

Infektivni burzitis pilića (Gumboro bolest)

Maja Velhner^{*}

Naučni institut za veterinarstvo „Novi Sad”, Novi Sad, Rumenački put 20

Kratak sadržaj

Infektivni burzitis (IBDV) je oboljenje rasprostranjeno u mnogim zemljama sa industrijskim živinarstvom. Uzročnik je RNA virus svrstan u familiju Birnaviridae. Postoje dva serotipa IBD virusa (IBDV). Serotip 1 virusi su poreklom od pilića, a serotip 2 virusi su izolovani iz ćuraka. Virusi serotip 1 grupe se dalje mogu podeliti na klasične, varijantne i vrlo virulentne sojeve. Sve mlade kategorije pilića su prijemčive na infekciju. Obbolele ptice su, zahvaljujući imunosupresiji, osetljive na sekundarne bakterijske infekcije što izaziva dodatne ekonomske štete. Virus se umnožava u burzi Fabricius, gde uzrokuje depleciju limfocita (svi sojevi) i inflamatorni proces (klasični i vrlo virulentni sojevi). Četiri dana od infekcije burze atrofiraju posle čega sledi regeneracija tkiva. Oštećenja se patohistološkim pregledom mogu ustanoviti i na slezini, timusu i koštanoj srži a intenzitet promena na ovim organima zavisi od soja virusa kojim su ptice inficirane. Inflamatorni proces u burzi prati influks CD3+ limfocita koji imaju ulogu u eliminaciji virusa u tkivu kao i u procesu regeneracije organa. Oboljenje se može staviti pod kontrolu putem vakcinacije. Roditeljska jata se zato vakcinišu inaktivisanim vakcinama što obezbeđuje prenošenje nasleđenih antitela na potomstvo. Mladi pilići su na ovaj način zaštićeni u prvim danima života, a žive vakcine treba da obezbede imunitet kasnije u toku odgoja. Žive vakcine se dele na blage, intermedijerne i vruće. Jače vakcine lakše mogu da savladaju inhibitorni efekat nasleđenih antitela i preporučuju se u nepovoljnoj epizootiološkoj situaciji. Ove vakcine mogu uzrokovati oštećenja na burzama što je praćeno brзом regeneracijom tkiva. Poznavanje antigene strukture virusa je omogućilo da se genetičkim inženjeringom dizajniraju vakcine koji će najverovatnije naći primenu u industrijskom živinarstvu u budućnosti.

Ključne reči: pilići, infektivna oboljenja burze, patologija, vakcine, imunološki odgovor

^{*} e-mail: maja@niv.ns.ac.yu

Infectious bursal disease (Gumboro disease)

Maja Velhner*

Scientific Veterinary Institute „Novi Sad”, Novi Sad, Rumenački put 20

Abstract

Infectious bursal disease (IBD) is widespread in many countries with intensive poultry industry. The causative agent is an RNA virus that belongs to *Birnaviridae* family. Two serotypes of IBDV exist. Serotype 1 strains originate from chickens, while serotypes 2 viruses are isolated from turkeys. Serotype 1 strains are further divided as classical, variant and very virulent. All the categories of young chickens are prone to the disease. Due to resultant immunosuppression the birds are exposed to secondary bacterial and viral infection that causes additional economic losses. The virus multiplies in the bursa of Fabricius inducing lymphocyte depletion (all strains) and inflammation (classical and very virulent strains). Approximately four days post infection, atrophy of bursa occurs followed by recovery process. Spleen, thymus and bone marrow are also damaged and the intensity of damage depends on the virus involved. Damages of these organs could be detected by pathohistological examination. The inflammatory response in bursa coincides with strong influx of CD3+ cells that take part in virus clearance and recovery. The disease can be controlled by the application of vaccination. Parent flocks are vaccinated with oil emulsion vaccines providing transfer of maternally derived antibodies to the progeny. In this way chickens are protected at an early age, while live vaccines provide protection during rearing. Live vaccines are classified as mild, intermediate and “hot”. Stronger vaccines can overcome high levels of maternal antibodies more efficiently and are recommended in questionable field situation. Such vaccines may cause destruction of the bursa followed by a quick and full recovery. The knowledge about the antigenic structure of the virus leads to the production of genetically engineered vaccines that could be used in the future.

Key words: chicken, infective bursal diseases, bursa, pathology, vaccine, immunology response

UVOD

Prvu pojavu infektivnog burzitisa u jatima brojlera pilića u mestu Gumboro, država Delaware, USA opisao je Cosgrove 1962. godine. Promene na parenhimatозnim organima su uočene na bubrezima i burzi Fabricius te je oboljenje nazvano

nefritis nephrosis sindrom. Za kratko se bolest pojavila i u drugim delovima sveta i od tada do danas je neprekidno prisutna u industrijskom živinarstvu kao i u ekstenzivnom načinu uzgoja pilića. Infektivni burzitis uzrokuje virus koji se teško eliminiše iz kontaminisanih farmi. Zahvaljujući tome strogi režim sanitacije objekata i pažljivo planiran program imunoprofilakse su i danas jedine efikasne mere kontrole ove bolesti.

Zbog imunosupresivnog efekta virusa, inficirani pilići su skloni sekundarnim bakterijskim infekcijama što ima negativan uticaj na proizvodne rezultate. U inficiranim jatima takođe je primećen slab imunološki odgovor na vakcinaciju protiv Newcastle oboljenja. Na IBDV su prijemčive sve kategorije mladih pilića. U vreme prvih pojava oboljenja morbiditet u jatima lakih hibrida mogao je dostići i 90% a mortalitet je iznosio 20%, dok je u brojerskim jatima morbiditet bio 50% a mortalitet oko 3% (Lasher i Shane, 1994). Vrlo brzo su se na tržištu pojavile vakcine od atenuisanih sojeva virusa i smatralo se da će ovaj zdravstveni problem biti rešen primenom mera imunoprofilakse. Umesto toga virus je evoluirao u dve nove patogene forme. U USA su dokazani varijantni sojevi na farmama a u Evropi i Aziji pojavili su se vrlo virulentni virusi (Chettle i sar., 1989; Van den Berg i Muelemans, 1991a; Nunoya i sar., 1992; Gagić i sar., 1993). Vakcine sačinjene od klasičnih serotipova nisu u potpunosti štatile piliće od varijantnih sojeva (Giambrone i Closser, 1990) i takođe nisu mogle obezbediti potpunu zaštitu od vrlo virulentnih virusa (van den Berg i sar., 1991b). Varijantni sojevi uzrokuju asimptomatski burzitis praćen vrlo jakim imunsupresijom, dok vrlo virulentni virusi izazivaju vrlo visok mortalitet.

Postoje dva serotipa virusa IBD. U serotip 1 grupu spadaju virusi koji su izolovani na pilićima a u serotip 2 grupu spadaju virusi izolovani na ćuricama. Virus iz serotipske grupe 2 nisu patogeni za piliće (Ismail i sar., 1988) i ne mogu obezbediti zaštitu od IBDV koji pripada serotipu 1 (Jackwood i sar., 1985). U serotip 1 grupu spadaju klasični, varijanti i vrlo virulentni virusi.

VIRUS

IBD virus je svrstan u familiju Birnaviridae genus *Birnavirus* (Dobos i sar., 1979). Virus je bez omotača a kapsid je icosahedralne simetrije. Genom čini dvostruki bisegmentirani lanac RNK. Veći segment A kodira poliprotein 110 kDa koji se autoproteolitički deli formirajući virusne proteine VP2, VP3 i VP4 (Hudson i sar., 1986). Poliprotein preklapa još jedan manji okvir za čitanje (Spies i sar., 1989) koji kodira gen za sintezu VP5 (Mundt i sar., 1995). Mutant bez VP5 konstruisan primenom reverzne genetike ne uzrokuje patološke lezije na burzi inficiranih pilića, izoluje se iz burze i indukuje humoralni imunološki odgovor (Yao i sar., 1998). Segment B kodira VP1 od 97 kDa koji ima funkciju virusne polimeraze (Kibenge i sar., 1988) i enzimsku *capping* aktivnost (Spies i Müller, 1990). VP2 je glavni strukturni protein virusa. Na ovom proteinu su između amino kiselina 206 i 350 ustanovljeni konformacioni antigeni epitopi (Azad i sar., 1987). Veći deo amino kiselinskih varijacija unutar sojeva IBDV je ustanovljen između dva hidrofilna regiona na

pozicijama 212 do 224 i od 314 do 324 (Bayliss i sar., 1990). Drugi strukurni protein je označen VP3, dok VP4 ima aktivnost virusne proteaze. Na 5'3' kodirajućem kraju segmenta A i B se nalazi region koji ima ulogu u replikaciji virusa i virulenciji. Mundt i Muller (1995) su opisali na 5' kraju sekvencu za vezivanje 18S RNA a u oba segmenta su nađene strukture petlje (*hairpin loop*) takođe odgovorne za replikaciju i virulenciju virusa.

ULOGA MUTACIJA U HIPERVARIJABILNOM REGIONU NA PATOGENI POTENCIJAL VIRUSA

Značaj nekih amino kiselina u ispoljavanju virulencije virusa i/ili atenuacije je utvrđen ili primenom metode višestrukih pasaža virusa preko embrioniranih jaja ili ćelijske kulture ili metodom reverzne genetike. Virulentni virusi IBD ne uzgajaju se lako na ćelijskoj kulturi embrionalnih fibroblasta i adaptacija virusa na kulturu tkiva obično vodi do atenuiranja virusa (Yamaguchi i sar., 1996; Wang i sar., 2003). Ovim laboratorijskim postupkom je ustanovljeno da su amino kiselinske promene aspartatne kiseline u asparagin na poziciji 279 i alanina u treonin na poziciji 284 odgovorni za uspostavljanje ćelijskog tropizma. Metodom reverzne genetike Mundt (1999) je ustanovio da je jedna jedina mutacija, i to alanina u treonin na poziciji 284, dovoljna za adaptiranje virusa na kulturu tkiva kao i za atenuaciju. Van Loon i sar. (2002) su metodom reverzne genetike izazvali dve tačkaste mutacije na VP2 i dobili od patogenog atenuirani virus koji je mogao da se uzgaja na pilećim fibroblastima. Autori su zaključili da su dve mutacije na poziciji 284 (alanin u treonin) i na poziciji 253 (glutamin u histidin) ključne za atenuaciju. Analiza virusne sekvence hipervarijabilnog regiona VP2 i sekvence VP1 je omogućila filogenetska istraživanja IBDV na osnovu koje je dodatno ustanovljeno da se ovi virusi mogu klasifikovati u dve serološke grupe (1 i 2), da se unutar serološke grupe nalaze klasični, varijantni i vrlo virulentni sojevi (Yamaguchi i sar., 1997), kao i da IBDV izolovani u Australiji iako genetski srodni IBD virusima u USA ipak pripadaju posebnoj grupi (Sapats i Ignjatović, 2000).

INKUBACIJA, KLINIČKI SIMPTOMI OBOLJENJA I PATOLOŠKE PROMENE

Za sve viruse unutar serološke grupe 1, inkubacija je kratka i traje 2 do 3 dana. Ciljni organ za replikaciju virusa je burza Fabricius gde se prve lezije histološkim pregledom mogu naći već posle 24 sata od infekcije. Obolele ptice su depresivne, nakostrešenog perja, anoreksične, imaju vodenast proliv bele boje, podrhtavaju i na kraju uginjavaju. Visina mortaliteta se razlikuje za viruse koji pripadaju klasičnim i vrlo virulentnim sojevima. Infekcija SPF pilića (*specific pathogen free* – slobodnih od specifičnih patogenih uzročnika) klasičnim sojevima uzrokuje mortalitet oko 20% dok posle infekcije visoko virulentnim virusima uginjava 100% eksperimentalno inficiranih pilića. Klasični i vrlo virulentni virusi izazivaju iste patološke promene. Na muskulaturi bataka i belog mesa mogu se videti krvarenja, bubrezi su povećani i

bledi, a tubuli su puni urata. Burza Fabricius je povećana, u želatinoznom edemu a na plikama se vide sitna krvarenja. Posle početnog uvećanja burze nastaje atrofija reverzibilnog karaktera. Prema istraživanjima Winterfielda i sar. (1972) burza nikada ne dostiže fiziološku veličinu posle infekcije patogenim virusima.

HISTOLOŠKE LEZIJE

Karakteristične histološke lezije se nalaze na burzi inficiranih pilića. Klasični i vrlo virulentni sojevi izazivaju inflamatorni proces koji uzrokuje depleciju limfocita, influks makrofaga i heterofila, edem vezivnog tkiva i obično se u burzama mogu naći veće ili manje ciste. Posle par dana započinje proces repopulacije folikula burze limfocitima i ova regeneracija može trajati čak i više nedelja (Kim i sar., 1999). Varijantni virusi uzrokuju nekrozu limfocita i izraženu atrofiju organa bez pratećeg karakterističnog inflamatornog procesa. Nekroza limfocita se odvija i u slezini. I ovaj organ je u početku patološkog procesa uvećan zahvaljujući periarteriolarnoj hiperplaziji retikularnih ćelija. Tri dana posle infekcije nekroza limfocita se može ustanoviti i u timusu, iako se virus ne replikuje u ovom organu (Sharma i sar., 1989). Tanimura i sar. (1995) su istraživali patološke promene na SPF pilićima posle infekcije klasičnim i vrlo virulentnim virusima IBD. Histološke promene na burzama su bile iste kod svih virusa dok je intenzitet lezija bio značajniji kod vrlo virulentnih virusa u cekalnim tonzilama, timusu, slezini i koštanoj srži. Nekroza limfocita u cekalnim tonzilama i značajna redukcija limfocita u slezini dokazana je posle infekcije vrlo virulentnim virusima. Klasični sojevi nisu prouzrokovali promene na koštanoj srži dok su vrlo virulentni virusi uzrokovali redukciju hematopoetičnih ćelija i povećan broj makrofaga u ekstrasinusoidalnim prostorima. U sličnom istraživanju u kojem su SPF pilići bili inficirani atenuisanim, klasičnim i vrlo virulentnim virusom IBD, takođe je ustanovljeno da se virus umnožavao značajno više u slezini i koštanoj srži u poređenju sa klasičnim sojevima (Tsukamoto i sar., 1995). Replikacija virusa u neburzalnom tkivu se može smatrati jednim od dijagnostičkih parametara prilikom analize patogenosti sojeva IBDV, odnosno njihovog virulentnog potencijala (Tanimura i sar., 1995). Mi smo upoređivali histološke lezije i primarni serološki odgovor posle infekcije IBD virusom komercijalnih pilića sa različitim nivoom nasleđenih antitela. Uočeno je da visoki nivo antitela može da prevenira replikaciju virusa u burzi dok niži nivo nasleđenih antitela ne sprečava replikaciju divljeg patogenog virusa kod brojerskih roditelja i tovnih pilića. U ovom eksperimentu je takođe zapaženo da je kod tri od pet pilića sa visokim nivoom antitela ipak došlo do značajnih oštećenja burze što nije bilo praćeno pojavom precipitinskih antitela sedam dana posle infekcije. Primarni imunološki odgovor je u ovom istraživanju bio u korelaciji sa nivoom nasleđenih antitela a ne u korelaciji sa oštećenjima na burzi (Velhner i sar., 2001).

IMUNOCITOHEMIJSKA ISTRAŽIVANJA

U burzi se mogu naći na virus pozitivne ćelije u korteksu i meduli 6 do 12 sati posle infekcije. Makrofagi su pozitivni od drugog do desetog dana dok su u burzi prisutne pozitivne ćelije 13. dana. Broj pozitivnih ćelija u slezini i koštanoj srži je veći posle infekcije vrlo virulentnim virusima u odnosu na klasične sojeve (Tanimura i sar., 1995). Dve nezavisne istraživačke grupe su ustanovile da infekciju sa klasičnim sojem virusa IBD prati vrlo jak inluks T limfocita u burzama inficiranih pilića (Tanimura i Sharma, 1997; Vervelde i Davison, 1997). Kod kontrolnih neinficiranih pilića može se naći nekoliko CD3 pozitivnih ćelija između korteksa i medule. U istraživanjima koja su objavili Tanimura i Sharma (1997) CD8 fenotip dominira u akutnoj fazi oboljenja dok je u drugom istraživanju (Williams i Davison, 2005) u akutnoj fazi oboljenja dokazan porast CD4 limfocita a broj CD8 bio je veći od 6. dana posle infekcije (PI) i ostaje visok 14 dana PI. U cecalnim tonzilama je ustanovljen CD3 ćelijski fenotip u blizini na virus pozitivnih ćelija a CD8 pozitivne ćelije su bile brojnije od CD4 u ovom organu. U našim eksperimentima su CD3 pozitivne ćelije u velikom broju dokazane u burzama pilića inficiranih sa vrlo virulentnim virusom IBDV 4 dana PI. Desetog dana PI nađeni su malobrojni limfociti pozitivni na virus (Aleksić-Kovačević i sar., 1997. i 2000).

T ĆELIJE U IMUNOLOŠKOM ODGOVORU I PATOLOŠKOM PROCESU POSLE INFEKCIJE SA IBDV

Otkriće T limfocita u burzi i u drugim organima u kojima se replikuje IBDV su pokrenula istraživanja o ulozi ovih ćelija u imunološkom odgovoru kao i u nastajanju patološkog procesa. Sedam dana posle infekcije virusom IBD, broj T limfocita u burzi je najveći. Ove ćelije su aktivirane što je ustanovljeno na osnovu ekspresije Ia i CD25 markera. Posle infekcije klasičnim i vrlo virulentnim virusima IBD, u burzama pilića nastaje inflamatorni proces i u takvim okolnostima je ustanovljeno da je ekspresija interferona g (IFNg) najviša drugog dana od infekcije. U burzi i slezini je takođe ustanovljena povećana ekspresija interleukina 6 (IL6) što se smatra dokazom da T limfociti igraju važnu ulogu u eliminisanju virusa iz ovog organa u akutnoj fazi infekcije (Kim i sar., 2000). U drugom eksperimentu koji su objavili (Yeh i sar., 2002) jednodnevni SPF pilići su tretirani ciklofosamidom što je uzrokovalo kompromitovanje humoralnog imunološkog odgovora. Četrnaest dana posle infekcije IBD virus više nije mogao biti ustanovljen u parenhimatoznim organima što govori u prilog tome da su T limfociti uklonili virus sa ciljnih mesta. Proliferacija ćelija slezine na nespecifične stimulatore poput Konkavalina A je kasnila 3 dana kod ciklofosamidom tretiranih pilića u poređenju sa kontrolom. I pored suprimirane humoralne komponente pilići su bili zaštićeni od naknadne infekcije što zajedno sa gore navedenim rezultatima govori da je ćelijski imunološki odgovor dovoljan da zaštiti piliće od IBD.

PREVENTIVA

Lasher i Shane (1994) su u revijalnom radu prikazali prevenciju IBD aplikacijom atenuisanih i inaktivisanih vakcina. Praksa vakcinacije brojerskih roditelja ili roditelja lakih linijskih hibrida uljanim vakcinama na kraju odgoja počela je osamdesetih godina. Ovakav način vakcinacije je obezbedio prenošenje visokog nivoa maternalnih antitela na potomstvo (Wyeth i Cullen, 1978; Wyeth, 1980) što je prouzrokovalo teškoće kod vakcinacije pilića-potomaka. Naime, blagi vakcinalni virusi nisu mogli da se replikuju u prisustvu nasleđenih antitela i ukazala se potreba za „jačim” intermedijarnim vakcinalnim sojevima. Početkom devedesetih, kada su Evropom i Azijom zavladaali vrlo virulentni virusi, ispostavilo se da ni intermedijarni sojevi nisu dovoljno efikasni, odnosno da ne mogu dovoljno brzo da zaštite piliće u prisustvu maternalnih antitela (van den Berg i sar., 1991b; Gagić i sar., 1994). Takozvane „vruće” vakcine bile su efikasnije u praksi ali ovakav način vakcinacije nije široko prihvaćen iako se još uvek koristi u zemljama trećeg sveta. U područjima sa razvijenim industrijskim živinarstvom gde farme imaju zadovoljavajuće zoohigijenske uslove nije potrebno koristiti „vruće sojeve”. Atenuisane vakcine protiv ovog oboljenja se prema tome mogu podeliti na blage (*mild*), srednje jačine (*intermediate*) i takozvane vruće (*hot*) vakcine.

Načini i metode vakcinacije protiv IBD su predmet intenzivnih savremenih istraživanja. Zbog toga što vakcinacija zahteva manipulaciju sa životinjama kao i zbog troškova skladištenja, transporta i aplikacije u veterinarskoj medicini postoji potreba za viševalentnim vakcinama. Viševalentne vakcine mogu da se dobiju kombinacijom više živih ili inaktivisanih virusa tako da se i virus IBD često koristi kao komponenta u takvim preparatima (Chang i sar., 1985; Biđin i sar., 1998). Tehnološki napredak i uvođenje automatizacije u proizvodnji poput vakcinacije *in ovo* takođe spada u savremene trendove imunoprofilakse u živinarstvu (Ricks i sar., 1999; Sharma, 1999; Gagić, 1999; Negash i sar., 2004). Intermedijarni soj IBDV (Bursine 2, Forth Dog) upotrebljen je kao jedan od antigena u viševalentnoj vakcini koja je testirana posle *in ovo* aplikacije na SPF pilićima (Gagić i sar., 1999; Sharma i sar., 2002). Takođe je moguća aplikacija živih virusa u kombinaciji sa antitelima (Haddad i sar., 1997; Jeurissen i sar., 1998; Ivan i sar., 2005).

Iako je vrlo mali broj vakcina protiv IBD dobijenih genetskim inženjerstvom dostupan komercijalno, istraživači neprekidno pokušavaju da naprave bezbedne i efikasne vakcine koristeći saznanja o antigenim karakteristikama ovog virusa i mehanizmima imunološkog odgovora koji ovi virusi indukuju. Osnovna obeležja genetskim inženjerstvom dobijenih vakcina su opisana (Velhner i sar., 2002). U načelu se smatra da su genetski modifikovane vakcine bezbednije od atenuisanih vakcina. Rekombinantna tehnologija je upotrebljena u razvoju živih viševalentnih vakcina koje su usmerene na IBD (Tsukamoto i sar., 2002) a opisana je i kombinovana vakcina napravljena od VP2, VP3 i VP4 antigena virusa eksprimiranih u plazmidu i interleukina 6 (IL6) takođe eksprimiranog u plazmidu koji su aplikovani intramuskularno. IL6 je u ovim eksperimentima doprineo poboljšanju imunološkog

odgovora. Ovako konstruisana vakcina štitila je posle trokratne aplikacije piliće od infekcije sa IBDV bolje od plazmida koji je eksprimirao samo VP2 sa ili bez IL6 (Sun i sar., 2005).

Metoda reverzne genetike omogućava da se na nivou genomske DNK izazovu usmerene mutacije, a potom se transkribovana RNK uzgaja u eukariotskim ćelijama. Mundt i sar. (1999) su konstruisali himerični virus od segmenta A i B soja D78 u koji je ugrađen fragment od 1078 bp varijabilnog regiona VP2 i delimična sekvenca VP4 varijantnog virusa E-Del, USA. Usmerenom mutagenezom dodatno su izmenjeni kodoni 253 (Q u H), 254 (S u G) i 284 (A u T) na hipervarijabilnom delu A segmenta (Mundt i sar., 2003). Himerični virus se mogao uzgajati na kulturi tkiva poput D78 virusa i mogao se umnožavati u prisustvu maternalnih antitela titra 6 log₂. Autori su pokazali da ovako konstruisan virus komparabilan D78 virusu i pretpostavili da ovako dizajnirana vakcina može obezbediti simultanu zaštitu pilića od klasičnih i varijantnih patogenih virusa.

ZAKLJUČNA RAZMATRANJA

Savremena istraživanja obezbedila su veliki broj informacija o karakteristikama infekcije virusom IBD. Dobra praksa uzgoja životinja, sanitacija objekata i pravilan izbor vakcina su i dalje najefikasnije mere zaštite pilića od ovog oboljenja. Iskustva u našoj zemlji pokazala su da je važno utvrditi nivo nasleđenih antitela kako bi se odredilo adekvatno vreme za vakcinaciju i da epizootiološki podaci o prethodnim pojavama oboljenja na farmama ili u okolini objekata za uzgoj živine opredeljuju sa kojim sojem treba da se izvrši vakcinacija (Glavičić, 1988; Orlić, 2000; Orlić i Tibru, 2002; Orlić i sar., 2002). Pravilna sanitacija objekata takođe je od velikog značaja. Često se oboljenje pojavljuje u seoskim gazdinstvima. Zato je neophodna vakcinacija i ove kategorije živine što bi u perspektivi smanjilo štete koje IBDV prouzrokuje na našim farmama. Da bi se postigao ovaj cilj potrebno je puno rada i zalaganja celokupne veterinarske službe. Imajući u vidu da su skoro svi specijalistički i naučni instituti u našoj zemlji opremljeni za sprovođenje savremenog serološkog monitoringa poput ELISE (enzimski imunološki test), da javne i privatne veterinarske službe takođe izvršavaju poslove u oblasti živinarstva, naša je obaveza da ne zanemarimo problem IBD, nego da zajedničkim zalaganjima pokušamo da smanjimo pojave oboljenja. Specijalističke službe bi trebale, kada god se za to ukaže potreba, da dostavljaju materijal za izolaciju i/ili determinaciju virusa IBD, onim laboratorijama u zemlji koje imaju adekvatnu opremu za potrebna ispitivanja. Pojava asimptomatskog infektivnog burzitisa u nekim evropskim zemljama (Jackwood i sar., 2006) i molekularna istraživanja jednog virusa iz Belgije (Letzel i sar., 2007) ukazuju na mogućnost da su se varijantni sojevi nedavno pojavili i u Evropi. Iz toga razloga su neophodna istraživanja iz ove oblasti i u našoj zemlji kako bi stekli saznanja o tome koji sojevi su prisutni u Srbiji i shodno tome kako na najefikasniji način sprovesti imunoprofilaksu.

LITERATURA

1. Aleksić-Kovačević S., Milosavljević P., Jovanović M., Gagić M., Knežević M.: Prednost patohistoloških i imunocitohemijskih metoda u dijagnostici važnijih oboljenja živine. *Nauka u živinarstvu*, 3-4, 2:155-160, 1997.
2. Aleksić-Kovačević S., Velhner M., Knežević M.: Expression of infectious bursal disease virus antigen in bursae of experimentally infected chickens. Proceedings and Programe, 18th Meeting of the European Society of Veterinary Pathology, Amsterdam, pp 221, 2000.
3. Azad A.A., Jagadish M.N., Brown M.A., Hudson P.J.: Deletion mapping and expression in *Escherichia coli* of the large genomic segment of a birnavirus. *Virology*, 161:145-152, 1987.
4. Bayliss C.D., Spies U., Shaw K., Peters R.W., Papageorgiou A., Müller H., Boursnell M.E.G.: A comparison of the sequences of a segment A of four infectious bursal disease virus strains and identification of a variable region in VP2. *Journal of General Virology* 71:1303-1312, 1990.
5. Biđin Z., Čajavec S., Sladić D., Ergotić N., Cizelj A., Pokrić B.: Protection of broiler breeders by an inactivated combined water-in-oil-in-water viral vaccine. *Acta. Vet. Hung.* 46:25-34, 1998.
6. Chang J.D., Eidson C.S., Kleven S.H.: Simultaneous application of live turkey herpesvirus and infectious bursal disease vaccines against Marek's disease and infectious bursal disease. *Poultry Sci.* 64:78-83, 1985.
7. Chettle N., Stuart J.C., Wyeth P.J.: Outbreak of virulent infectious bursal disease in East Anglia. *Vet. Rec.* 125:271-2, 1989.
8. Cosgrove A.S.: An apparently new disease of chickens-avian nephrosis. *Avian Dis.* 6:385-389, 1962.
9. Dobos P., Hill B.J., Hallett R., Kells D.T.C., Becht H., Teninges D.: Biophysical and biochemical characterization of five animal viruses with bisegmented double-stranded RNA genomes. *J. Virol* 32:593-605, 1979.
10. Gagić M., Velhner M., Đekić J., Orlić D.: Novija saznanja o virusu Gamboro bolesti kod nas i u svetu. *Živinarstvo* 4-6:35-37, 1993.
11. Gagić M., Orlić D., Đekić J., Palić T.: Prilagođavanje programa imunoprofilakse za virus Gamboro bolesti u uslovima njegove povećane patogenosti. *Veterinarski glasnik* 48:517-523, 1994.
12. Gagić M.: In ovo vakcinacija viševalentnim vakcinama. *Živinarstvo* 8-9, 34:9-11, 1999.
13. Gagić M., St Hill C.A., Sharma J.M.: In ovo vaccination of specific pathogen free chickens with vaccines containing multiple agents. *Avian Dis.* 43:293-301, 1999.
14. Glavičić M., Velhner M., Gagić M., Veselinović S.: Comparative examination of the effects of immunoprotection of broiler chickens by different vaccines made on attenuated strains of infectious bursal disease virus. *Proceedings*, 7. Simpozijum Drobiaskie Polanica Zdroj, p 32, 22-24, 09, 1988.

15. Giambrone J.J., Closser J.: Efficacy of live vaccines against serologic subtypes of Infectious bursal disease virus. *Avian Dis.* 34:7-11, 1990.
16. Haddad E.E., Whitfill C.E., Avakian A.P., Ricks C.A., Andrews P.D., Thoma J.A., Wakenell P.S.: Efficacy of a novel infectious bursal disease virus immune complex vaccine in broiler chickens. *Avian Dis.* 41:882-9, 1997.
17. Hudson P.J., McKern M.N., Barbara E. P., Azad A.A.: Genomic structure of the large RNA segment of infectious bursal disease virus. *Nucleic Acids Research* 14:5001-5012, 1986.
18. Ismail N.M., Saif Y. M., Moorhead P.D.: Lack of pathogenicity of five serotype 2 Infectious bursal disease viruses in chickens. *Avian Dis.* 32:757-759, 1988.
19. Ivan J., Velhner M., Ursu K., German P., Mato T., Dren C.N., Meszaros J.: Delayed vaccine virus replication in chickens vaccinated subcutaneously with immune complex infectious bursal disease vaccine: quantification of vaccine virus by real-time polymerase chain reaction. *Can. J. Vet. Res.* 69:135-42, 2005.
20. Jackwood D.J., Saif Y.M., Moorhead P.D.: Immunogenicity and antigenicity of infectious bursal disease virus serotypes I and II in chickens. *Avian Dis.* 29: 1184-1194, 1985.
21. Jackwood D.J., Cookson K.C., Sommer-Wagner S.E., Le Galludec H., de Wit J.J.: Molecular characteristics of infectious bursal disease viruses from asymptomatic broiler flocks in Europe. *Avian Dis.* 50:532-536, 2006.
22. Jeurissen S.H., Janse E.M., Lehrbach P.R., Haddad E.E., Avakian A., Whitfill C.E.: The working mechanism of an immune complex vaccine that protects chickens against infectious bursal disease. *Immunology* 95:494-500, 1998.
23. Kibenge E.S.B., Dhilon A.S., Russell R.G.: Biochemistry and immunology of infectious bursal disease virus. *J. Gen. Viro.* 69:1757-1775.
24. Kim In-Jeong, Gagić M., Sharma J.M.: Recovery of antibody producing ability and lymphocyte repopulation of bursal follicles in chickens exposed to infectious bursal disease virus. *Avian Dis.* 43:401-413, 1999.
25. Kim I.J., You S.K., Kim H., Yeh H.J., Sharma J.M.: Characterization of bursal T lymphocytes induced by infectious bursal disease virus. *J. Virol.* 74:8884-8892, 2000.
26. Lasher H.N., Shane S.M.: Infectious bursal disease. *Worlds Poultry Science Journal* 50:133-166, 1994.
27. Letzel T., Fasseli C., Felix Rey A., Delmas B., Jagt E., van Loon A.M.W. Adriaan, Mundt E.: Molecular and structural bases for the antigenicity of VP2 of infectious bursal disease virus. *Journal of Virol.* 81:12827-12835, 2007.
28. Mundt E., Beyer J., Müller H.: Identification of a novel viral protein in infectious bursal disease virus-infected cells. *J. Gen. Virol.* 76: 437-443, 1995.
29. Mundt E., Müller H.: Complete nucleotide sequence of 5'- and 3' noncoding regions of both genome segments of different strains of infectious bursal disease virus. *Virology* 209:10-18, 1995.

30. Mundt E.: Tissue culture infectivity of different strains of infectious bursal disease virus is determined by distinct amino acids in VP2. *J. Gen. Virol.* 80:2067-2076, 1999.
31. Mundt E., de Haaas N., van Loon A.W.M. Adriaan: Development of a vaccine for immunization against classical as well as variant strains of infectious bursal disease virus using reverse genetics. *Vaccine* 21:4616-4624, 2003.
32. Negash T., Al-Garib S. O., Gruys E.: Comparison of in ovo and post hatch vaccination with particular reference to infectious bursal disease. A review. *Vet. Q.* 26(2):76-87, 2004.
33. Nunoya T., Otaki Y., Tajima M., Hiraga M., Saito T.: Occurrence of acute infectious bursal disease with high mortality in Japan and pathogenicity of field isolates in specific-pathogen-free chickens. *Avian Dis.* 36:597-609, 1992.
34. Orlić D.: Kontrola jako virulentnog virusa Gamboro bolesti primenom intermedijarnih vrućih vakcina u Jugoslaviji. Zbornik radova, "Unapređenje zdravstvene zaštite životinja I proizvodnja zdravstveno ispravnih namirnica animalnog porekla i hrane za životinje", Novi Sad: Naučni institute za veterinarstvo "Novi Sad", str. 53-57, 2000.
35. Orlić D., Tibru I.: Gumboro bolest, epizootiologija i mere kontrole u farmskom gajenju živine, *Savremena poljoprivreda*, 51:297-300, 2002.
36. Orlić D., Kapetanov M., Suvajdžić Lj.: Epizooties of highly virulent virus of Gumboro disease in Vojvodina. *Lucrari Stiintifice medicina veterinara*, vol XXXV, p. 273-275, 2002.
37. Ricks CA, Avakian A, Bryan T., Gildersleeve R., Haddad E., Ilich R., King S., Murray L., Phelps P., Poston R., Whitfill C., Williams C.: In ovo vaccination technology. *Adv. Vet. Med.* 41:495-515, 1999.
38. Sapats S.I., Ignjatović J.: Antigenic and sequence heterogeneity of infectious bursal disease virus strains isolated in Australia. *Archives of Virology*, 145:773-785, 2000.
39. Sharma J.M., Dohms J. E., Metz A.L.: Comparative pathogenesis of serotype 1 and variant serotype 1 isolates of infectious bursal disease virus and their effect on humoral and cellular immune competence of specific pathogen free chickens. *Avian Dis.* 33:112-124, 1989.
40. Sharma J.M.: Introduction to poultry vaccines and immunity. *Adv. Vet. Med.* 41:481-94, 1999.
41. Sharma J.M., Zhang Y., Jensen D., Rautenschlein S., Yah H.Y.: Field trial in commercial broilers with a multivalent in ovo vaccine comprising a mixture of live viral vaccines against Marek's disease, infectious bursal disease, Newcastle, and fowl pox. *Avian Dis.* 46:613-22, 2002.
42. Sun J.H., Yan Y.X., Jiang J., Lu P.: DNA Immunization against very virulent Infectious bursal disease virus with VP2-4-3 gene and chicken IL-6 gene. *J. Vet. Med.* 52:1-7, 2005.

43. Spies U., Müller H., Becht H.: nucleotide sequence of infectious bursal disease virus genome segment A delineates two major open reading frames. *Nucleic Acids Research* 17 (19), 1989.
44. Spies U., Müller H.: Demonstration of enzyme activities required for cap structure formation in infectious bursal disease virus, a member of the birnavirus group. *J. Gen. Virol.* 71:977-981, 1990.
45. Tanimura Nobuhiko, Kenji Tsukamoto, Kikuyasu Nakamura, Minoru Narita, Minoru Maeda: Association between pathogenicity of infectious bursal disease virus and viral antigen distribution detected by immunohistochemistry. *Avian Dis.* 39:9-20, 1995.
46. Tanimura N., Sharma J.M.: Appearance of T cells in the bursa of Fabricius and cecal tonsils during the acute phase of infectious bursal disease virus infection in chickens. *Avian Dis.* 41:638-645, 1997.
47. Tsukamoto K., Tanimura N., Mase M., Kunitoshi Imai: Comparison of virus replication efficiency in lymphoid tissue among three infectious bursal disease virus strains. *Avian Dis.* 39:844-852, 1995.
48. Tsukamoto K., Saito S., Saeki S., Sato T., Tanimura N., Isobe T., Mase M., Imada T., Yuasa N., Yamaguchi S.: Complete long lasting protection against lethal infectious bursal disease virus challenge by a single vaccination with an avian herpesvirus vector expressing VP2 antigens. *Journal of Virol.* 76:5637-5645, 2002.
49. Yamaguchi Tsuyoshi, Motohiko Ogawa, Yasuo Inoshima, Miyoshi Masahiro, Fukush Hideto, Hirai Katsuya: Identification of sequence changes responsible for attenuation of highly virulent infectious bursal disease virus. *Virology* 223:219-223, 1996.
50. Yamaguchi T., Ogawa M., Miyoshi M., Inoshima Y., Fukushi H., Hirai K.: Sequence and phylogenetic analyses of highly virulent infectious bursal disease virus. *Arch Virol*, 142:1441-1458, 1997.
51. Yao Kun, Goodwin A. Mark, Vakharia N. Vikram: Generation of a mutant infectious bursal disease virus that does not cause bursal lesions. *Journal of Virol.* 72:2647-2654, 1998.
52. Yeh Hung-Yueh, Rautenschlein Silke, Sharma M. Jagdev: Protective immunity against infectious bursal disease virus in chickens in the absence of virus-specific antibodies. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 89:149-158, 2002.
53. Van den Berg T.P., Gonze M., Meulemans G.: Acute infectious bursal disease in poultry: isolation and characterization of a highly virulent strain. *Avian Pathology* 20:133-143, 1991a.
54. Van den Berg T.P., Meulemans G.: Acute infectious bursal disease in poultry: protection afforded by maternally derived antibodies and interference with live vaccination. *Avian Pathology* 20:409-21, 1991b.
55. Van Loon A.A.W.M., N. de Haas, I. Zeyda, E. Mundt: Alteration of amino acids in VP2 of very virulent infectious bursal disease virus results in tissue culture ad-

- aptation and attenuation in chickens. *Journal of General Virology* 83:121-129, 2002.
56. Velhner M., Lazić S., Petrović T., Aleksić-Kovacević S.: Protection of chickens with maternally derived antibodies after challenge with very virulent infectious bursal disease virus. *Acta Veterinaria* 51:219-226, 2001.
 57. Velhner M., Petrović T., Savić-Jevđenić S., Lazić S.: Vrste i mehanizmi delovanja virusnih vakcina. *Veterinarski glasnik* 56:143-152, 2002.
 58. Vervelde Lonke, 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* 26:803-821, 1997.
 59. Wang X.M., Zeng X.W., Gao H.L., Fu C.Y., Wei P.: Changes in VP2 gene during the attenuation of very virulent infectious bursal disease virus strain Gx isolated in China. *Avian Dis.* 48:77-83, 2003.
 60. Williams A.E., Davison T.F.: Enhanced immunopathology induced by very virulent infectious bursal disease virus. *Avian Pathology* 34(1):4-14, 2005.
 61. Winterfield R.W., Fadly A.M., Bickford A.: Infectivity and distribution of infectious bursal disease virus in the chicken. Persistence of the virus and lesions. *Avian Dis* 622-632, 1972.
 62. Wyeth P.J., Cullen G.A: Transmission of immunity from inactivated infectious bursal disease oil-emulsion vaccinated parent chickens to their chicks. *The Veterinary Record* 102:362-363, 1978.
 63. Wyeth P.J.: Passively transferred immunity to IBD following live vaccination of parent chickens by two different routes. *The Veterinary Record*, 29:259-260, 1980.

Primljeno: 10. 09. 2008.
Odobreno: 21. 10. 2008.