

VIŠTŲ VAKCINACIJOS NUO INFEKČINIO BURSITO VIRUSO EFEKTYVUMO SEROLOGINĖ STEBĖSENA

Ilona Aleksėjūnienė, Almontas Aleksėjūnas, Violeta Mockeliūnienė, Julija Šilkūnaitė

LVA Veterinarijos institutas, Instituto g. 2, LT-56128 Kaišiadorys; tel. (8-346) 60 689; el. paštas: IlonaAl@one.lt

Santrauka. Keturi broilerių tėviniai pulkai stebėti nuo 1 dienos iki 60 amžiaus savaičių, imunofermentinės analizės metodu nustatant antikūnus prieš infekcinio bursito virusą. Pirmosios ir antrosios grupių kraujo serume nustatyti labai aukšti (ne žemesnės kaip 7 grupės) antikūnų titrai – vidutiniškai nuo 7 308 iki 9 478. Variacijos koeficientas svyravo nuo 17,3% iki 36,9%. Trečios ir ketvirtos vištų grupių kraujo serume antikūnų titrai buvo nuo 2 350 iki 4 877, variacijos koeficientas – nuo 15,8% iki 34,8%. Tirti paukščiai, nepriklausomai nuo amžiaus, išlaikė tolygų antikūnų titrą visą tyrimo laikotarpį, ir vertikali transmisija išliko pakankamo lygio.

Raktažodžiai: infekcinis bursitas, serumas, antikūnai, imunitetas.

SEROLOGICAL MONITORING OF THE EFFICACY OF CHICKEN VACCINATION AGAINST INFECTIOUS BURSAL DISEASE VIRUS

Summary. To determine antibodies to the infectious bursal disease virus in Lithuania the four broiler breeder flocks were observed from the 1st day of age to the 60th week. The infectious bursal disease virus was determined by ELISA. High levels of antibody titres (higher than 7 group titre) were established in the blood sera of 1st and 2nd broiler breeder flocks with average of titres from 7 308 to 9 478. The coefficient of variation ranged from 17.3% to 36.9%. The antibody titres in 3rd and 4th groups blood sera were from 2 350 to 4 877, and the coefficient of variation ranged from 15.8% to 34.8%, respectively. The investigated poultry, irrespective of age, have shown a permanent antibody titre for the all research periods. In addition, the vertical transmission remained significant.

Keywords: infectious bursal disease, blood sera, antibody, immunity.

Įvadas. Infekcinis susirgimas, pasireiškiaš Fabricijaus maišelio, inkstų bei kitų organų pažeidimais, pirmą kartą kaip nežinomos etiologijos kontagioziška viščiukų liga užregistruotas 1957 metais Gamboro vietovėje, Delavaro valstijoje, JAV. Apie specifinį ligos sukėlėją pirmą kartą 1962 metais pranešė A. S. Cosgrove. Ligą jis pavadino paukščių infekcine nefroze (Cosgrove, 1962). Kiek vėliau ši susirgimą imta vadinti Gamboro liga, arba infekciniu bursitu (Hitchner, 1970). Infekcinis bursitas (IB) – imunosupresinis susirgimas, kuriuo dažniausiai serga jauni naminiai paukščiai (Sharma et al., 2000). Jį sukelia RNR turintis, *Birnaviridae* šeimos, *Aviřirmavirus* genčiai priklausantis virusas (Manual of standards, 2000). Patekęs į organizmą, infekcinio bursito virusas (IBV) lokalizuojasi Fabricijaus maišelyje, replikuojasi ir suardo antikūnus gaminančias pirmines ląsteles (Vervelde, Davison, 1997). IBV jautrūs visų veislių nuo 2 iki 15 savaičių viščiukai (*Gallus gallus*), o jautriausi – 3–6 savaičių, kai sparčiausiai vystosi Fabricijaus maišelis. Nustatyta, kad dėslųjų veislių vištos yra jautresnės nei mėsinų (Hassan et al., 1996; Van den Berg et al., 1991). K. Tsukamoto su kitais tyrėjais (1995) nustatė, kad viščiukų motininių antikūnų lygis priklauso nuo veislinių vištų amžiaus, vakcinacijų skaičiaus ir vakcinų tipo. Vakcinuojant komercinius vištų pulkus labai svarbu, kad vakcinos gebėtų indukuoti pakankamą antikūnų susidarymą (Fussell, 1998). Šiuo metu pripažinta, kad labiausiai patikimas būdas išvengti IB yra kompleksinis gyvų ir inaktyvuotų vakcinų naudojimas (Lukert, Sait, 1997; Fussell, 1998). M. Guittet su kitais mokslininkais (1992) apibrėžė, kokia turi būti ideali vakcina. Pirmiausia ji privalo būti saugi, indukuoti pilnavertį imuninį atsaką, turėti minimalų supresinį poveikį ir galiausiai – netapti virulentiška.

Didžiausią įtaką saugant viščiukus nuo IB daro moti-

ninio imuniteto trukmė ir tinkamos vakcinos. Jeigu viščiukai vakcinuojami gyva vakcina esant aukštam motininių antikūnų lygiui, tai pastarieji trukdo vakcininės padermės reprodukcijai ir imuniteto susidarymui. Tačiau jei vakcinuojama per vėlai, patogeninis lauko virusas pažeidžia viščiukus, jau nebeturinčius arba turinčius žemą motininių antikūnų lygį. Taigi labai svarbu nustatyti optimalią imunizacijos datą, kad nepasireikštų motininių antikūnų poveikis – neutralizuoti vakcinoje esančius antigenus ir būtų gautas norimas vakcinacijos efektas (Al-Natour et al., 2004).

Darbo tikslas – remiantis povakcininio imuninio atsako stebėsenos rezultatais įvertinti vištų vakcinavimo nuo IBV programą.

Medžiagos ir metodai. Moksliniai tyrimai atlikti laikantis 1997 11 06 Lietuvos Respublikos gyvūnų globos, laikymo ir naudojimo įstatymo Nr. 8-500 („Valstybės žinios“, 1997 11 28, Nr. 108) bei poįstatyminių aktų – LR valstybinės veterinarinės tarnybos įsakymų „Dėl laboratorinių gyvūnų veisimo, dauginimo, priežiūros ir transportavimo veterinarijų reikalavimų“ (1998 12 31, Nr. 4-361) ir „Dėl laboratorinių gyvūnų naudojimo moksliniams bandymams“ (1999 01 18, Nr. 4-16).

Ištirta po 20 kraujo serumo mėginių iš keturių broilerių tėvinių pulkų. Kraujas buvo imtas iš 1 dienos, 18, 24, 30, 40, 50 ir 60 savaičių amžiaus paukščių. I ir II grupių paukščiai 12 dieną vakcinuoti gyva vakcina „Bursel MB“ ir 18 savaitę revakcinuoti inaktyvuota vakcina. III ir IV grupių keturių savaičių paukščiai vakcinuoti gyva vakcina „D78“, o 18 savaitę – inaktyvuota vakcina.

Paukščių kraujo serumas buvo tiriamas imunofermentinės analizės (IFA) metodu. Tyrimui naudojome IDEXX firmos (IDEXX Laboratories, Inc.,

Westbrook, ME) komercinį diagnostikumą antikūnams nuo IBV paukščių kraujo serume nustatyti. Netiesioginę IFA reakciją atlikome pagal gamintojų nurodytą metodiką. Tiriamas kraujo serumas buvo skiedžiamas 500 kartų. Antikūnų buvimą ar nebuvimą vertinome spektrofotometru (SLT Spektra, bangos ilgis 650 nm) pagal tiriamo serumo ir teigiamos kontrolės santykį

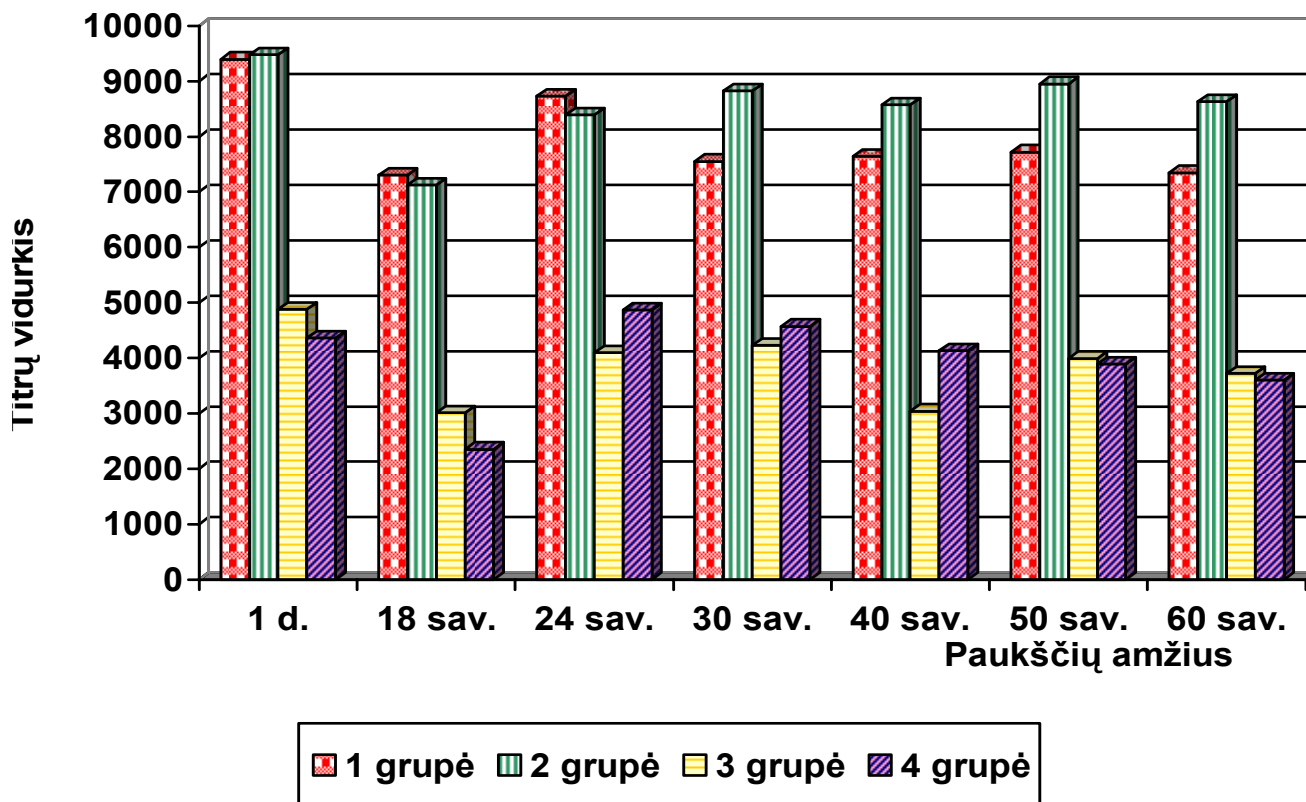
(S/TK). Jeigu (S/TK) santykis mažesnis arba lygus 0,2, mėginiai buvo laikomi neigiamais. Jei (S/TK) buvo didesnis už 0,2 arba titras didesnis negu 1:396, mėginys buvo teigiamas ir rodė povakcinius antikūnus. Antikūnai, priklausomai nuo jų koncentracijos, suskirstyti į titrų grupes. Titrų grupės, atitinkančios serumo skiedimus, parodytos 1 lentelėje.

1 lentelė. Titrų grupės, atitinkančios serumo skiedimus

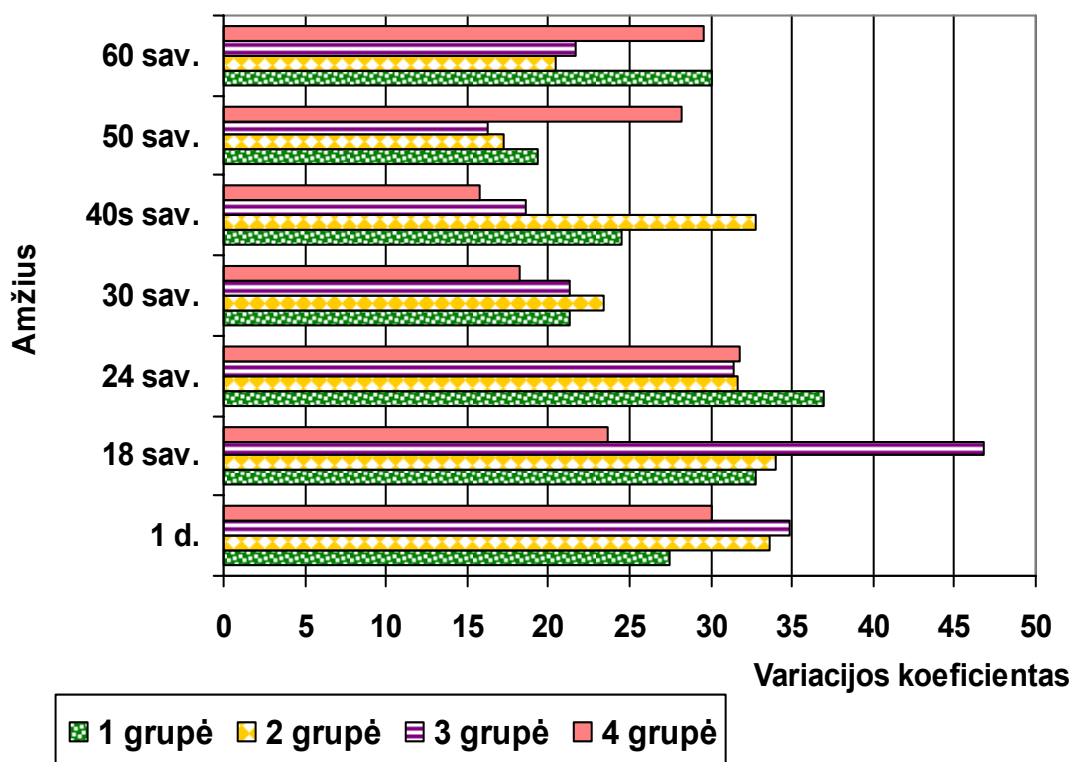
Titro grupė	Serumo skiedimas	Titro grupė	Serumo skiedimas
0	1:396	10	1:12000 – 1:13999
1	1:397 – 1:999	11	1:14000 – 1:15999
2	1:1000 – 1:1999	12	1:16000 – 1:17999
3	1:2000 – 1:2999	13	1:18000 – 1:19999
4	1:3000 – 1:3999	14	1:20000 – 1:21999
5	1:4000 – 1:4999	15	1:22000 – 1:23999
6	1:5000 – 1:5999	16	1:24000 – 1:27999
7	1:6000 – 1:7999	17	1:28000 – 1:31999
8	1:8000 – 1:9999	18	>1:32000
9	1:10000 – 1:11999		

Tyrimų rezultatai. Kraują ėmėme iš vienadienių viščiukų ir 18, 24, 30, 40, 50, 60 stebėsenos savaitę. Pagal pulkus kraujo serumas buvo suskirstytas į keturias grupes. Nustatėme antikūnų prieš IBV titrus bei variacijos koeficientus (VK%). Motininės kilmės ir povakcininio imuninio atsako tyrimų rezultatai parodyti 1 pav. Viso tyrimo laikotarpiu I ir II grupių kraujo serume nustatyti labai aukšti (ne žemesni kaip 7 grupės) antikūnų titrai.

Vidutiniškai jie buvo nuo 7 308 iki 9 478. III ir IV grupių kraujo serume antikūnų titrai buvo nuo 2 350 iki 4 877. Taip pat nustatyti variacijos koeficientai. Kaip matome iš 2 pav., beveik visą stebėsenos laikotarpį variacijos koeficientas neviršijo 35%. Tik 18-tą savaitę III grupės VK buvo 46,8%, o 24-tą tyrimo savaitę I grupės VK buvo 36,9%.



1 pav. Antikūnų prieš IBV dinamika



2 pav. Variacijos koeficientų dinamika

Rezultatų aptarimas. IB profilaktikai labai svarbu kraujo serume nustatyti antikūnus. Nustatę juos galime spręsti apie esančią subklinikinę lauko infekciją, patikrinti paukščių atsaką į vakcinacijas, numatyti tikslų vakcinavimo laiką (de Wit, 1998). Infekciniu bursitu dažniausiai serga jauni, vidutiniškai iki 5 amžiaus savaičių paukščiai. Norint užkirsti kelią šiai ligai, svarbiausia pirmomis amžiaus savaitėmis apsaugoti viščiukus nuo IBV, t. y. iš tėvų palikuonys turi paveldėti aukštus motininius antikūnus. Kaip teigia M. Q. Al-Natour ir kiti mokslininkai (2004), neturintys motininių antikūnų viščiukai IB virusui jautrūs nuo pirmos amžiaus dienos. Paveldėję vidutinio lygio antikūnus, viščiukai apsaugomi 1–2 savaites, o turintys aukštus motininius antikūnus, atsparūs išlieka 4 savaites ir ilgiau. Nepriklausomai nuo amžiaus, jei tėviniai paukščiai išlaiko tolygų antikūnų titrą, vertikali transmisija išlieka reikiamame lygyje.

Dar viena labai svarbi optimalios vakcinacijos sąlyga – „imuninį“ langą sumažinti iki minimumo. Nustatyta, kad motininiai antikūnai pirmašias keturias dienas išlieka pastovūs, nes pasisavinami iš trynio maišelio. Vėliau pradeda mažėti (Rodriguez-Chavez et al., 2002). Siekiant išvengti „imuninio“ lango, naudojamos vakcinos, kurios geba įveikti aukštesnius motininius antikūnus. Atskiruose paukštynuose ir paukštėdėse naudojamos skirtingos vakcinos ir skirtingos vakcinavimo programos, kurias veterinarijos gydytojai sudaro atsižvelgdami į daugelį faktorių: serologinių tyrimų duomenis, viščiukų imuninį foną, lauko padermių virulentiškumą, užsikrėtimo didelio virulentiškumo IBV padermėmis rizikos laipsnį, ūkio sveikatingumo būklę, biosaugos lygį ir kt. (Tsukamoto et al., 1995).

Kaip matome iš mūsų tyrimo rezultatų, I ir II grupių vienadieniai viščiukai paveldėjo labai aukštus motininius

antikūnus, atitinkamai 9 397 ir 9 478. Visą stebėjimo laikotarpį antikūnų lygis kito labai nežymiai ir išliko pakankamai aukštas (7–8 titrų grupės). Tą sąlygojo vakcinavimo metu naudota gyva, „karšto“ tipo vakcina ir revakcinacija inaktyvuota vakcina. Antikūnų titrai buvo pakankamai tolygūs. Tą parodė žemas VK, kuris viso stebėjimo metu svyravo nuo 17,3% iki 36,9%. Taigi galime teigti, kad šios tėvinės vištaitės su amžiumi netapo „imunodeficientiškomis“, jų palikuonims buvo perduoti pakankamai aukšti ir tolygūs motininės kilmės antikūnai. Tačiau „karšto“ tipo vakcinos turi ir neigiamų savybių: pasižymi imunosupresiniu poveikiu, kartais netgi iki totalinės Fabricijaus maišelio atrofijos, pagausėja antrinių infekcijų, tokių kaip kolibakteriozė, mikoplazmozė, padidėja jautrumas tokiems infekciniams susirgimams kaip infekcinis bronchitas, Mareko liga, infekcinis laringotracheitas ir kt. Taigi ilgesnį laiką tokių vakcinų naudoti nerekomenduojama.

Merilendo universiteto (JAV) mokslininkai, norėdami sumažinti imunosupresinį vakcinų poveikį, netgi visiškai arektogenines vakcinines padermes kardinaliai tikrina genetiškai. Jie iš pakankamai stipriai atenuotos vakcininės padermės D-78 pašalino nestruktūrinį baltymą koduojantį NS geną, selekcionavo klonus su pakankamu imunogeniškumu viščiukams, tačiau be jokių povakcininės imunosupresijos požymių (Kun et al., 1998).

III ir IV grupių vienadieniams viščiukams, kurie buvo vakcinuoti vidutinio karštumo vakcina, nustatyti vidutinio lygio antikūnai (4 877 ir 4 364). Tyrimo metu jų lygis kito nežymiai ir išliko 3–5 titrų grupėje. Visą stebėsenos laikotarpį VK buvo pakankamai žemas (nuo 15,8% iki 34,8%), išskyrus 18-tą tyrimo savaitę, kai III paukščių grupėje jis siekė 46,8%. Vadinasi, paukščiai buvo vakcinuoti sėkmingai, išlaikė tolygius antikūnų

titrus visą stebėsenos laikotarpį ir bus užtikrintas pakankamo transovarinio imuniteto susidarymas.

Išvados. Apibendrinami tyrimų duomenis galime daryti išvadą: nors tirti paukščiai buvo vakcinuoti pagal skirtingas vakcinavimo programas ir skirtingomis vakcinomis, tėvinės vištaitės, nepriklausomai nuo amžiaus, išlaikė tolygų antikūnų titrą ir vertikali transmisija išliko pakankamo lygio.

Literatūra

1. Al-Natour M. Q., Ward L. A., Saif Y. M., Stewart-Brown B., Keck L. D. Effect of different levels of maternally derived antibodies on protection against infectious bursal disease virus. *Avian Diseases*. 2004. Vol. 48. P. 177–182.
2. Cosgrove A. S. An apparently new disease of chickens – avian nephrosis. *Avian diseases*. 1962. Vol. 6. P. 385–389.
3. De Wit J. J. Gumboro disease: estimation of optimal time of vaccination by the Deventer formula. *Polish Veterinary Journal*. 1998. Vol. 3. P. 19–22.
4. Fussell L. M. Poultry industry strategies for control immunosuppressive disease. *Poultry Science*. 1998. Vol. 77. P. 1193–1196.
5. Guittet M., LeCoq H., Picault J. P., Etteradossi N., Bennejean G. Safety of infectious bursal disease vaccines: assessment of an acceptability threshold. *Developments in biological standardization*. 1992. Vol. 79. P. 147–152.
6. Hassan M. K., Al-Natour M. Q., Ward L. A., Saif Y. M. Pathogenicity, attenuation and immunogenicity of infectious bursal disease virus. *Avian Diseases*. 1996. V. 40. P. 567–571.
7. Hitchner S. B. Infectivity of infectious bursal disease virus for embryonating eggs. *Poultry Science*. 1970. Vol. 49. P. 511–516.
8. Kun Y., Goodwin M. A., Vakharia V. N. Generation of a mutant infectious bursal disease virus that dose not cause Bursal lesions. *Journal of Virology*. 1998. Vol. 72. P. 2647–2654.
9. Lietuvos Respublikos gyvūnų globos, laikymo ir naudojimo įstatymas. *Valstybės žinios*. 1997. Nr. 108.
10. Lukert P. D., Saif Y.M. Infectious bursal disease. *Diseases of Poultry*. 10th ed. Calnek H.J. et al., Iowa State University Press, Ames, IA, 1997. P. 721–738.
11. *Manual of standards for diagnostic tests and vaccines*. Office International des Epizooties, World Organisation for Animal Health, Paris. 2000. P. 649–655.
12. Rodriguez-Chavez I. R., Rosenberger J. K., Cloud S. S. Characterization of the antigenic, immunogenic, and pathogenic variation of infectious bursal disease virus due to propagation in different host systems (bursa, embryo, and cell culture). I. Antigenicity and immunogenicity. *Avian Pathology*. 2002. Vol. 31. P. 463–471.
13. Sharma J. M., Kim I. J., Rautenschlein S., Yeh H. J. Infectious bursal disease virus of chickens: pathogenesis and immunosuppression. *Development and comparative immunology*. 2000. Vol. 24. P. 223–235.
14. Tsukamoto K., Tanimura N., Kakita S. et. al. Efficacy of three live vaccines against highly virulent infectious bursal disease virus in chickens with or without maternal antibodies. *Avian Diseases*. 1995. Vol. 39. P. 218–247.
15. Van den Berg, Thiery P., Meulemans G. Acute infectious bursal disease in poultry: protection afforded by maternally derived antibodies and interference with live vaccination. *Avian Pathology*. 1991. Vol. 20. P. 409–421.
16. Vervelde L., Davison T. F. Comparison of the *in situ* changes in lymphoid cells during infection with infectious bursal disease virus in chickens of different ages. *Avian Pathology*. 1997. Vol. 26. P. 803–821.