за период наблюдения составила 96,7%, суточный прирост массы тела в течение 36 дней (до постановки птицы на ограниченное кормление) - 38-39,5 г (Алиева А.К., 2005).

Во многих штатах США практикуется вакцинация против ИББ *in ovo*, когда вакцину вводят в эмбрион на 18-е сут. инкубации. В лаборатории компании «Эмбрекс» было установлено, что и Т-лимфоциты эмбрионов цыплят на 17-20 сут. инкубации способны отвечать на белковые антигены. Иммунизация *in ovo* против ИББ не оказывала отрицательного влияния на выводимость, выживаемость, рост и развитие цыплят. При этом создаются условия для формирования иммунитета в первые дни жизни молодняка.

Прививки *in ovo* позволяют осуществлять одновременное введение различных препаратов в эмбрион с производительностью до 20 тыс. эмбрионов в час, что позволяет экономить затраты на проведение вакцинации (Coletti M. et al., 2001; Giambone J.J. et al., 2001). Введение вакцин из промежуточных штаммов *in ovo* на 18-й день инкубации в половинной дозе не снижает выводимость, жизнеспособность и обеспечивает защиту цыплят-бройлеров с материнским иммунитетом при контрольном их заражении на 21 сутки опыта. Поражение бursы наблюдается у однодневных цыплят, тогда как в 3-недельном возрасте в бурсе морфологические изменения не выявляются, что свидетельствует о регенерации бursы и кратковременности иммуносупрессии (Giambone J.J. et al., 2001).

В Болгарии апробирован метод контактной иммунизации птиц против ИББ, когда первично прививаются 1-2% птиц от общего поголовья. В дальнейшем, выделяя вирус во внешнюю среду, привитая птица контактно иммунизируют оставшееся поголовье. Такой способ иммунизации соответствует естественному пути заражения птицы. Экспериментально было доказано, что через 3-4 дня все поголовье иммунизируется вакцинным вирусом и через 2 недели уровень антител в сыворотке крови достаточно высокий, что свидетельствует о формировании иммунитета. Апробированный метод позволяет экономить вакцину, снижает затраты труда и время на проведение профилактических мероприятий (Люпке В. с соавт., 1986). На горизонтальную передачу вакцинного вируса ИББ и его способность к контактной иммунизации указывали Rampin T. et al. (1976).

Известно, что формирование напряженного и продолжительного иммунитета определяется не только свойствами используемой вакцины, но и интенсивностью иммунного ответа, развитие которого регулируется цитокинами - сигнальными полипептидными

медиаторами иммунной системы.

В работе Xu Y.L. et al. (2007) выявлена стимуляция противовирусного иммунитета у птиц при одновременном введении цыплятам вакцины против ИББ и интерлейкина-Ib. Этот цитокин активизирует пролиферацию и дифференциацию клеток, участвующих в развитии адаптивного иммунитета за счет избирательной активизации иммунного ответа на конкретный антиген. Фирма «Биотех» для повышения иммунной реактивности птиц при вакцинации против ИББ предлагает Ронколейкин, обладающий иммуностимулирующим действием, и широкое использование данного препарата при специфической профилактике инфекционных болезней птиц весьма перспективно.

Для повышения эффективности иммунизации против ИББ Громов И.Н. (2000) предлагает совместно с вакциной использовать 7%-й водный раствор тиосульфата натрия, что, по мнению автора, вызывает повышение: уровня специфического иммунитета на 20-50%, количества лейкоцитов в 2,2 раза и показателей фагоцитоза в 1,57 раза. В костном мозгу снижается число клеток эмбриобластного ряда (с 57,3 до 39,5%) и увеличивается число клеток миелобластного ряда (с 26,3 до 35,1%). То есть в органах иммунной системы птиц развиваются заметно выраженные иммуноморфологические реакции, что способствует повышению уровня специфических антител и эффективности вакцинации.

Применение иммуномодулятора «Вестин» суточным цыплятам в дозе 8 мкг/гол совместно с пробиотиком «Алифт-П» в неблагополучном по ИББ стаде позволило повысить напряженность иммунитета стада при использовании вакцины против ИББ на 50%, сохранность птицы - на 4,2% (Понюхов В.А., 2006). Стимулирующее влияние на поствакцинальный иммунитет против ИББ оказывает экстракт элеутерококка в дозе 0,5 мл/кг, введенный двумя 20-дневными курсами с интервалом 10 дней (Мифтахутдинов Н.Т., Мифтахутдинов Н.А., 2002).

Введение в корм экстракта плодов софоры японской в дозах 0,005 и 0,01 г/гол в сутки за 3 дня до и 3 дня после вакцинации против ИББ способствует повышению уровня гемоглобина и лизоцимной активности сыворотки крови, увеличению живой массы цыплят и повышению группового иммунитета на 5 и 9% соответственно (Захаров А.И., Черная В.Н., 2000).

Исследованиями Красникова Г.А. с соавт. (2000) установлено, что применение иммуностимуляторов ФИАНТ-2 и левамизола у цыплят, привитых против ИББ, снижает морфометрические проявления иммуносупрессии в фабрициевой сумке и селезенке, оказывает стимулирующее действие на органы иммунитета в поствакцинальный период. Лучший эффект стимуляции показан при двукратном применении иммуностимуляторов после вакцинации в течение 4 дней подряд с интервалом 1 день, а также при введении иммуностимуляторов с кормом двумя циклами с интервалом 7 дней. Иммунизация 9-суточных цыплят против ИББ эмбриональной вакциной из штамма «КМИЭВ-13» совместно с нуклевитом (содержащим РНК дрожжей и витамин С) способствует: повышению количества лейкоцитов и тромбоцитов, увеличению абсолютного и относительного содержания Т- и В-лимфоцитов, насыщенных РНК, активизации фагоцитарной активности псевдоэозинофилов; увеличению живой массы тела птиц (Большаков С.А. с соавт., 2009).

Включение в рацион птицы 2% L-аргинина и витамина Е (80 мг/кг) способствует повышению иммунного ответа у бройлеров, вакцинированных против ИББ (Ruiz-Feria С.А., Abdakalykova S.T., 2009).

По данным Осадченко А.А. (2007), однократная вакцинация 13-суточных цыплят против ИББ с тимогеном в дозе 1,0 или 0,01 мкг/гол индуцирует высокий уровень специфических антител (1:9079 и 1:8485) и по эффективности не уступает двукратной прививке вакциной из штамма «БГ» (1:5674). Это позволило снизить число прививок в хозяйстве против ИББ с двух до одной. К сожалению, автор не дает объяснение механизма высокой эффективности использования тималина при вакцинации.

Для коррекции иммунодефицита, индуцированного вирусом ИББ, и усиления иммунного ответа на вакцину против ньюкаслской болезни предлагают внутримышечно вводить трехкратно по 0,5 мг В-активина. Последний оказывает иммуностимулирующее действие и обеспечивает формирование иммунитета против ньюкаслской болезни на уровне интактных цыплят (Новиков Б.В., Дмитренко В.В., 1992). Доказана возможность стимуляции поствакцинального иммунитета у цыплят против болезни Гамборо путем применения препарата, приготовленного из экстракта печени крупного рогатого скота (Zhang H. et al., 1995).

Об иммуностимулирующем эффекте пробиотика при вакцинации цыплят против ИББ сообщает Tirziu E. et al. (2003). Включение в рацион аскорбиновой кислоты в дозе 1 мкг/кг корма повышает титр антител у цыплят, вакцинированных против ИББ, увеличивает сохранность и

привесы (Amakye-Anim J. et al., 2000). По мнению автора, введение аскорбиновой кислоты в корм существенно повышает эффективность вакцинации в полевых условиях.

Применение спорового пробиотика за период выращивания птицы до 110-суточного возраста повышает напряженность иммунитета на 11,2-25,2% у цыплят, привитых против ИББ, и способствует повышению абсолютного прироста живой массы их на 4,9-11,1%.

Биогенный препарат дается с кормом один раз в сутки в дозе 0,1 мл/гол 10-дневными курсами с 20-суточным интервалом (Петрянкина Ф.П. с соавт., 2005).

Пробиотик PrimaLac, в состав которого входят *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Enterococcus faecium* и *Bifidobacterium bifidiuni*, значительно повышает живую массу бройлеров и снижает расход корма на единицу привесов. Этот пробиотик не вызывает существенного повышения титров антител к вирусу ИББ (Talebi A. et al., 2008).

В настоящее время на основе структурного белка VP2 вируса ИББ созданы рекомбинантные и субъединичные вакцины с использованием различных векторов. Рекомбинантные вирусные вакцины на основе полипептида VP2 вируса ИББ не подвержены влиянию материнских антител. Исследования подтвердили, что очищенный препарат VP2 можно использовать как субъединичную вакцину (PitcovskiJ. et al., 1996). Предполагается возможность искусственного синтеза иммуногенного белка на основе расшифрованных пептидных карт. С другой стороны, возможно введение векторов из различных участков генома вируса в бактериальные или дрожжевые клетки для использования их в качестве вакцинных (Hudson P.J. et al., 1986). Полученные результаты свидетельствовали о достаточных протективных свойствах опытных образцов вакцин, но коммерческие препараты на их основе для применения в практическом птицеводстве пока не созданы.

Использование обратных генетических систем для получения аттенуированных вакцин (Mundt E. и Vakharia V.N., 1996) не снимает проблему влияния пассивного иммунитета. Поэтому использование в качестве векторов при создании рекомбинантных вирусных вакцин, экспрессирующих VP2-белок вируса ИББ, таких вирусов, как вирус оспы птиц (Heine H.G. и Boyle D.B., 1993), герпесвирус индеек (HVT) (Tsukamoto K. et al., 1999), аденовирус птиц (Sheppard M. et al., 1998), может оказаться очень эффективным для стимуляции первичного иммунного ответа. По мнению многих специалистов, рекомбинантные вакцины менее подвержены нейтрализации пассивными антителами. С этой точки зрения, ДНК-вакцины также можно принимать во внимание, однако высокая стоимость, индивидуальная вариабельность в ответе и общий низкий уровень иммунного ответа могут ограничить использование этих вакцин для промышленного птицеводства (Fodor I. et al., 1999).

Сконструированы ДНК-вакцины на основе плазмиды pcDNA-VP, экспрессирующей только белок VP2, и плазмиды pcDNA-VP243, экспрессирующей белки VP2, VP4 и VP3 высоковирулентного штамма «Korean SH/92» вируса ИББ. Эффективность полученных вакцин испытана на 2-недельных цыплятах, которым дважды с интервалом в 2 недели инокулировали внутримышечно или интраперитонеально pcDNA-VP2 и pcDNA-VP243. Контрольное заражение птиц, проведенное через 2 недели после 2-й иммунизации, показали, что специфичные антитела против вируса ИББ в ELISA после ДНК-вакцинации не выявлялись до и после введения патогенного вируса. Однако иммунизированные цыплята были устойчивы и имели слабые признаки атрофии фабрициевой сумки в сравнении с не-иммунизированными. Сохранность в группах, вакцинированных pcDNA-VP243 и pcDNA-VP2, составила 70 и 50% соответственно, против 10% в контрольной группе (Kim S.J. et al., 2004). Векторная вакцина против ИББ (vHVT13), в которой вирус герпеса индеек (HVT) используется в качестве вектора, показала высокую эффективность при введении *in ovo* или подкожно однодневным цыплятам в период, когда уровень материнских антител максимальный. С точки зрения безопасности, vHVT13 вакцина оказывает незначительное влияние на фабрициеву сумку по сравнению с классическими вакцинами против ИББ.