

Ogólnoustrojowe oraz lokalne mechanizmy immunologiczne stymulowane w przebiegu zakaźnego zapalenia oskrzeli kur

MARCIN ŚMIAŁEK, JOANNA WELENC, ANDRZEJ KONCICKI

Katedra Chorób Ptaków, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, ul. Oczapowskiego 13, 10-719 Olsztyn

Otrzymano 04.09.2015

Zaakceptowano 22.02.2016

Śmiałek M., Welenc J., Koncicki A.

Systemic and local immune mechanisms stimulated in the course of chicken infectious bronchitis

Summary

Infectious bronchitis (IB) is a highly contagious, viral disease of chickens that causes damage to the respiratory tract, kidneys, gastrointestinal and reproductive systems, as well as muscles. Despite the worldwide distribution of vaccines against IB, the outbreaks of this disease are recorded frequently.

This review paper describes the mechanisms of the immune system response against both infectious bronchitis virus (IBV) and vaccine IBV, with special attention to the local upper respiratory tract immune mechanisms stimulated in the course of IB. CD8⁺ T cells as well as IgA⁺ and IgY⁺ B memory cells seem to play the most important role in protection against re-infection with IBV. The present paper describes in detail the stimulation of non-specific innate resistance factors and the underlying mechanism of IBV innate immunity breach, as well as the stimulation and acquisition of specificity and immune memory against IBV by immunocompetent cells after both infection and vaccination.

Keywords: chicken, infectious bronchitis, systemic and local immune mechanisms

Zakaźne zapalenie oskrzeli (Infectious bronchitis – IB) jest wirusową, wysoce zaraźliwą chorobą kur. Wirus zakaźnego zapalenia oskrzeli (IBV), który jest przedstawicielem rodziny *Coronaviridae* (materiał genetyczny stanowi jednoniciowy RNA), należy do wirusów ptasich, często zmieniających swoje właściwości genotypowe, antygenowe, tropizm tkankowy, patogenność, a przez to formę samej choroby. W zależności od tropizmu tkankowego oraz potencjału terenowych szczepów IBV do wywoływania zmian anatomopatologicznych w różnych narządach wewnętrznych makroorganizmu do dnia dzisiejszego wyróżnić można kilka postaci IB, takich jak: oddechowa, nerkowa, rozrodcza, mięśniowa czy pokarmowa (4, 10, 14, 28, 29, 34, 35). Główny mechanizm zmienności IBV polega na mutacjach w obrębie genu kodującego zewnątrzotoczkowy glikopolipeptyd S1, które doprowadzają do zmiany jego struktury antygenowej. Biorąc pod uwagę fakt, że podjednostka S1 IBV jest odpowiedzialna za tropizm tkankowy wirusa oraz stymulację swoistych mechanizmów immunologicznych, wyżej wymienione zjawiska wpływają na obserwowane często przypadki przełamania odporności poszczepiennej, w stadach kur o różnej użytkowości, przez terenowe szczepy IBV

(34). Stowarzyszenie do spraw zdrowia zwierząt w USA (United States Animal Health Association) umieściło IB na 5. miejscu wśród chorób przynoszących największe straty w przemyśle drobiarskim w 2014 r.

Niniejsze opracowanie ma na celu przedstawienie reakcji immunologicznych zachodzących w przebiegu zakaźnego zapalenia oskrzeli kur ze szczególnym uwzględnieniem mechanizmów lokalnej odporności górnych dróg oddechowych (GDO). Natomiast po informacji dotyczące historycznej oraz obecnej sytuacji epidemiologicznej, jak również mechanizmów zmienności IBV oraz perspektyw immunoprofilaktyki swoistej IB odsyłamy czytelnika do artykułów przeglądowych, skupiających się na wybranej problematyce tej jednostki chorobowej (1, 8, 18, 19, 34, 36).

Odporność ogólnoustrojowa

Wykazano, że w przebiegu zakażenia oraz po szczepieniu przeciwko IB dochodzi do stymulacji komórkowej i humoralnej odporności ogólnoustrojowej oraz lokalnej w GDO.

IBV charakteryzują się wysoką immunogennością, czego wyrazem między innymi jest stymulacja produkcji swoistych przeciwciał, które w surowicy mogą

być wykrywane z wykorzystaniem testu ELISA, seroneutralizacji czy odczynu hamowania hemaglutynacji (9, 13, 24, 25). Trudno jest jednoznacznie określić znaczenie ogólnoustrojowej odporności humoralnej w protekcji przeciwko zakażeniom IBV. Na podstawie badań nad udziałem odporności matczynej wykazano jednak, że przeciwciała te są w stanie samodzielnie zapobiegać rozwojowi choroby nawet do 7. dnia po wylęgu piskląt (8). Znaczenie komórek B w protekcji przeciwko IBV zobrazował Chubb (7), który wykazał, że ptaki poddane selektywnej deplecji komórek B poprzez dożylną iniekcję cyklofosfamidu, ciężiej przechorowują zakaźne zapalenie oskrzeli oraz występują u nich silniej zaznaczone zmiany anatomopatologiczne (m.in. w nerkach). Dodatkowo z przeprowadzonych badań retrospektywnych wynika, że IB powoduje największe straty w stadach brojlerów kurzych, które posiadały w dniu klucia niskie i niewyrównane miana przeciwciał matczyne anty-IBV (17). Z drugiej jednak strony, wyniki badań nad rozwojem odporności poszczepiennej przeciwko IBV u ptaków poddanych selektywnej immunosupresji limfocytów B (poprzez dożylną iniekcję cyklofosfamidu) wskazują, że u kur, pomimo braku swoistych przeciwciał poszczepionych, wytworzona została pełna protekcja na zakażenie eksperymentalne zjadliwym szczepem IBV (4). W związku z tym dzisiaj uznaje się, że ogólnoustrojowa odporność humoralna (sprawowana głównie przez swoiste IgY czy IgM) nie koreluje bezpośrednio ze stopniem odporności na zakażenie IBV, jednak wydaje się, że jest zaangażowana w odporność ogólnoustrojową gospodarza i przyczynia się do ograniczenia stopnia replikacji wirusa w strukturach innych niż układ oddechowy (układ rozrodczy i wydalniczy).

Największe znaczenie w odporności przed zakażeniem wydaje się mieć komórkowa odporność ogólnoustrojowa związana głównie z aktywnością cytotoksycznych limfocytów T. Wykazano, że wzrost ich aktywności był czasowo skorelowany ze stopniem oczyszczania płuc i nerek z materiału genetycznego IBV (8). Pei i wsp. (26), prowadząc badania nad komórkami T pamięci immunologicznej, dowiedli, że komórki te, głównie CD8⁺ (w zdecydowanie mniejszym stopniu CD4⁺) izolowane ze śledzion ptaków w 3.-6. tygodniu po przechorowaniu IB wykorzystane do transferu immunologicznego do ptaków wrażliwych i nieszczepionych przeciwko zakaźnemu zapaleniu oskrzeli są w stanie samodzielnie zredukować stopień nasilenia objawów klinicznych oraz zapobiegają ostrej postaci choroby po zakażeniu eksperymentalnym IBV.

Odporność lokalna

Obecnie niewiele wiadomo na temat roli odporności lokalnej GDO w protekcji przeciwko zakażeniu IBV, ale mechanizmy tej odporności wydają się szczególnie istotne, biorąc pod uwagę drogę zakażenia wirusami IB.

Pierwotnym narzędziem makroorganizmu umożliwiającym rozpoznanie czynników zakaźnych są receptory rozpoznające wzorce molekularne patogenów (PRR – pattern recognition receptors), których aktywacja skutkuje kaskadą zjawisk biochemicznych prowadzących w konsekwencji do zwalczania infekcji (3). Opisano dwie rodziny PRR umożliwiające rozpoznawanie oraz odpowiedź makroorganizmu na zakażenie RNA wirusami: Toll-like (TLR – konkretnie TLR 3 oraz 7) oraz RIG-I-like receptory (RLR – receptor MDA5), które ulegają ekspresji w wielu komórkach jako receptory powierzchniowe i wewnątrzkomórkowe (głównie na komórkach prezentujących antygeny – APC; antigen presenting cells) zaangażowanych w stymulację odporności makroorganizmu (3, 11, 12, 22). Po zakażeniu IBV początkowo replikują się w strukturach GDO, takich jak gruczoł Hardera (Harderian gland – HG) czy błona śluzowa tchawicy. Wykazano wzrost ekspresji genów Toll-like receptorów (TLR) 3 i 7, IL-1 β i IL-6 (cytokin prozapalnych) oraz interferonu gamma (IFN γ – czynnik przeciwwirusowy) z równoczesną infiltracją komórek fagocytarnych w górnych drogach oddechowych ptaków w kilka godzin po eksperymentalnym zakażeniu IBV (21, 31). Niewykluczone zatem, że pierwszym etapem stymulacji swoistej odporności makroorganizmu jest przekazywanie sygnału o antygenie za pośrednictwem tych właśnie nieswoistych mechanizmów zawiadywanych przez elementy odporności wrodzonej przy równoczesnej aktywacji czynników przeciwwirusowych. Dodatkowo wykazano, że 24 godziny po zakażeniu aktywacji ulegają komórki NK (natural killers) w strukturach GDO (31). Z drugiej jednak strony, produkcja i sekrecja IFN- γ stwierdzane są w strukturach układu oddechowego nie wcześniej niż 48 godzin po zakażeniu (31). Badania *in vivo* oraz *in vitro* wykazały również, iż ekspresja genów interferonów typu I, jak IFN- α i β , nie jest silnie stymulowana po zakażeniu. Istnieją doniesienia, iż wynika to z samej natury wirusów IB, które poprzez opóźnienie reakcji na styku IBV i MDA5 oraz dzięki obecności dodatkowych protein 3a i 3b (proteiny niestrukturalne IBV, o niewyjaśnionej wcześniej funkcji w patogenezie IB) są w stanie zaburzać wewnątrzkomórkowe kaskady przekazywania sygnału aktywującego transkrypcję IFN- β (21, 22, 31). Inhibicja produkcji czynników przeciwwirusowych (interferonów typu I) rozpatrywana jest obecnie jako jeden z głównych mechanizmów przełamania naturalnych barier obronnych makroorganizmu przez IBV, co w konsekwencji prowadzi do rozwoju klinicznej postaci choroby, a z drugiej strony – znajomość tych mechanizmów wpływa na nowoczesne strategie zapobiegania następstwom zakażenia tymi wirusami oraz na taktykę przy opracowywaniu szczepionek nowej generacji przeciwko IB. Wykazano, iż zastosowanie *in ovo* syntetycznych, niemetylowanych oligonukleotydów cytozyno-guaninowych (CpG ODN) będących

agonistą TLR 21 (ptasi homolog funkcjonalny TLR 9 ssaków) indukuje u ptaków silną ekspresję IFN- γ , IL-1 β oraz IL-8. Równocześnie, ich zastosowanie (*in ovo*) na 24 godziny przed zakażeniem IBV 19-dniowych zarodków kurzych skutkowało ograniczeniem replikacji zjadliwych wirusów w różnych tkankach embrionów (11, 12). Powyższe dane wskazują, iż CpG mogą w sposób nieswoisty oraz niezależny od IBV stymulować parametry odporności wrodzonej makroorganizmu, co doprowadza w konsekwencji do ograniczenia stopnia nasilenia i rozprzestrzeniania infekcji IBV. CpG rozpatrywane są obecnie jako potencjalny adiuwant szczepionek nowej generacji w stosunku do IB.

Wykazano, że podobny schemat stymulacji odporności wrodzonej ma miejsce również po szczepieniu kur przeciwko IB. Guo i wsp. (15) wykazali między innymi wzrost ekspresji genów dla TLR 3 i 7 oraz 2/6 już w pierwszej dobie po szczepieniu, czemu towarzyszył wzrost ekspresji genu IL-1 β oraz IFN γ przy równoczesnej aktywacji komórek fagocytarnych.

Między 3. a 11. dniem po zakażeniu IBV zarówno w HG, tkance limfatycznej spojówek (conjunctiva-associate lymphoid tissue – CALT), jak i w tchawicy ma miejsce silna infiltracja limfocytów T (8). W toku różnych badań nad patogenezą IBV, prowadzonych przez niezależne jednostki naukowe wykazano, że są one aktywnie zaangażowane w zwalczanie zakażenia GDO przez IBV. Nieliczne doniesienia z tego zakresu prezentowały przeciwstawne stanowiska, mówiące o wzroście procentowego udziału komórek T CD4⁺ lub CD8⁺ albo o równoczesnej stymulacji obu tych subpopulacji komórek T, między innymi w błonie śluzowej tchawicy (8, 27). Jansse i wsp. (20) obserwowali nasilającą się infiltrację komórek T zarówno CD4, jak i CD8 pozytywnych w strukturach tchawicy (między 5. a 11. dniem), z dołączającymi się komórkami B (od 11. dnia) po zakażeniu IBV. Obserwowany naciek limfocytów był równocześnie negatywnie skorelowany z ilością wykrywanego antygeny wirusowego w strukturach górnych dróg oddechowych. Dodatkowo Okino i wsp. (25) prowadząc badania nad przebiegiem reakcji immunologicznych zachodzących w błonie śluzowej tchawicy ptaków po zakażeniu IBV, wykazali iż 3 dni po zakażeniu bardzo silnej ekspresji ulegały geny kodujące IL-6, IL-1 β oraz IFN- γ , przy równocześnie najwyższym mianie wirusa oraz stopniu zaawansowania zmian patologicznych w drogach oddechowych. Biorąc pod uwagę profil produkowanych cytokin, należy utożsamiać go z aktywacją komórek zawiadującymi wrodzonymi, nieswoistymi mechanizmami odpornościowymi, najprawdopodobniej komórek NK. Profil ten uległ zmianie w 7. dobie po zakażeniu, w którym to okresie cytowani autorzy stwierdzili bardzo wysoki poziom mRNA zewnątrzkomórkowej determinanty CD8 komórek cytotoksycznych, przy równoczesnej ekspresji genów cytotoksyczności, jak granzymu A.

Zmianie tej towarzyszyło również oczyszczanie GDO z materiału genetycznego wirusa oraz ustępowanie zmian patologicznych (25). Wyniki te korespondują z doniesieniem Wattarang i wsp. (32), którzy wykazali wzrost aktywności komórek cytotoksycznych w krtani przedniej, tchawicy i płucach ptaków 7-9 dni po zakażeniu zjadliwym IBV.

Wykazano, że po szczepieniu ptaków przeciwko IBV dochodzi do stymulacji cytotoksycznych limfocytów T w strukturach CALT (13), co wskazuje, że efektorowe oddziaływanie przeciwwirusowe układu immunologicznego makroorganizmu funkcjonuje już w bramie wnikania patogenu. Równocześnie w aktywowanych efektorowych komórkach T w strukturach CALT wykazano wzrost poziomu ekspresji genów związanych z cytotoksycznością (po rewakcytacji) limfocytów, m.in. granzymu A i perforyny (16).

Już w początkowych stadiach zakażenia IBV dochodzi w HG do stymulacji komórek B do produkcji swoistej IgA. Od 5. dnia po zakażeniu (ze szczytem w 11. d.p.z.) szczepem Ark IBV wykazano wzrost poziomu swoistej IgA w płynie łzowym kurcząt. Wzrost ten był odwrotnie proporcjonalny do liczby kopii RNA wirusowego oznaczanego w górnych drogach oddechowych (8). Dodatkowo, van Ginkel i wsp. (13) donoszą, że zakażenie wirusem choroby Gumboro skutkować może cięższym przebiegiem klinicznym zakaźnego zapalenia oskrzeli, co wynika najprawdopodobniej z zaburzenia w produkcji swoistej immunoglobuliny A przez limfocyty B na terenie gruczołu Hardera. Ci sami autorzy wykazali również, że równoczesna infekcja wirusem anemii zakaźnej (przyczyniającej się pośrednio do spadku liczby komórek T CD4⁺ w HG) oraz IBV doprowadza do zaburzenia syntezy swoistej sIgA anty-IBV przez komórki B w gruczole Hardera, co może przyczyniać się do przedłużenia replikacji zjadliwego IBV i w konsekwencji – zaostrenia przebiegu choroby. W jednym i drugim przypadku stwierdzono, że miana IgA w płynie łzowym rosną później po zakażeniu IBV, co skorelowane było z większą intensywnością replikacji zjadliwego IBV w drogach oddechowych. Wskazuje to na udział swoistej odporności humoralnej górnych dróg oddechowych w protekcji przeciwko zakażeniu koronawirusami IB. Wykazano również wzrost poziomu IgA w popłuczynach z GDO po szczepieniu przeciwko IBV (8, 24).

Reasumując, w świetle aktualnego stanu wiedzy należy stwierdzić, że w trakcie pierwotnej infekcji wirusami IB pierwszymi elementami zaangażowanymi w rozwój protekcji przeciwko toczącemu się zakażeniu, jak i reinfekcji są nieswoiste mechanizmy odpornościowe związane z naturalnymi barierami makroorganizmu (komórki nabłonkowe, śluz w drogach oddechowych) oraz komórkami zawiadującymi odpornością wrodzoną, jak makrofagi czy heterofile. Komórki te, stymulowane przez nieswoiste oddziaływanie na linii molekularna struktura wirusa zakaż-

jącego – receptory rozpoznające wzorce molekularne (TLR 3 i 7) z jednej strony ograniczają replikację wirusa poprzez nieswoistą produkcję czynników przeciwwirusowych, a z drugiej – przekazują sygnały inicjujące (IL-1 β , IL-6) rozwój reakcji zapalnej oraz pobudzają nabywanie swoistej odporności makroorganizmu. Mechanizmy te nie są jednak w stanie samodzielnie zwalczyć toczącego się zakażenia oraz przeciwdziałać rozwojowi klinicznej postaci choroby. Komórki T CD8⁺ są najprawdopodobniej głównie zaangażowane w początkowe fazy rozwoju swoistej odpowiedzi immunologicznej, przyczyniając się do eliminacji wirusa (oraz ograniczenia jego replikacji) poprzez produkcję oraz sekrecję czynników przeciwwirusowych (IFN- γ) i cytotoksycznych, jednak w późniejsze etapy rozwoju swoistej odporności zaangażowane są komórki CD4⁺ oraz uczulone limfocyty B. Zarówno komórki B, jak i T mają zdolność nabywania pamięci immunologicznej, które to właściwości umożliwiają im bardzo szybkie reagowanie na powtórny kontakt z czynnikiem infekcyjnym.

Wykonano pierwsze próby zmierzające do oceny zjawisk rozwoju odporności poszczepiennej oraz pamięci immunologicznej komórek układu odpornościowego w GDO w stosunku do IBV. Okino i wsp. (24), stosując różne dawki wirusa szczepionkowego (szczep H120), stwierdzili, iż pełną protekcję przeciwko zakażeniu szczepem homologicznym uzyskać można jedynie poprzez zastosowanie pełnej dawki (zgodnie z rekomendacją producenta szczepionki) wirusa szczepionkowego. Badacze ci stwierdzili równocześnie sukcesywny wzrost poziomu IgA, IgM oraz IgY w płynie łzowym po szczepieniu 1-dniowych piskląt z wykorzystaniem szczepu H-120. Po wykonanym w 28. dniu zakażeniu kontrolnym z wykorzystaniem homologicznego szczepu M41, 1-5 dni po zakażeniu badacze ci stwierdzili szybki wzrost poziomów swoistych immunoglobulin w popłuczynach z górnych dróg oddechowych oraz bardzo szybką aktywację parametrów odporności komórkowej związanych ze wzrostem ekspresji genów molekuly CD8 oraz czynników cytotoksyczności, takich jak granzymu A czy perforyna, w błonie śluzowej tchawicy. Tak szybka reakcja ze strony układu odpornościowego makroorganizmu wskazywała na nabywanie pamięci immunologicznej przez komórki immunokompetentne po jednokrotnym szczepieniu piskląt w pierwszej dobie życia.

Rola innych narządów makroorganizmu w immunopatogenezie IB

Wirusy IB charakteryzują się bardzo szerokim wachlarzem tropizmu tkankowego, którego zakres w znacznej mierze uzależniony jest od charakteru serotypu (i szczepu) wirusa, co z kolei związane jest bezpośrednio ze strukturą podjednostki S1 białka wypustowego S. Dotychczas większość badań nad immunopatogenezą IB oraz zjawiskami odporności

poszczepiennej w stosunku do wirusów tej choroby wykonano z wykorzystaniem modelowych szczepów ogólnie opisywanych jako klasyczne (wirusy z serotypu Massachusetts oraz Arkansas), wykazujące tropizm głównie do struktur układu oddechowego ptaków.

Z nielicznych badań opisujących zjawiska immunologiczne w innych strukturach makroorganizmu na wyróżnienie zasługuje praca Janse i wsp. (20). Autorzy ci prześledzili oraz zidentyfikowali charakter komórek infiltrujących zrąb nerek jednodniowych kurcząt SPF po zakażeniu nefropatogennym szczepem IBV. Wykazali, iż podobnie jak w strukturach górnych dróg oddechowych, infiltracja komórek immunokompetentnych nasila się między 5. a 11. dniem po zakażeniu ptaków, przy czym w miarę postępującej infekcji zmienia się charakter komórek naciekających zrąb narządu. Podczas gdy liczba komórek T CD4 oraz CD8 pozytywnych oraz fagocytów jednojądrzastych zwiększa się sukcesywnie od 5. do 11. dnia po zakażeniu, komórki B pojawiają się w późniejszej fazie zakażenia (od 11. dnia po zakażeniu). Nasilająca się infiltracja komórek jednojądrzastych była odwrotnie proporcjonalna do możliwości detekcji antygenów wirusa IB w strukturach nerek. Chociaż (zgodnie z najlepszą wiedzą) nie wykonywano dalszych prac nad zjawiskami immunologicznymi w nerkach w przebiegu IB, patrząc na wyżej opisany scenariusz zależności czasowych, można spekulować, iż podobne mechanizmy odpornościowe (do tych opisanych dla górnych dróg oddechowych) zachodzą również w innych strukturach organizmu.

Zakażenie a szczepienie

Biorąc pod uwagę przedstawiony wyżej opis mechanizmów odpornościowych w przebiegu IB, warto zwrócić uwagę na fakt, iż kaskada zjawisk immunologicznych zachodząca po zakażeniu i szczepieniu ptaków wydaje się bardzo zbieżna, co obrazuje w ten sposób poniekąd idealny przykład „kontrolowanego zakażenia pierwotnego”, jakim jest szczepienie z wykorzystaniem żywych, atenuowanych szczepionek przeciwko infekcji zjadliwymi IBV. Rozważając dodatkowo przedstawioną problematykę immunoprofilaktyki oraz immunopatogenezy zakażeń IBV warto wyartykułować, czym, poza niewrażliwością na zakażenie, jest odporność poszczepienna w stosunku do wirusów zakaźnego zapalenia oskrzeli. Jak się okazuje, najważniejsze parametry, jakie powinny być rozpatrywane w kontekście immunologicznych indyktorów protekcji w stosunku do IBV to: stopień aktywacji, swoistość reagowania oraz nabywanie pamięci immunologicznej limfocytów T cytotoksycznych w śledzionie (niewykluczone, że również w innych strukturach) oraz górnych drogach oddechowych, poziom swoistych IgY w surowicy (choć nie jest to parametr jednoznaczny) oraz poziom swoistych przeciwciał (głównie IgA oraz IgY) w popłuczynach z górnych dróg oddechowych.

Tab. 1. Wybrane czynniki oraz ich potencjalny wpływ rzutujący na brak skuteczności szczepienia przeciwko IB lub rozwój choroby „odszczepionkowej” (2, 5, 23, 33)

Czynnik	Potencjalny mechanizm oddziaływania
Dezynfekcja w trakcie inkubacji (parami formaliny)	Uszkodzenie struktur błony śluzowej GDO. Porażenie nieswoistych mechanizmów odporności wrodzonej. Szczepienie piskląt w takich okolicznościach powoduje silne uszkodzenie struktur błon śluzowych GDO oraz płuc.
Przegrzanie w trakcie inkubacji oraz hipertermia powyłęgowa	jw.
Przeziębienie	jw.
Wysokie stężenie gazów szkodliwych w obiektach inwentarskich (amoniak, siarkowodór)	Uszkodzenie struktur tchawicy i płuc. Zaburzenie nieswoistych mechanizmów odporności wrodzonej. Zahamowanie rozwoju narządów immunologicznych oraz zaburzenie proliferacji limfocytów krwi obwodowej. Zaburzenie ekspresji odporności swoistej (m.in. obniżenie poziomów przeciwciał).
Zakażenia immunosupresyjne (m.in. CAV, IBDV)	Zaburzenie funkcjonowania komórek zaangażowanych w odporność nieswoistą (heterofilę) oraz swoistą (limfocyty T i B). Zaburzenia produkcji swoistych przeciwciał oraz czynników przeciwwirusowych. Zaburzenie nabywania pamięci immunologicznej.

Geno-, sero- i protektotypy IB, przyczyny nieskuteczności szczepień

Obecnie złotym standardem postępowania przy projektowaniu programu profilaktyki swoistej w stosunku do IBV jest określenie przynależności (najczęściej) genotypowej terenowego szczepu (z wykorzystaniem technik biologii molekularnej), co umożliwia wybór szczepionki w jak największym stopniu homologicznej w stosunku do zakażającego IBV. Opisywanie przynależności genotypowej odbywa się najczęściej na podstawie analizy sekwencji genu kodującego najbardziej zmienną podjednostkę S1 białka wypustowego S. Jak się jednak okazuje, szczepy należące do heterologicznych genotypów mogą nadal wykazywać protekcję krzyżową w stosunku do siebie. Może to wynikać z faktu, iż pojedyncze mutacje nukleotydów w analizowanym genie S1 nie muszą wpływać na zmianę przynależności antygenowej IBV, a dodatkowo analiza przynależności genotypowej odbywa się jedynie poprzez analizę fragmentu genomu wirusa, nie uwzględniając przy tym udziału innych struktur immunogennych zaangażowanych w rozwój protekcji. Zjawiska te wykorzystywane są w terenowych strategiach uodporniania ptaków przed negatywnymi następstwami zakażenia IBV, w myśl definicji odporności protektotypowej, która zakłada, iż równoczesne wykorzystanie dwóch filogenetycznie niespokrewnionych szczepionkowych szczepów IBV skutkuje rozwojem protekcji krzyżowej w stosunku do szerokiej gamy geno- i serotypów wirusów IB (9, 30, 36). Immunologicznych podstaw skuteczności tej strategii uodporniania można dopatrywać się między innymi w fakcie, iż skutkuje ona silniejszą infiltracją komórek T CD8⁺ oraz produkcją wyższego poziomu IgA w GDO w porównaniu ze szczepionką monowalentną (6).

Dlaczego zatem, pomimo dostępności tak wysublimowanych strategii postępowania oraz powszechności szczepień ptaków przeciwko IB, choroba ta noto-

rycznie notowana jest w wielkotowarowej produkcji drobiarskiej? Podsumowując przedstawiony zarys rozwoju swoistej odporności przeciwko zakażeniu IBV, podjęliśmy próbę prześledzenia różnych (rzadziej omawianych) czynników interferujących, które mogą w konsekwencji doprowadzać do upośledzenia nabywania protekcji na zakażenie terenowe. Abstrahując od zagadnień związanych z aspektami bioasekuracji fermi, techniką szczepienia oraz wyborem szczepionki (lub schematu szczepienia) indukującej odporność krzyżową w stosunku do dominujących w danym terenie szczepów IBV,

wybrane czynniki oraz mechanizm ich potencjalnego wpływu na nieskuteczność szczepienia przeciwko IB lub rozwój choroby „odszczepionkowej” zestawiono w tab. 1.

Zakaźne zapalenie oskrzeli jest jedną z najbardziej znaczących ekonomicznie chorób zakaźnych kur, co przekłada się bezpośrednio na finansowanie projektów naukowych zmierzających do ograniczenia niekorzystnej sytuacji epidemiologicznej, jaka ma miejsce w przypadku IB. Owocem tych badań jest również niniejsze opracowanie podsumowujące obecny stan wiedzy na temat zjawisk immunologicznych zachodzących w przebiegu tej choroby. Z punktu widzenia prezentowanej problematyki oraz biorąc pod uwagę nasycony rynek szczepionek przeciwko IB, w opinii autorów, główne strategie dalszych działań, obok konstrukcji szczepionek stanowiących alternatywę dla konwencjonalnych szczepionek żywych atenuowanych, powinny być ukierunkowane w stronę dogłębnego poznania parametrów immunologicznych będących wykładnikiem protekcji poszczepiennej oraz produkcji na szeroką skalę testów komercyjnych umożliwiających ich rutynową ocenę.

Piśmiennictwo

1. Bande F., Arshad S. S., Bejo M. H., Moeini H., Omar A. R.: Progress and challenges toward the development of vaccines against avian infectious bronchitis. *J. Immunol. Res.* 2015, doi: 10.1155/2015/424860.
2. Beker A., Vanhooser S. L., Swartzlander J. H., Teeter R. G.: Atmospheric ammonia concentration effects on broiler growth and performance. *J. Appl. Poult. Res.* 2004, 13, 5-9.
3. Brownlie R., Allan B.: Avian toll-like receptors. *Cell Tissue Res.* 2011, 343, 121-130.
4. Cavanagh D., Gelb J. J.: Infectious bronchitis, [w]: Saif Y. M., Barnes H. J., Glisson J. R., Fadly A. M., McDougald L. R., Swayne D. (red.): *Diseases of Poultry*, Blackwell Publishing, Ames, USA 2008, s. 117-136.
5. Caveny D. D., Quarles C. L., Greathouse G. A.: Atmospheric ammonia and broiler cockerel performance. *Poult. Sci.* 1981, 60, 513-516.
6. Chhabra R., Forrester A., Lemiere S., Awad F., Chantrey J., Ganapathy K.: Mucosal, cellular and humoral immune responses induced by different live infectious bronchitis virus vaccination regimes and the protection conferred against infectious bronchitis virus Q1 strain. *Clin. Vaccine Immunol.* 2015, pii: CVI.00368-15. [Epub ahead of print].

7. Chubb R. C.: The effect of the suppression of circulating antibody on resistance to the Australian avian infectious bronchitis virus. *Res. Vet. Sci.* 1974, 17, 169-173.
8. Cook J. K. A., Jackwood M., Jones R. C.: The long view: 40 years of infectious bronchitis research. *Avian Pathol.* 2012, 41, 239-250.
9. Cook J. K. A., Orbell S. J., Woods M. A., Huggins M. B.: Breadth of protection of the respiratory tract provided by different live-attenuated infectious bronchitis vaccines against challenge with infectious bronchitis viruses of heterologous serotypes. *Avian Pathol.* 1999, 28, 477-485.
10. Cumming R. B.: The etiology of "uraemia" of chickens. *Aust. Vet. J.* 1962, 38, 554.
11. Dar A., Potter A., Tikoo S., Gerds V., Lai K., Babiuk L. A., Mutwiri G.: CpG oligodeoxynucleotides activate innate immune response that suppresses infectious bronchitis virus replication in chicken embryos. *Avian Dis.* 2009, 53, 261-267.
12. Dar A., Tikoo S., Potter A., Babiuk L. A.: CpG-ODNs induced changes in cytokine/chemokines genes expression associated with suppression of infectious bronchitis virus replication in chicken lungs. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2014, 160, 209-217.
13. Ginkel F. W. van, van Santen V. L., Gulley S. L., Toro H.: Infectious bronchitis virus in the chicken Harderian gland and lachrymal fluid: Viral load, infectivity, immune cell responses, and effects of viral immunodeficiency. *Avian Dis.* 2008, 52, 608-617.
14. Gough R. E., Randall C. J., Dagless M., Alexander D. J., Cox W. J., Pearson D.: A new strain of infectious bronchitis virus infecting domestic fowl in Great Britain. *Vet. Rec.* 1992, 130, 493-494.
15. Guo X., Rosa A. J., Chen D. G., Wang X.: Molecular mechanisms of primary and secondary mucosal immunity using avian infectious bronchitis virus as a model system. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2008, 121, 332-343.
16. Gurjar R. S., Gulley S. L., van Ginkel F. W.: Cell-mediated immune response in the head associated lymphoid tissues induced to a live attenuated avian coronavirus vaccine. *Dev. Comp. Immunol.* 2013, 41, 715-722.
17. Herdt P. de, Ducatelle A. R., Uytendaele A. E., Sneepe A., Torbeyns R.: Infectious bronchitis serology in broilers and broiler breeders: correlations between antibody titers and performance in vaccinated flocks. *Avian Dis.* 2001, 45, 612-619.
18. Jackwood M. W.: Review of infectious bronchitis virus around the world. *Avian Dis.* 2012, 56, 634-641.
19. Jackwood M. W., Hall D., Handel A.: Molecular evolution and emergence of avian gammacoronaviruses. *Infect. Genet. Evol.* 2012, 12, 1305-1311.
20. Janse E. M., van Roozelaar D., Koch G.: Leukocyte subpopulations in kidney and trachea of chickens infected with infectious bronchitis virus. *Avian Pathol.* 1994, 23, 513-523.
21. Kameka A. M., Haddadi S., Kim D. S., Cork S. C., Abdul-Careem M. F.: Induction of innate immune response following infectious bronchitis coronavirus infection in the respiratory tract of chickens. *Virology* 2014, 114, 450-451.
22. Kint J., Fernandez-Gutierrez M., Maier H. J., Britton P., Langereis M. A., Koumans J., Wiegertjes G. F., Forlenza M.: Activation of the chicken type I interferon response by infectious bronchitis coronavirus. *J. Virol.* 2014, 89, 1156-1167.
23. Matteo A. M. di, Soñez M. C., Plano C. M., von Lawzewitsch I.: Morphologic observations on respiratory tracts of chickens after hatchery infectious bronchitis vaccination and formaldehyde fumigation. *Avian Dis.* 2000, 44, 507-518.
24. Okino C. H., Alessi A. C., Montassier M. S., Rosa A. J., Wang X., Montassier H. J.: Humoral and Cell-Mediated Immune Responses to Different Doses of Attenuated Vaccine Against Avian Infectious Bronchitis Virus. *Viral Immunol.* 2013, 26, 259-267.
25. Okino C. H., dos Santos I. L., Fernando F. S., Alessi A. C., Wang X., Montassier H. J.: Inflammatory and cell-mediated immune responses in the respiratory tract of chickens to infection with avian infectious bronchitis virus. *Viral Immunol.* 2014, 27, 383-391.
26. Pei J., Briles W. E., Collisson E. W.: Memory T cells protect chicks from acute infectious bronchitis virus infection. *Virology* 2003, 306, 376-384.
27. Raj G. D., Jones R. C.: Effect of T-cell suppression by cyclosporin on primary and persistent infections of infectious bronchitis virus in chickens. *Avian Pathol.* 1997, 26, 257-276.
28. Roedel H. van, Clarke M. K., Bullis K. L., Olesiuk O. M., Sperling F. G.: Infectious bronchitis. *Am. J. Vet. Res.* 1951, 12, 140-146.
29. Schalk A. E., Hawn M. C.: An apparently new respiratory disease of baby chicks. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1931, 78, 413-422.
30. Terregino C., Toffan A., Beato M. S., De Nardi R., Vascellari M., Meini A., Ortali G., Mancin M., Capua I.: Pathogenicity of a QX strain of infectious bronchitis virus in specific pathogen free and commercial broiler chickens, and evaluation of protection induced by a vaccination programme based on the Ma5 and 4/91 serotypes. *Avian Pathol.* 2008, 37, 487-493.
31. Vervelde L., Matthijs M. G. R., van Haarlem D. A., de Wit J. J., Jansen C. A.: Rapid NK-cell activation in chicken after infection with infectious bronchitis virus M41. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2013, 151, 337-341.
32. Watrang E., Dalgaard T. S., Norup L. R., Kjærup R. B., Lundén A., Juul-Madsen H. R.: CD107a as a marker of activation in chicken cytotoxic T cells. *J. Immunol. Methods* 2015, 419, 35-47.
33. Wei F. X., Hu X. F., Xu B., Zhang M. H., Li S. Y., Sun Q. Y., Lin P.: Ammonia concentration and relative humidity in poultry houses affect the immune response of broilers. *Genet. Mol. Res.* 2015, 14, 3160-3169.
34. Wickramasinghe I. N., van Beurden S. J., Weerts E. A., Verheije M. H.: The avian coronavirus spike protein. *Virus Res.* 2014, 19, 37-48.
35. Winterfield R. W., Hitchner S. B.: Etiology of an infectious nephritis-nephrosis syndrome of chickens. *Am. J. Vet. Res.* 1962, 23, 1273-1279.
36. Wit J. J. de, Cook J. K. A., van der Heijden H. M.: Infectious bronchitis virus variants: a review of the history, current situation and control measures. *Avian Pathol.* 2011, 40, 223-235.

Adres autora: dr Marcin Śmialek, ul. Oczapowskiego 13/13, 10-719 Olsztyn; e-mail: marcin.smialek@uwm.edu.pl