

УДК: 578.834.11:636.09

## **ИНФЕКЦИОННЫЙ БРОНХИТ КУР И ЕГО СПЕЦИФИЧЕСКАЯ ПРОФИЛАКТИКА**

**Е. Р. Нуралиев**, гл. ветврач птицефабрики ТОО агрофирмы «Акас»

**Ж. Ж. Колонбаев**, гл. ветврач ТОО «Гусейн»

**Г. Г. Есенгалиев**, кандидат ветеринарных наук

Западно-Казахстанский аграрно-технический университет имени Жангир хана

*Мақалада дәстүрлі вакциндік препараттарды қолдану арқылы тауықтардың жұқпалы бронхитінің алдын алудағы оңтайлы әдісін анықтау кезіндегі зерттеу нәтижелері көрсетілген. Тауықтардың жұқпалы бронхитінің бөтекелік түрінде 2 - і сызба бойынша вакцинациялауды суару әдісі арқылы жүргізу, 1 - і сызбаға сәйкес жүргізілетін аэрозольдік вакцинациялау әдісіне қарағанда, тиімділігі жоғары екендігі анықталған.*

*Изложены результаты исследований по изучению оптимальной схемы вакцинопрофилактики инфекционного бронхита кур с использованием традиционных вакцинных препаратов. Установлено, что вакцинация методом выпойки по 2 - ой схеме наиболее эффективна при почечной форме инфекционного бронхита кур, по сравнению спрей - методом иммунизируемой по 1 - ой схеме.*

*The results of researches are expounded on the study of optimum chart of vaccination of infectious bronchitis smoked with the use of traditional vaccine preparations. It is set that vaccination by the method of drinking water for 2 most effective chart at the kidney form of infectious bronchitis of hens, on comparison of spray - by a method immunized for 1 to the chart.*

Развитие промышленного птицеводства неизбежно сопровождается концентрацией поголовья птицы и увеличением заболеваемости инфекционными болезнями, в том числе и инфекционным бронхитом кур. Инфекционный бронхит кур регистрируется во многих странах мира, где птицеводство поставлено на промышленную основу. Инфекционный бронхит кур существенно влияет на экономическую эффективность отрасли и борьба с ним является одной из приоритетных задач в каждом птицеводческом хозяйстве.

Инфекционный бронхит кур (ИБК) – остропротекающая, высококонтагиозная болезнь, характеризующаяся поражением органов дыхания у молодняка и репродуктивных органов у кур – несушек с длительным снижением яйценоскости, а также нефрито - нефрозным синдромом [1].

Возбудитель ИБК – коронавирус – чрезвычайно изменчив. Небольшие замены в гене S1 приводят к появлению новых антигенных вариантов вируса, что осложняет борьбу с инфекционным бронхитом кур [2, 3].

Одной из особенностей инфекционного бронхита кур заключается в том, что вакцинопрофилактика не всегда обеспечивает надежную защиту птицепоголовья. Одна из причин этого – высокая генетическая изменчивость вируса, приводящая к появлению большого количества серотипов, перекрестная защита между которыми часто слабая либо отсутствует [3, 4].

Известно много штаммов вируса инфекционного бронхита кур (около 30 серотипов: Массачусетс, Коннектикут, Айова - 97, Грей и др.), поэтому специфические антитела к вирусу ИБК по сравнению с антигенами других болезней образуются гораздо медленнее [5].

В связи с широкой антигенной вариабельностью вируса ИБК созданные и применяемые против этой болезни вакцины еще не могут обеспечить защиту от нее птицы [4, 6]. Важным условием эффективной профилактики ИБК является соответствие антигенных свойств полевых изолятов возбудителя и штаммов, используемых для изготовления вакцины [4].

С каждым годом увеличивается поголовье выращиваемой птицы, увеличивается спектр используемых кроссов, как за счет ввоза новых из-за рубежа, так и за счет селекции отечественных, наряду с этим производится завоз племенного яйца из племптицеводов, неблагополучных по ИБК. В связи с этим возросла опасность возникновения и быстрого распространения инфекционного бронхита кур. Экономический ущерб, причиняемый ИБК, весьма значителен из-за гибели эмбрионов и цыплят, вынужденной выбраковки птицы, снижения яйценоскости, качества инкубационных и пищевых яиц, а также затрат на ограничительные мероприятия в неблагополучных хозяйствах [1].

Причиной такого положения является многообразие факторов, приводящих к возникновению заболеваний, а также ограниченные приспособительные способности организма животных и среди них, особое значение имеет неразвитая иммунная система. Так, в промышленном птицеводстве на смену старым кроссам приходят высокопродуктивные и быстрорастущие кроссы цыплят-бройлеров, которые успевают пройти стадию роста, но не развития. Несформированная иммунная и ферментная системы делают их высокочувствительными к возбудителям инфекционных болезней [7].

Известно, что благоприятными условиями для развития вируса являются нарушенный температурно – влажностный режим содержания птицы, повышенная скученность кур, а также недостаточная вентиляция помещения, где содержится птица. При нарушении технологии содержания и кормления птиц, а также при других стрессовых ситуациях снижается общая резистентность организма [1, 7].

Следует отметить, что среди всех болезней птиц инфекционный бронхит считается самой заразной. Опасность инфекционного бронхита заключается в том, что его распространению не всегда могут помешать санитарные мероприятия. Независимо от того, какие санитарные условия созданы при содержании птицы, и даже несмотря на принятые карантинные меры, во время эпидемии поголовье цыплят инфицируется ею стопроцентно [7].

В естественных условиях к вирусу ИБК восприимчивы куры любого возраста, но наиболее уязвимы к нему 20-30-ти дневные цыплята. Основным источником инфекционного бронхита кур служат больные и переболевшие цыплята и куры, которые выделяют вирус во внешнюю среду или остаются вирусоносителями до 105 дней после переболевания [1, 5].

Выделение вируса из организма больной птицы происходит со слюной, истечениями из носа и глаз, с фекалиями. Птица заражается, в основном, аэрогенным путем, а также при приеме инфицированного корма и воды. На степень распространения болезни влияют концентрация птицы, ее возраст, состояние микроклимата и кормления, прививки живыми вакцинами. В неблагополучных по ИБК хозяйствах цыплята и куры становятся чрезвычайно чувствительными к возбудителям других инфекционных болезней (эшерихиоз, инфекционный ларинготрахеит, респираторный микоплазмоз и др.) [1].

Наиболее характерным, типичным признаком инфекционного бронхита кур является резкий спад яичной продуктивности кур - несушек и увеличение количества снесенных некондиционных яиц. Важно отметить также, что некондиционные яйца птица несет не только в период течения болезни, но и на протяжении длительного срока после переболевания данной инфекцией [7]. Признаком того, что куры переболели инфекционным бронхитом, являются деформированные яйца, скорлупа которых имеет перетяжки и отличается повышенной шероховатостью [2].

При естественном заражении длительность инкубационного периода колеблется от 36 ч до 10 суток. На степень проявления клинических признаков болезни оказывают влияние возраст птицы, условия ее содержания и вирулентность циркулирующего в хозяйстве штамма вируса. При инфекционном бронхите отмечают три клинических синдрома [1, 5].

При респираторном синдроме наиболее характерные респираторные признаки наблюдают у молодых цыплят: резкий сухой кашель, затрудненное дыхание (открытые клювы), трахеальные хрипы, истечение из носа, слезотечение, иногда конъюнктивиты, риниты и синуситы. Случается асфиксия, обусловленная блокированием нижних отделов трахеи и

бронхов пробками слизи. При этой форме среди молодняка, возраст которого не превышает 3 недель, отмечается высокая заболеваемость, болезнь протекает в основном остро, летальность порой достигает 90 %. Заражение в возрасте до 2-х недель приводит к задержке роста яичника и яйцевода.

Репродуктивный синдром обычно регистрируется у кур старше 6 мес. При этой форме у кур - несущек изменения наблюдаются только в яичнике и яйцеводе, снижение яйценоскости может составить 35-50 %, яйца с водянистым содержимым, нарушенной скорлупой. Яичник при этом уменьшается в объеме, сокращается длина яйцевода. Иногда наблюдается частичное или полное закрытие яйцевода. Если яичник развит нормально, яйца скапливаются в этом случае в брюшной полости. При инфантилизме яичника и яйцевода нарушается формирование яиц [4, 5].

Известно, что снижение яичной продуктивности сопровождается деформацией и обесцвечиванием скорлупы, разжижением яичного белка и снижением выводимости. Больные куры несут деформированные с ребристой скорлупой яйца ("уродливые"), иногда с плоскими участками на скорлупе, окруженными плотным валиком, с отходящими от него морщинистыми складками скорлупы. Яйца с таким отложением получили название "Солнышко" или "Зеркальце" [2, 7].

В хозяйствах часто приходится встречать почечную форму инфекционного бронхита. Ее практически можно обнаружить с 2-3 - до 230 - 250 - дневного возраста. В таких случаях обычно у больных птиц отмечают депрессию и диарею с примесью уратов в помете.

Патологический процесс протекает в три стадии и способен повторяться снова. Вначале регистрируется нефрит, затем в почках развиваются дистрофические процессы, часто сопровождающиеся внутриклеточной подагрой ("мраморная почка"). После этого часть почки отмирает и рассасывается, оставшая часть восстанавливается до вида нормальной ткани. Процесс часто повторяется в той же последовательности: нефрит - нефроз - частичная атрофия почки.

Когда инфекционный процесс протекает с нефритом - нефрозным синдромом, то при вскрытии павших цыплят и взрослых кур в почках находят отложение большого количества мочекислых солей. При этом почки увеличены, на разрезе видны сосудистые клубочки в виде серых песчинок, мочеточники растянуты и заполнены беловатой массой. У отдельных цыплят наблюдается отложение мочекислых солей в печени и перикарде. Течение болезни острое. При первичной циркуляции вируса в хозяйстве летальность птицы при этой форме болезни достигает 57-70 % [1, 5, 7].

В настоящее время для специфической профилактики инфекционного бронхита кур применяют живые и инаktivированные вакцины [4, 5, 7, 8].

Как правило, защита птицепоголовья основана на применении живых и инаktivированных вакцин против ИБК из штаммов серотипа Массачусетс. Их протективная активность против гомологичных полевых изолятов хорошо изучена, однако они обеспечивают лишь частичную защиту от заражения вариантными вирусами ИБК (70 % защиты от вирусов, относящихся к группе QX, 60 % – от австралийских вариантов) [8].

Соотношения между штаммами возбудителя, вызывающими вспышки ИБК, регулярно изменяются, появляются новые их варианты. Следовательно, традиционный подход к использованию вакцин не может гарантировать полной защиты от ИБК, а для создания биопрепарата против нового штамма необходимы длительные исследования. Остается единственный выход – найти оптимальную вакцину с наиболее широким спектром защиты или подобрать схему профилактики из уже имеющихся в наличии. Причем это необходимо делать до возникновения болезни, то есть именно профилактировать возможные проявления вариантных штаммов ИБК [6].

К тому же в одном хозяйстве могут одновременно циркулировать штаммы вируса, относящиеся к разным серотипам [2], что требует модификации программ иммунизации.

Из литературных данных известно, что регулярное применение в хозяйстве живых вакцин серотипа Массачусетс с интервалом в 1 мес способствует образованию у птицы перекрестного иммунитета к другим серотипам. Установлено также, что вакцины, приготовленные из штамма H-120, обладают наиболее широким спектром протективной активности и индуцируют

напряженный иммунитет против гомологичного серотипа Массачусетс и частичный перекрестный иммунитет против гетерологичных серотипов, в том числе нефропатогенных [5].

Практика борьбы с инфекционным бронхитом кур показала, что своевременная диагностика данного заболевания, включающая не только идентификацию возбудителя, но и штаммовую дифференциацию (вакцинный или полевой вирус) и серотипирование, имеет важное значение при выборе оптимальных схем профилактики [4].

В настоящее время в мировой науке придерживаются мнения, что погоня за созданием новых вакцин, гомологичных стремительно появляющимся вариантным штаммам вируса, неконструктивна и стратегия борьбы в обозримом будущем будет базироваться на использовании традиционных вакцин и оптимизации общепринятых методов их применения [6].

Исходя из вышеизложенного, целью нашей работы являлось разработка оптимальной схемы вакцинопрофилактики инфекционного бронхита кур с использованием традиционных вакцинных препаратов, чтобы обеспечить надежную защиту птицепоголовья от данного заболевания.

**Материалы и методы.** В период с 2009 по 2010 г.г. на птицефабрике агрофирмы «Акас» Зеленовского района Западно-Казахстанской области нами проведены производственные опыты по изысканию наиболее приемлемой схемы вакцинации против инфекционного бронхита кур. В производственном опыте по вакцинации кур кросса «Родонит 3» против ИБК использовали сухую живую вакцину против инфекционного бронхита кур из штамма Н-120 и инактивированную трехвалентную вакцину против ИБК, НБ и ССЯ-76 производства НПП «АВИВАК».

Для опыта подобрали птичник разделенный на два аналогичных боксов, в цехе № 2 молодняк цыплят в количестве 7760 голов вакцинировали спрей-методом четырехкратно сухой живой вакциной из штамма Н-120 против ИБК по 1-ой схеме и в цехе № 6 по 2-ой схеме суточных цыплят в количестве 7765 голов вакцинировали первоначально спрей - методом путем мелкокапельного распыления сухой живой вакциной из штамма Н-120 против ИБК, затем ревакцинацию производили методом выпойки четырехкратно этой же вакциной.

С целью защиты птиц от вариантного штамма вируса ИБК на весь продуктивный период последующую ревакцинацию подросшего молодняка цыплят в обоих цехах производили при переводе их в зону родительского стада в 90 - дневном возрасте инактивированной трехвалентной вакциной против ИБК, НБ, и ССЯ - 76 производства НПП «АВИВАК». Цыплятам в обоих цехах были созданы аналогичные условия содержания, кормления и световой режим.

Диагноз на инфекционный бронхит кур ставили комплексно, с учетом эпизоотологических данных, клинических признаков, результатов патологоанатомического вскрытия павшей и вынужденно убитой птицы, а также результатов лабораторных исследований. Одновременно учитывали условия содержания птицы и полноценность рационов.

**Результаты исследований и обсуждение.** В цехе № 2 по 1-ой схеме нами проведена вакцинация молодняка цыплят спрей - методом путем мелкокапельного распыления. Вакцинацию спрей-методом молодняку цыплят производили четырехкратно - первую вакцинацию цыплят проводили в 4-х дневном возрасте живой вирусвакциной из штамма Н - 120, затем ревакцинировали в 21 - дневном, 56 - дневном и 72 - дневном возрасте этой же вакциной.

При мелкокапельном распылении – 1000 доз сухой живой вакцины из штамма Н-120 для суточных цыплят разводили в 0,25 л чистой профильтрованной воде, для более старшей птицы – 1 л воды. Для распыления вакцины использовали специальный опрыскиватель типа «МИУРА», используемый только для вакцинации, обеспечивающий образование капель размером 15-50 мкм. Во время вакцинации спрей – методом отключили систему вентиляции, закрыли вентиляционные отверстия, снизили уровень освещения. Разведенную вакцину при тусклом освещении распыляли над соответствующим количеством птицы с расстояния 30 - 40 см таким образом, чтобы вакцина попадала одинаково на всю птицу. После распыления в течение 15 минут проводили экспозицию и удостоверяли факт правильности проведенной вакцинации. Контролем правильно проведенной иммунизации служило намокшее оперение

головы всей птицы. Через 15 минут после окончания вакцинации включили систему вентиляции, восстановили уровень освещения. После завершения вакцинации опрыскиватель ополаскивали чистой водопроводной водой, без добавления дезинфицирующих средств.

Как известно, после применения сухой живой вакцины из штамма Н-120 индуцируется местный клеточный иммунитет в респираторной системе без проявления нежелательных поствакцинальных реакций, который играет решающую роль в защите птиц от заражения вирусом ИБК [6].

В дальнейшем подращенный молодняк цыплят при переводе в зону родительского стада в 90 – дневном возрасте ревакцинировали инаktivированной трехвалентной вакциной против ИБК, НБ, и ССЯ – 76 производства НПП «АВИВАК» в дозе 0,5 см<sup>3</sup> на голову внутримышечно в области груди.

Известно, что введение цыплятам инаktivированной вакцины из антигенно различных штаммов, создает у них напряженный длительный иммунитет против серотипа Массачусетс и “вариантных” серотипов ИБК, циркулирующих на территории данного региона, ранее иммунизированной живой вакциной из штамма Н-120 [5].

С целью создания местного (клеточного) иммунитета в слизистых оболочках верхней и нижней части трахеи и блокирования ворот инфекции, для предотвращения проникновения антигенно отличных штаммов вируса ИБК через респираторный и пищеварительный тракты нами в цехе № 6 по 2-ой схеме проведена вакцинация суточных цыплят в количестве 7765 сухой живой вирусвакциной из штамма Н-120 первоначально спрей - методом путем мелкокапельного распыления. Затем последующую ревакцинацию молодняка цыплят производили четырехкратно сухой живой вакциной из штамма Н-120 методом выпойки с питьевой водой в возрасте 14, 25, 56 и 70 дней.

За сутки до применения вакцины проводили определение объема воды, выпиваемой птицей за 1-2 часа в мл на 1 голову. На следующий день вакцину разводили с таким расчетом, чтобы в объеме воды, выпиваемой птицей за один - два часа содержалась 1 доза вакцины на 1 голову. Пробку флакона каждой вакцины открывали, держа ее погруженной в чистой профильтрованной воде. Перед вакцинацией птиц выдерживали без воды в течение 2 часов. Вакцинацию молодняка цыплят сухой живой вакциной из штамма Н-120 производили методом выпойки с питьевой водой с помощью ниппельных поилок через дозатор. Для свободного доступа всего иммунизируемого птицепоголовья к разведенной вакцине, обеспечили их достаточным количеством ниппельных поилок. Дачу корма и воды птице после выпаивания вакцины разрешили через 2 часа.

Последующую ревакцинацию молодняка цыплят производили при переводе в зону родительского стада в 90 - дневном возрасте инаktivированной трехвалентной вакциной против ИБК, НБ и ССЯ - 76 производства НПП «АВИВАК» в дозе 0,5 см<sup>3</sup> на голову внутримышечно в области груди.

Сравнительный анализ продуктивности кур - несушек кросса «Родонит 3» в результате проведения вакцинопрофилактики по двум разработанным схемам приведены в таблице 1.

Из данных, представленных в таблице 1 видно, что наиболее высокая продуктивность кур – несушек наблюдалась в цехе № 6, где вакцинацию против ИБК производили методом выпойки по 2-ой схеме. Так, в этом цехе яйценоскость на начальную кур - несушку повысилась на 14,6 %, сохранность на 0,7 % и получено товарных яиц на 3,7 % больше, чем в цехе № 2 вакцинированной спрей – методом по схеме № 1.

Наряду с этим за весь производственный цикл (13 мес) в цехе № 6 после вакцинации наблюдали тенденцию к снижению насечки яиц на 1,7 %, боев яиц на 0,8 %, загрязненных яиц на 1,2 %, а вынужденный убой птиц сократился на 2,3 % по сравнению с цехом № 2.

При этом следует отметить, что в цехе № 6 получено на 285673 яиц больше, чем в цехе № 2 и получено дополнительной прибыли в сумме 2856730 тенге.

При патологоанатомическом вскрытии павших птиц из цеха № 2, вакцинированных спрей – методом по схеме № 1 отмечали явные патологоанатомические признаки свойственные почечной форме инфекционного бронхита кур: почки увеличены, набухшие, дряблые, с пестрым рисунком вследствие скопления в канальцах уратов (рисунок 1).

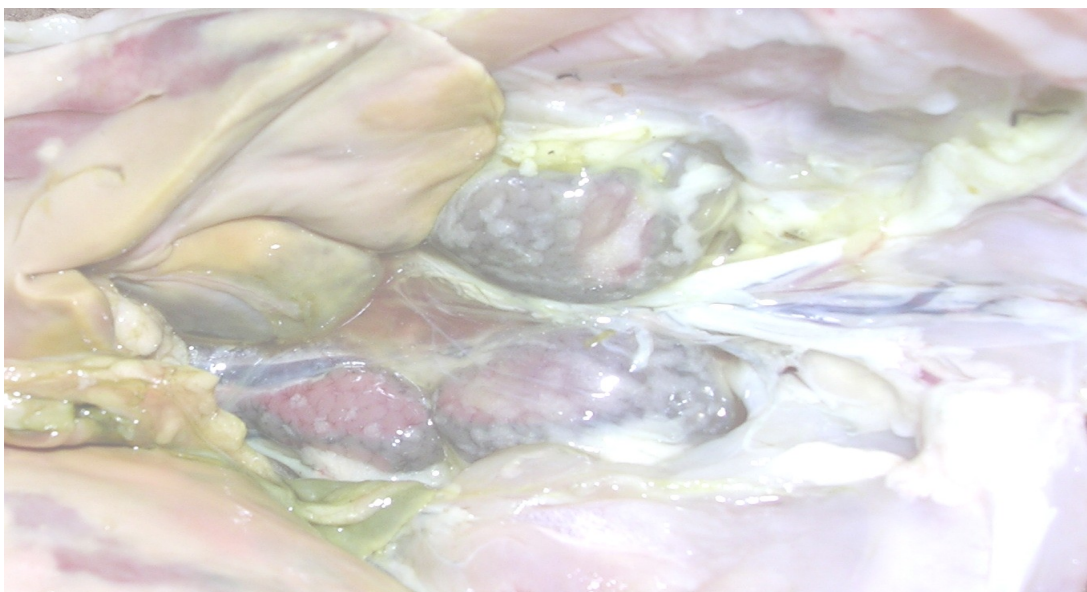
Одновременно при вскрытии павшей птицы из цеха № 6, вакцинированных методом выпойки по схеме № 2, характерных для почечной формы инфекционного бронхита кур признаков не обнаружили.

**Таблица 1 - Показатели продуктивности кур – несушек кросса «Родонит 3» в возрасте 6-18 месяцев в результате применения различных схем вакцинопрофилактики против инфекционного бронхита кур на птицефабрике агрофирмы «Акас».**

| Показатели                                                | Вакцинация птицепоголовья, цеха № 2 спрей-методом (1-ая схема) |      | Вакцинация птицепоголовья, цеха № 6 методом выпойки (2-ая схема) |      |
|-----------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|------|------------------------------------------------------------------|------|
|                                                           | количество                                                     | %    | количество                                                       | %    |
| Поголовье кур-несушек на начало опыта, гол.               | 7760                                                           | -    | 7765                                                             | -    |
| Сохранность поголовья, гол.                               | 7252                                                           | 93,4 | 7305                                                             | 94,1 |
| Количество в/убитых кур-несушек за опыт, гол.             | 1359                                                           | 17,5 | 1187                                                             | 15,2 |
| Количество снесенных яиц всего, шт.                       | 1962301                                                        | -    | 2247974                                                          | -    |
| Яйценоскость на кур-несушку, шт.                          | 252                                                            | -    | 289                                                              | -    |
| В.т.ч. бой яиц, шт.                                       | 70565                                                          | 3,6  | 63003                                                            | 2,8  |
| В.т.ч. насечка яиц, шт.                                   | 121529                                                         | 6,2  | 101255                                                           | 4,5  |
| В.т.ч. загрязненных яиц, шт.                              | 168759                                                         | 8,6  | 166613                                                           | 7,4  |
| В.т.ч. товарных яиц, шт.                                  | 1601448                                                        | 81,6 | 1917103                                                          | 85,3 |
| Примечание: учет продуктивности кур-несушек за 13 месяцев |                                                                |      |                                                                  |      |

Полученные результаты с учетом клинической картины, патологоанатомических изменений и сравнении продуктивности кур - несушек при применении различных схем вакцинопрофилактики против инфекционного бронхита кур послужили заключить, что на данном предприятии причиной падежа птиц явилась почечная форма ИБК.

В процессе оптимизации схем вакцинации против ИБК были учтены эпизоотическая ситуация предприятия и результаты патологоанатомических изменений и диагностических исследований.



**Рисунок 1 – Почечная форма инфекционного бронхита кур**

Таким образом, обобщая результаты полученных исследований, можно сделать вывод, что вакцинация методом выпойки по 2-ой схеме наиболее эффективна, создает длительный и напряженный иммунитет, обеспечивающий надежную защиту птицепоголовья от почечной формы инфекционного бронхита кур. При этом следует отметить, что вакцинация спрей - методом по 1 - ой схеме оказалась менее эффективной при почечной форме инфекционного бронхита кур.

**Выводы:** На основании полученных результатов для специфической профилактики инфекционного бронхита кур рекомендуем производить вакцинацию птицепоголовья методом выпойки по 2-ой схеме. Одновременно следует проводить общие ветеринарно-санитарные мероприятия и меры по улучшению содержания и кормления птиц.

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Инфекционные болезни животных. Учебник. Под ред. А. А. Сидорчука. - М.: «Колос», - 2007. – С. 448-453.
2. Cavanagh, D. Infectious bronchitis / D. Cavanagh, S. A. Naqi // Diseases of Poultry. - Ames, Iowa. -2003, P. 101-119.
3. Ignjatov, J. Isolation of a variant infectious bronchitis virus in Australia that further illustrates diversity among emerging strain / J. Ignjatovic, G. Gould, S. Sapats et al. // Arc. Virol. – 2006. Vol. 151, P. 1567-1585.
4. Бочков, Ю.А. Диагностика инфекционного бронхита кур / Ю. А. Бочков, А. В. Борисов, С. В. Фролов, В. В. Дрыгин, В. Н. Ирза, Г. В. Батченко, Н. Н. Луговская, Е. В. Овчинникова // Ветеринария. – 2003. - №4. – С. 21-24.
5. Борисов, А. В. Инфекционный бронхит кур / А. В. Борисов, С. В. Фролов, Т. Хлыбова, В. В. Борисов, В. Н. Ирза, Л. Венгеренко // Птицеводство. – 2001. - №6. – С. 24-27.
6. Каспарьянц, С. А. Вакцина Пулвак 1В Праймер против вариантных штаммов вируса инфекционного бронхита кур / С. А. Каспарьянц, А. Д. Чекмарёв // Ветеринария. – 2009. - №1. – С. 15-16.
7. Хохлачев, О. Ф. Ассоциированное течение инфекционного бронхита и синдрома снижения яйценоскости кур / О. Ф. Хохлачев, А. Б. Терюханов // Ветеринария. – 2005. - №11. – С. 12-16.
8. Cook, J. K. A. Breadth of protection of the respiratory tract provided by different live-attenuated infectious bronchitis vaccines against challenge with infectious bronchitis viruses of heterologous serotypes / J. K. A. Cook, S.J. Orbell, M. Woods and M. Huggins // Avian Pathology. – 2006. Vol. 28, P. 477 - 485.