

Гетерогенность вирусной популяции при инфекционном бронхите кур

Е. В. Овчинникова¹, Л. О. Щербакова², С. Н. Колосов³, А. Н. Андриясова⁴, Н. Г. Зиняков⁵,
З. Б. Никонова⁶, А. А. Козлов⁷, П. Б. Акшалова⁸, Д. А. Алтунин⁹, Д. Б. Андрейчук¹⁰

ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»), г. Владимир, Россия

¹ ORCID 0000-0001-5501-4432, e-mail: ovchinnikova@arriah.ru

² ORCID 0000-0001-5434-6179, e-mail: scherbakova@arriah.ru

³ ORCID 0000-0002-8467-180X, e-mail: kolosov@arriah.ru

⁴ ORCID 0000-0002-5335-3534, e-mail: andriyasova_an@arriah.ru

⁵ ORCID 0000-0002-3015-5594, e-mail: zinyakov@arriah.ru

⁶ ORCID 0000-0003-0090-9399, e-mail: nikonova@arriah.ru

⁷ ORCID 0000-0002-1466-7602, e-mail: kozlov_aa@arriah.ru

⁸ ORCID 0000-0003-1520-1887, e-mail: akshalova@arriah.ru

⁹ ORCID 0000-0002-7510-9292, e-mail: altunin@arriah.ru

¹⁰ ORCID 0000-0002-1681-5795, e-mail: andreychuk@arriah.ru

РЕЗЮМЕ

Инфекционный бронхит кур является одной из наиболее распространенных вирусных инфекций, наносящих огромный экономический ущерб птицеводству во всем мире. По причине отсутствия механизмов коррекции во время репликации генома вирус может быстро мутировать и генерировать новые штаммы. Этому способствует широкое использование живых вакцин, одновременная циркуляция полевых вирусов, относящихся к разным серотипам в одном стаде, и быстрое распространение вируса. Проведенные ранее исследования выявленных на птицефабриках Российской Федерации штаммов и изолятов вируса инфекционного бронхита кур показали, что 50% положительных проб относятся к вакцинным штаммам 4-91, D274, H-120, Ma5, вторая половина положительных проб представлена полевыми вирусами, которые относятся к 8 генетическим линиям генотипа GI, при этом доминирующей является линия G1-19 (QX). В данной работе представлены результаты по выявлению и генотипированию вируса инфекционного бронхита кур на одной из птицефабрик Саратовской области Российской Федерации в 2018–2019 гг. Внутренние органы, ротоглоточные и клоакальные смывы, кровь отбирали от цыплят и кур-несушек разных возрастов из родительского стада и стада ремонтного молодняка. Выявлены: вакцинный штамм, полевые изоляты генетической линии G1-19 и варианты изоляты, не относящиеся ни к одной из известных генетических линий. Анализ результатов исследований за двухлетний период показал, что важно исследовать пробы, взятые от птиц разного возраста. Инфицируя несколько поколений птиц, вирус изменяется и приспосабливается, порождая новые генетические формы, благодаря чему наблюдается гетерогенность вирусной популяции не только на птицефабрике в целом или в отдельном цехе, но и в одном организме. Выявленные изоляты обладали тропизмом к тканям кишечника, репродуктивных органов и, в единичных случаях, трахеи и легких. Полученные данные свидетельствуют о том, что на птицефабрике, несмотря на применяемую вакцинацию, циркулирует генетически разнородная популяция вируса инфекционного бронхита, при этом инфекция может не проявляться в раннем возрасте, но может повлиять на продуктивность стада в дальнейшем за счет патологических изменений органов репродукции кур-несушек.

Ключевые слова: вирус инфекционного бронхита кур, генетический анализ, генетическая линия, гетерогенность вирусной популяции.

Для цитирования: Овчинникова Е. В., Щербакова Л. О., Колосов С. Н., Андриясова А. Н., Зиняков Н. Г., Никонова З. Б., Козлов А. А., Акшалова П. Б., Алтунин Д. А., Андрейчук Д. Б. Гетерогенность вирусной популяции при инфекционном бронхите кур. *Ветеринария сегодня*. 2020; 1 (32): 44–50. DOI: 10.29326/2304-196X-2020-1-32-44-50.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Овчинникова Евгения Валерьевна, кандидат биологических наук, научный сотрудник референтной лаборатории вирусных болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», 600901, Россия, г. Владимир, мкр. Юрьевец, e-mail: ovchinnikova@arriah.ru.

Heterogeneity of avian infectious bronchitis virus population

Ye. V. Ovchinnikova¹, L. O. Scherbakova², S. N. Kolosov³, A. N. Andriyasova⁴, N. G. Zinyakov⁵,
Z. B. Nikonova⁶, A. A. Kozlov⁷, P. B. Akshalova⁸, D. A. Altunin⁹, D. B. Andreychuk¹⁰

FGBI "Federal Centre for Animal Health", Vladimir, Russia

¹ ORCID 0000-0001-5501-4432, e-mail: ovchinnikova@arriah.ru

² ORCID 0000-0001-5434-6179, e-mail: scherbakova@arriah.ru

³ ORCID 0000-0002-8467-180X, e-mail: kolosov@arriah.ru

⁴ ORCID 0000-0002-5335-3534, e-mail: andriyasova_an@arriah.ru

⁵ ORCID 0000-0002-3015-5594, e-mail: zinyakov@arriah.ru

⁶ ORCID 0000-0003-0090-9399, e-mail: nikonova@arriah.ru

⁷ ORCID 0000-0002-1466-7602, e-mail: kozlov_aa@arriah.ru

⁸ ORCID 0000-0003-1520-1887, e-mail: akshalova@arriah.ru

⁹ ORCID 0000-0002-7510-9292, e-mail: altunin@arriah.ru

¹⁰ ORCID 0000-0002-1681-5795, e-mail: andreychuk@arriah.ru

SUMMARY

Avian infectious bronchitis is one of the most common viral infections causing enormous economic losses in the global poultry industry. Due to the lack of mechanisms to correct errors during genome replication, the virus can quickly mutate and generate new strains. This is facilitated by widespread use of live vaccines, simultaneous circulation of field viruses belonging to different serotypes in one flock and rapid spread of the virus. Previous studies of avian infectious bronchitis virus strains and isolates identified in the Russian Federation poultry farms showed that 50% of samples tested positive for the 4-91, D274, H-120, Ma5 vaccine strains, and the other half of samples tested positive for the field viruses belonging to eight G1 genetic lineages, while the G1-19 (QX) lineage was dominant. The paper presents identification and genotyping results of the avian infectious bronchitis virus in one of the poultry farms in the Saratov Oblast (the Russian Federation) in 2018–2019. The samples of internal organs and blood, as well as oropharyngeal and cloacal swabs were taken from chicks and layers of different ages in the parent and replacement flocks. The vaccine strain, G1-19 field isolates and variant isolates that do not belong to any of the known genetic lineages were detected. Analysis of test results within a two-year period showed that it is important to study samples taken from birds of different ages. The virus undergoes modification and adaptation inducing new genetic forms by infecting several poultry generations, due to which the heterogeneity of the virus population is observed not only in the poultry farm as a whole or in a separate department, but also within one organism. The identified isolates showed tropism for the tissues of intestine, reproductive organs, and, in rare cases, trachea and lungs. The data obtained indicate that, despite the vaccination used, a genetically diverse population of the infectious bronchitis virus circulates in the poultry farm, while the infection may not manifest itself at an early age, but may affect the flock productivity in the future due to pathological changes in the reproductive organs of laying chickens.

Key words: avian infectious bronchitis virus, genetic analysis, genetic lineage, virus population heterogeneity.

For citation: Ovchinnikova Ye. V., Scherbakova L. O., Kolosov S. N., Andriysova A. N., Zinyakov N. G., Nikonova Z. B., Kozlov A. A., Akshalova P. B., Altunin D. A., Andreychuk D. B. Heterogeneity of avian infectious bronchitis virus population. *Veterinary Science Today*. 2020; 1 (32): 44–50. DOI: 10.29326/2304-196X-2020-1-32-44-50.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

For correspondence: Yevgenia V. Ovchinnikova, Candidate of Science (Biology), Researcher, Reference Laboratory for Avian Viral Diseases, FGBI "ARRIAH", 600901, Russia, Vladimir, Yur'evets, e-mail: ovchinnikova@arriah.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Инфекционный бронхит кур (ИБК) является одной из наиболее важных вирусных инфекций, которые наносят огромный экономический ущерб птицеводству во всем мире. Возбудителем болезни является РНК-содержащий вирус порядка *Nidovirales*, семейства *Coronaviridae*, рода *Coronavirus*, который может быстро мутировать по причине отсутствия механизмов коррекции во время репликации генома, т. е. способен генерировать новые штаммы вируса.

Профилактика ИБК, наряду с надлежащими мерами биобезопасности, опирается на рутинную вакцинацию. Однако этому подходу препятствует высокая генетическая изменчивость вируса, приводящая к постоянному появлению новых вариантов, против которых перекрестной защиты может не быть. Защита против определенного варианта может быть достигнута путем применения либо одной вакцины на основе штамма того же генотипа вируса (гомологичная вакцинация), либо нескольких вакцин на основе различных линий, чтобы расширить спектр защиты (гетерологичная вакцинация) [1, 2]. Для этого применяют множество вакцин и схем иммунизации. Однако до сих пор существуют трудности в подборе комбинации аттенуированных гетерологичных вакцинных штаммов вируса, которые обеспечили бы эффективную защиту птицы от заболевания. Несмотря на важное значение для контроля заболевания, широкое использование вакцин против ИБК имеет некоторые существенные недостатки. Живые ат-

тенуированные вакцинные штаммы могут распространяться на непривитые стада, восстанавливать вирулентность, а также становиться участниками естественной рекомбинации. Кроме того, их применение осложняет диагностику ИБК, так как многие выявляемые полевые вирусы близкородственны вакцинным штаммам.

Анализ выявленных на птицефабриках Российской Федерации штаммов и изолятов вируса ИБК показал, что примерно 50% положительных проб относятся к вакцинным штаммам 4-91, D274, H-120, Ma5. Вторая половина положительных проб представлена полевыми вирусами ИБК, которые относятся к 8 генетическим линиям генотипа G1: G1-1 (Macc), G1-12 (D274), G1-13 (793B), G1-14 (B1648), G1-16 (Q1), G1-19 (QX), G1-22, G1-23 (Variant-2). Кроме того, на птицефабриках РФ были выявлены изоляты, являющиеся природными рекомбинантами, и варианты изоляты, не относящиеся ни к одному из известных генотипов. Доминирующей группой является генетическая линия G1-19 (QX) [3].

Клинические проявления ИБК зависят от ряда факторов, в том числе от вирулентности и тропизма вируса. Воратами инфекции являются дыхательные пути, затем вирус ИБК распространяется системно, заражая эпителиальные клетки во многих тканях. Степень выраженности клинических признаков зависит от штамма вируса и условий содержания птицы, таких как микроклимат в птичнике, пыль, плотность посадки, возраст и тип птицы, ее иммунный статус (вакцинация, иммунная супрессия, наличие материнских антител),

наличие сопутствующих инфекций также является важным фактором. Смертность из-за одного только ИБК обычно очень низка, но может быть выше после вторичных бактериальных инфекций [4].

Полевые изоляты генетической линии GI-19 (QX) обладают тропизмом к эпителиальным клеткам практически всех систем органов, тем самым вызывая все возможные синдромы инфекционного бронхита кур. Исследователи описывают вирусы данной генетической линии как респираторные, нефропатогенные, поражающие органы репродукции, также есть сведения о полевых штаммах, вызывающих поражения желудочно-кишечного тракта [5, 6]. Большинство полевых изолятов вируса ИБК были выделены и описаны во время вспышек с острым течением заболевания. Однако известны случаи выявления вируса ИБК генетической линии GI-19 при бессимптомном протекании инфекции или с легкими респираторными расстройствами [7].

Целью данной работы было исследование биологического материала от птиц разных возрастов, содержащихся в разных цехах одной отдельно взятой птицефабрики, на наличие генома вируса ИБК с последующим филогенетическим анализом полученных нуклеотидных последовательностей фрагмента гена S1.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Пробы биологического материала от птиц были исследованы с помощью полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) и ОТ-ПЦР в режиме реального времени (ОТ-ПЦР-РВ) в соответствии с методическими указаниями [8, 9].

Для генотипирования вируса ИБК использовали сравнительный анализ фрагмента гена S1 примерно 500 н. о. (позиция 112–653 н. о. на гене S относительно штамма H120). Для анализа использовали нуклеотидные последовательности прототипных штаммов, предложенных V. Valastro et al. [10].

Определение нуклеотидной последовательности осуществляли по методу Сэнгера с использованием флуоресцентно-меченых терминирующих нуклеотидов на автоматическом секвенаторе ABI Prism 3130 (Applied Biosystems, США) согласно инструкции изготовителя.

Полученные нуклеотидные последовательности сравнивали с последовательностями штаммов вируса ИБК, опубликованными в международной базе данных NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>), с помощью программы BioEdit, версия 7.0.5.3.

Специфические антитела к ИБК в сыворотках крови выявляли с использованием «Набора для определения антител к вирусу инфекционного бронхита кур иммуноферментным методом при тестировании сывороток в одном разведении» производства ФГБУ «ВНИИЗЖ» в соответствии с инструкцией. Учет реакции проводили на спектрофотометре-ридере Тесап (Австрия) при длине волны 405 нм с использованием компьютерной программы «СИНКО-ИФА». Результат реакции считали положительным при величине титра антител 725 и выше.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В ФГБУ «ВНИИЗЖ», с целью исследования на наличие генетического материала вируса ИБК, с одной из птицефабрик Саратовской области была доставлена живая птица: 9 голов ремонтного молодняка и 12 голов кур-несушек родительского стада (табл. 1).

Все эксперименты на животных проводили согласно требованиям Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза от 22 сентября 2010 г. по охране животных, используемых в научных целях.

Во время внешнего осмотра живых птиц в возрасте от 19 до 290 сут, поступивших в декабре 2018 г., и патологоанатомического вскрытия никаких отклонений от нормы выявлено не было. При вскрытии кур в возрасте 361 сут, доставленных в октябре 2019 г., наблюдали наличие множественных кист органов репродукции с водянистым содержимым объемом более 100 мл.

Для исследования методом ПЦР от каждой особи были взяты ротоглоточные, клоакальные смывы и пробы тканей внутренних органов (трахея, легкие, почки, кишечник, репродуктивные органы). На первом этапе работы исследовали пробы тканей внутренних органов птиц, объединенные внутри каждой группы, т. е. 8 проб (табл. 1). Отрицательной в ОТ-ПЦР и ОТ-ПЦР-РВ была объединенная проба № 1 от 19-суточных цыплят из цеха № 4, несмотря на то что вся птица была вакцинирована в суточном возрасте двухкомпонентной вакциной из штаммов H120 и D274 и в 12–14-суточном возрасте вакциной из штамма 4-91 согласно инструкциям производителей. В остальных объединенных пробах (№ 2–8) выявлен геном вируса ИБК (табл. 2). Аналогичные результаты были получены и в результате исследования сыворотки крови методом иммуноферментного анализа (ИФА), когда специфические антитела к вирусу ИБК выявляли у птиц всех групп, кроме первой (табл. 3).

В пробе № 4 выявлен дериват вакцины 4-91 IBV45-18 (нуклеотидная последовательность фрагмента гена S1 имела 99% гомологии с вакцинным штаммом и отличалась от него по 4 н. о.). В научной литературе есть данные о том, что проведение пассажей вакцинных штаммов вируса на живой птице и куриных эмбрионах иногда приводит к единичным нуклеотидным и аминокислотным заменам. Интересно, что один и тот же вакцинный штамм вируса, используемый для производства вакцин разных серий одного или нескольких производителей, мутирует после пассажей по-разному.

Таблица 1
Характеристика поступившей для исследования птицы

Table 1
Characteristics of poultry received for testing

Дата поступления	Номер группы	Птица	Номер цеха	Возраст, сут
12.2018 г.	1	Ремонтный молодняк (по 3 головы от каждого цеха)	4	19
	2		7	60
	3		1	124
	4	Куры-несушки родительского стада кросса Росс ПМЗ (по 2 головы от каждого цеха)	21	192
	5		7	228
	6		15	290
10.2019 г.	7	Куры-несушки родительского стада кросса Росс ПМЗ (по 3 головы от каждого цеха)	1	361
	8		18	361

Эти отличия могут свидетельствовать о разных источниках оригинального вирусного штамма, полученного для производства этой вакцины, а также методах и количестве пассажей вируса, проводившихся для его аттенуации [11].

В остальных положительных пробах выявлены полевые вирусы: три отличающихся по первичной структуре фрагмента гена S1 изолята генетической линии GI-19 (IBV42-18, IBV43-18, IBV44-19) и два вариантных изолята с уникальной первичной структурой (IBV44-18, IBV43-19), не относящихся к какой-либо генетической линии (табл. 2, рис. 1).

При филогенетическом анализе изолят IBV44-19 линии GI-19, выявленный в 2019 г., образовывал отдельную ветвь, отличаясь по аминокислотному составу от выявленных в 2018 г. изолятов IBV42-18 и IBV43-18 на 7,5 и 10,3% соответственно. Тогда как между собой изоляты IBV42-18 и IBV43-18 отличались лишь на 2,7% (рис. 2) и были обнаружены у птиц в возрасте 60, 124 и 290 сут, причем в группе № 3 (124 сут) была выявлена смесь этих двух изолятов.

В пробах № 5 и 7 выявлены вариантные изоляты IBV44-18 и IBV43-19 вируса ИБК с уникальной структурой и не относящиеся к какой-либо генетической линии. Данные изоляты имели отличия по аминокислотному составу на 13,7%. Ранее, в марте 2018 г., на этой птицефабрике в материале от кур-несушек из разных цехов в возрасте 359 и 285 сут были идентифицированы другие два сходных между собой вариантных изолята (IBV08-18 и IBV09-18). Они отличались от изолятов IBV44-18 и IBV43-19 по аминокислотному составу на 10,3%, что свидетельствует об их разном происхождении (рис. 1, 3). Вариантные изоляты являются результатом накопления мутаций (точечных замен, делеций, инсерций и рекомбинаций), которые возникают из-за ошибок репликации вируса ИБК. Вариантный изолят может оказаться нежизнеспособным, а может длительное время циркулировать в хозяйстве, продолжая изменяться.

На следующем этапе работы определяли тропизм вируса. Для этого от каждой птицы были взяты ротоглоточные, клоакальные смывы и пробы тканей внутренних органов, которые по отдельности были исследованы в ОТ-ПЦР-РВ (табл. 3). В общей пробе от трех 60-суточных цыплят с помощью ОТ-ПЦР и секвенирования выявлен изолят вируса ИБК генетической линии GI-19 (QX) IBV42-18. В реакции ОТ-ПЦР-РВ положительными были пробы от двух птиц, взятые из кишечника и семенников.

В третьей группе ремонтного молодняка (возраст 124 сут) с помощью ОТ-ПЦР и секвенирования выявлена смесь полевых вирусов IBV42-18 и IBV43-18 генетической линии GI-19 (QX) вируса ИБК. Взятые из каждого органа пробы и общая проба тканей органов одной из трех птиц в ОТ-ПЦР-РВ показали отрицательный результат. В биологическом материале от двух других птиц этой группы геном вируса ИБК выявлен еще в трахеях и легких птиц, в отличие от остальных возрастных групп, где положительными были только пробы тканей кишечника и репродуктивных органов. Проведено секвенирование фрагмента гена S1 вируса, выявленного в пробах, полученных из тканей трахеи и кишечника птицы № 8. Установлено, что в кишечнике персистирует полевой вирус IBV42-18, а в трахее этой же птицы выявлен вакцинный штамм 4-91.

Таблица 2
Результаты генотипирования вируса инфекционного бронхита кур

Table 2
Genotyping results of avian infectious bronchitis virus

Дата	Номер группы	Возраст птиц, сут	Генетическая принадлежность	Название изолята
12.2018 г.	2	60	GI-19	IBV42-18
	3	124	GI-19	IBV42-18 IBV43-18
	4	192	GI-13, дериват вакцинного штамма 4-91	IBV45-18
	5	228	вариантный изолят	IBV44-18
	6	290	GI-19	IBV43-18
	10.2019 г.	7	361	вариантный изолят
8		361	GI-19	IBV44-19

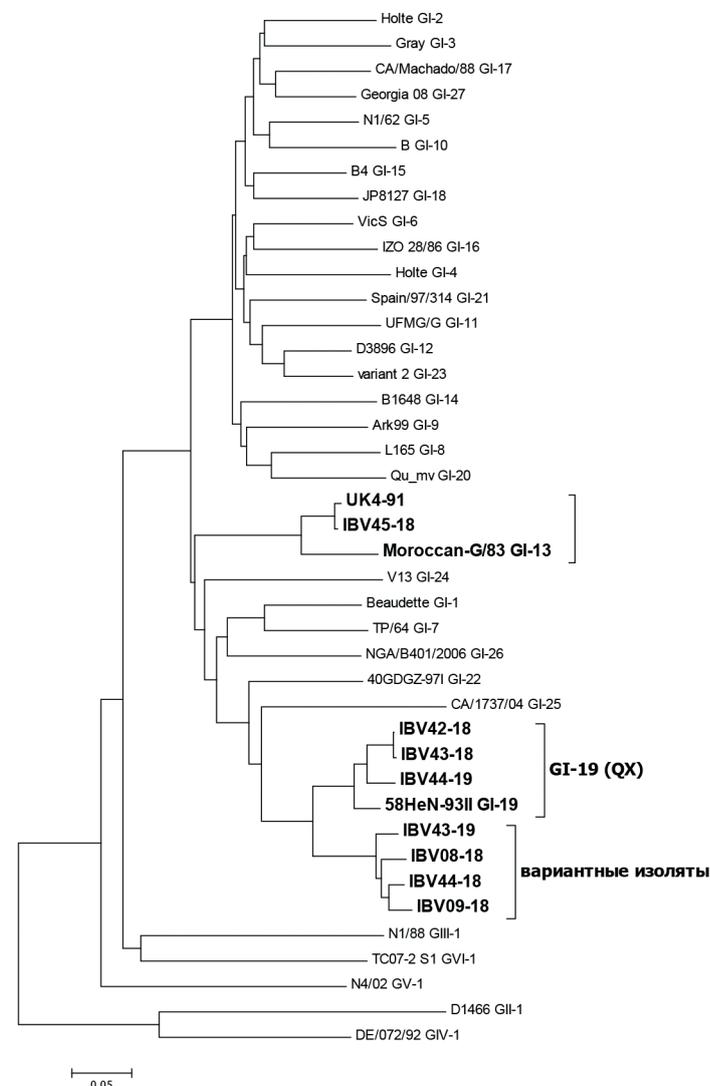


Рис. 1. Филогенетические связи на основе анализа фрагмента гена S1 изолятов вируса ИБК, выявленных на птицефабрике Саратовской области в 2018–2019 гг.

Fig. 1. Phylogenetic relationships based on analysis of the S1 gene fragment of IBV isolates identified in a poultry farm in Saratov Oblast in 2018–2019

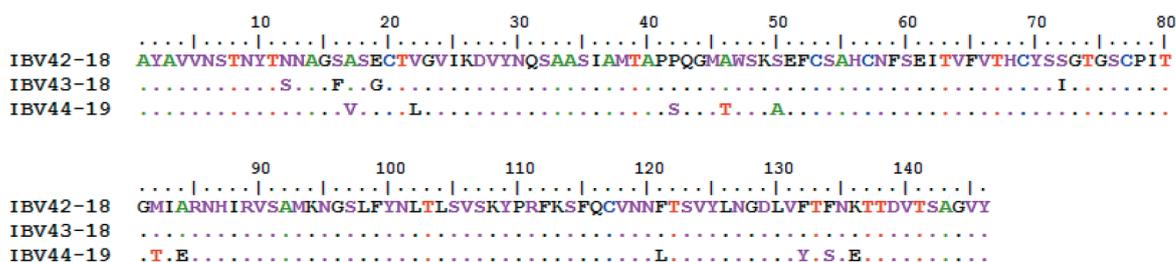


Рис. 2. Сравнение аминокислотных последовательностей выявленных изолятов генетической линии GI-19

Fig. 2. Comparison of amino acid sequences of identified GI-19 isolates

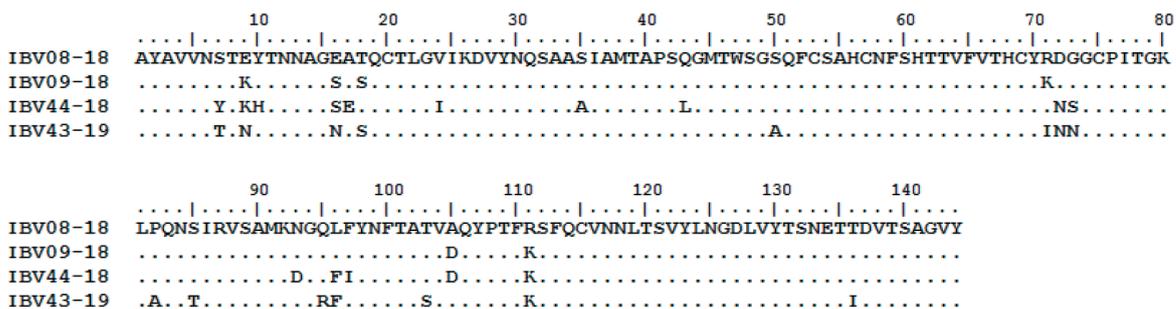


Рис. 3. Сравнение аминокислотных последовательностей выявленных вариантных изолятов

Fig. 3. Comparison of amino acid sequences of identified variant isolates

В пробах тканей внутренних органов от птиц родительского стада возраста 192, 228, 290 и 361 сут методами ОТ-ПЦР и секвенирования выявлены вакцинный штамм 4-91 (IBV45-18), два вариантных изолята (IBV44-18, IBV43-19) и два полевых вируса (IBV43-18, IBV44-19) генетической линии GI-19 (QX) вируса ИБК. В ОТ-ПЦР-РВ положительными к вирусу ИБК были пробы тканей кишечника, органов репродукции и одна проба клоакального смыва (табл. 3).

Анализ результатов исследований на одной птицефабрике за двухлетний период показал, что выявляемость вируса ИБК молекулярными методами зависит от выборки проб, числа образцов, возраста птицы, исследуемых органов и т. д. Если инфекционный бронхит вызывает репродуктивный и нефропатогенный синдромы, то клинические проявления часто наблюдают спустя месяцы после инфицирования, при этом самого вируса в тканях птицы может уже не быть, поэтому важно исследовать пробы от птиц разного возраста. С другой стороны, в окружающей среде вирус ИБК может сохраняться длительное время. Инфицируя несколько поколений птиц, вирус изменяется и приспосабливается, порождая новые генетические формы, благодаря чему наблюдается гетерогенность вирусной популяции не только на птицефабрике в целом или в отдельном цехе, но и в одном организме. Даже у одной птицы вирус может быть представлен в виде набора вирионов, содержащих как слегка измененные, но близкородственные геномы, так и геномы, принадлежащие к разным генетическим линиям, что способствует быстрой адаптации и выживанию вируса в организме хозяина. Кроме того, разнообразие вируса на одной фабрике, в частности появление новых изолятов с высоким процентом аминокислотных отличий (8–10% и выше), свидетельствует о притоке патогена извне.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведен филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей изолятов вируса инфекционного бронхита кур, выявленных на одной из птицефабрик Саратовской области РФ в 2018–2019 гг. Показана гетерогенность вирусной популяции в родительском стаде кур-несушек и стаде ремонтного молодняка, где кроме применяемого вакцинного штамма выявлены три полевых вируса генетической линии GI-19 и два вариантных изолята, не относящихся ни к одной из известных генетических линий. Полученные данные свидетельствуют о том, что, несмотря на применяемую вакцинацию, на птицефабрике циркулирует генетически разнородная популяция вируса ИБК, которая может не проявляться в раннем возрасте, но может влиять на продуктивность стада за счет патологических изменений органов репродукции кур-несушек.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ (п. п. 1, 2, 4–6, 10, 11 см. REFERENCES)

- Щербакова Л. О., Колосов С. Н., Никонова З. Б., Зиняков Н. Г., Овчинникова Е. В., Чвала И. А. Генетическая характеристика изолятов вируса инфекционного бронхита кур, выявленных на территории стран СНГ в 2015–2017 гг. *Ветеринария сегодня*. 2018; 3: 30–39. DOI: 10.29326/2304-196X-2018-3-26-30-34.
- Овчинникова Е. В., Зиняков Н. Г., Беляков С. В., Дрыгин В. В. Вирус инфекционного бронхита кур генотипа QX. Изучение молекулярно-биологических и патогенных свойств. *IV Международный ветеринарный конгресс: материалы конф. «Актуальные ветеринарные проблемы в промышленном птицеводстве»*. Казань, 2014.
- Бочков Ю. А., Дрыгин В. В., Борисов А. В., Гусев А. А., Смоленский В. И. Индикация генома вируса инфекционного бронхита кур с помощью полимеразной цепной реакции. *Современные аспекты ветеринарной патологии животных: материалы конф. (23–25 ноября 1998 г.)*. Владимир, 1998: 173–183.
- Овчинникова Е. В., Щербакова Л. О., Андриясов А. В., Борисов А. В., Мудрак Н. С. Методические указания по выявлению генома вируса ин-

Таблица 3

Результаты исследований проб тканей внутренних органов птиц разных возрастов на наличие вируса ИБК

Table 3

Test results for tissue samples of internal organs from birds of different ages for presence of avian infectious bronchitis virus

Номер и возраст птицы	Титр антител	Результат ОТ-ПЦР-РВ, ст									
		общая проба органов	трахея	легкие	почки	кишечник	яйцевод/семенники*	роголот. смывы	клоак. смывы		
1	Ремонтный молодняк	19	отр.	отр.	н/и	н/и	н/и	н/и	н/и	отр.	отр.
2			отр.	отр.	н/и	н/и	н/и	н/и	н/и	отр.	отр.
3			отр.	отр.	н/и	н/и	н/и	н/и	н/и	отр.	отр.
4		60	3220	33,9	отр.	отр.	отр.	32,0	отр.	отр.	отр.
5			сомнит.	отр.	отр.	отр.	отр.	отр.	отр.	отр.	отр.
6			2474	35,7	отр.	отр.	отр.	36,6	35,0*	отр.	отр.
7		124	3600	33,7	35,6	39,8	отр.	30,3	отр.	отр.	отр.
8			5012	34,7	38,5	отр.	отр.	34,7	отр.	отр.	отр.
9			3373	отр.	отр.	отр.	отр.	отр.	отр.	отр.	отр.
10	Родительское стадо	192	н/и	34,5	отр.	отр.	отр.	29,9	отр.	отр.	отр.
11			7542	34,4	отр.	отр.	отр.	31,8	38,5	отр.	отр.
12		228	4925	34,4	отр.	отр.	отр.	32,2	отр.	отр.	отр.
13			5857	35,2	отр.	отр.	отр.	32,3	36,7	отр.	38,4
14		290	3341	33,8	отр.	отр.	отр.	30,5	39,7	отр.	отр.
15			2602	отр.	отр.	отр.	отр.	отр.	отр.	отр.	отр.
16		361	2894	н/и	отр.	отр.	отр.	отр.	отр.	отр.	отр.
17			5454	37,9	отр.	отр.	отр.	37,6	отр.	отр.	отр.
18			3828	н/и	отр.	отр.	отр.	отр.	отр.	отр.	отр.
19			7916	36,2	отр.	отр.	отр.	34,1	отр.	отр.	отр.
20			4609	н/и	отр.	отр.	отр.	отр.	отр.	отр.	отр.
21	2931		н/и	отр.	отр.	отр.	отр.	отр.	отр.	отр.	

отр. – отрицательный результат;
сомнит. – сомнительный результат;
н/и – не исследовали.

фекционного бронхита кур с использованием полимеразной цепной реакции в режиме реального времени: утв. ФГБУ «ВНИИЗЖ» 05.02.2010. Владимир; 2010; 10 с.

REFERENCES

1. Sjaak de Wit J. J., Cook J. K., van der Heijden H. M. Infectious bronchitis virus variants: a review of the history, current situation and control measures. *Avian Pathol.* 2011; 40 (3): 223–235. DOI: 10.1080/03079457.2011.566260.
2. 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; 2015:424860. DOI: 10.1155/2015/424860.
3. Scherbakova L. O., Kolosov S. N., Nikonova Z. B., Zinyakov N. G., Ovchinnikova Ye. V., Chvala I. A. Genetic characterization of avian infectious bronchitis virus isolates recovered in CIS countries in 2015–2017. *Veterinary Science Today.* 2018; 3: 30–39. DOI: 10.29326/2304-196X-2018-3-26-30-34. (in Russian)
4. Jackwood M. W., de Wit S. Infectious bronchitis. In: Swayne D. E., Glisson J. R., McDougald L. R., Nolan L. K., Suarez D. L., Nair V. (eds.). *Diseases of Poultry*. 13th ed. Ames: Wiley-Blackwell Publishing, 2013; 139–160.

5. Bande F., Arshad S. S., Omar A. R., Bejo M. H., Abubakar M. S., Abba Y. Pathogenesis and diagnostic approaches of avian infectious bronchitis. *Adv. Virol.* 2016; 2016:4621659. DOI: 10.1155/2016/4621659.
6. 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 (5): 487–493. DOI: 10.1080/03079450802356938.
7. Ovchinnikova Ye. V., Zinyakov N. G., Belyakov S. V., Drygin V. V. QX genotype avian infectious bronchitis virus. Study of molecular, biological and pathogenic properties [Virus infekcionnogo bronhita kur genotipa QX. Izuchenie molekulyarno-biologicheskikh i patogennykh svojstv]. *IV International Veterinary Congress: conference proceedings "Current veterinary issues in poultry industry"*. Kazan; 2014. (in Russian)
8. Bochkov Yu. A., Drygin V. V., Borisov A. V., Gusev A. A., Smolenskiy V. I. Indication of avian infectious bronchitis virus genome using polymerase chain reaction [Indikaciya genoma virusa infekcionnogo bronhita kur s pomoshch'yu polimeraznoj cepnoj reakcii]. *Current issues in veterinary pathology: conference proceedings [Sovremennye aspekty veterinarnoj patologii zhivotnyh] (November 23–25, 1998)*. Vladimir; 1998: 173–183. (in Russian)

9. Ovchinnikova Ye. V., Scherbakova L. O., Andriyasov A. V., Borisov A. V., Mudrak N. S. Guidelines for identification of avian infectious bronchitis virus genome using real-time polymerase chain reaction [Metodicheskie ukazaniya po vyavleniyu genoma virusa infekcionnogo bronhita kur s ispol'zovaniem polimeraznoj cepnoj reakcii v rezhime real'nogo vremeni]: approved by FGBI "ARRIAH" 05.02.2010. Vladimir; 2010; 10 p. (in Russian)

10. Valastro V., Holmes E. C., Britton P., Fusaro A., Jackwood M. W., Catoli G., Monne I. S1 gene-based phylogeny of infectious bronchitis virus: An attempt to harmonize virus classification. *Infect. Genet. Evol.* 2016; 39: 349–364. DOI: 10.1016/j.meegid.2016.02.015.

11. McKinley E. T., Hilt D. A., Jackwood M. W. Avian coronavirus infectious bronchitis attenuated live vaccines undergo selection of subpopulations and mutations following vaccination. *Vaccine.* 2008; 26 (10): 1274–1284. DOI: 10.1016/j.vaccine.2008.01.006.

Поступила 17.12.19

Принята в печать 03.02.20

Received on 17.12.19

Approved for publication on 03.02.20

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Овчинникова Евгения Валерьевна, кандидат биологических наук, научный сотрудник референтной лаборатории вирусных болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Щербакова Лидия Олеговна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник референтной лаборатории вирусных болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Колосов Сергей Николаевич, кандидат биологических наук, сотрудник референтной лаборатории вирусных болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Андриясова Анна Николаевна, ведущий биолог референтной лаборатории вирусных болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Зиняков Николай Геннадьевич, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник референтной лаборатории вирусных болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Никонова Зоя Борисовна, кандидат биологических наук, научный сотрудник референтной лаборатории вирусных болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Козлов Антон Александрович, кандидат биологических наук, младший научный сотрудник референтной лаборатории вирусных болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Акшалова Перизат Батырханкызы, аспирант, сотрудник референтной лаборатории вирусных болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Алтунин Дмитрий Александрович, ведущий биолог референтной лаборатории вирусных болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Андрейчук Дмитрий Борисович, кандидат биологических наук, заведующий референтной лабораторией вирусных болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Yevgeniya V. Ovchinnikova, Candidate of Science (Biology), Researcher, Reference Laboratory for Avian Viral Diseases, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Lidia O. Scherbakova, Candidate of Science (Biology), Leading Researcher, Reference Laboratory for Avian Viral Diseases, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Sergey N. Kolosov, Candidate of Science (Biology), Researcher, Reference Laboratory for Avian Viral Diseases, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Anna N. Andriyasova, Leading Biologist, Reference Laboratory for Avian Viral Diseases FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Nikolay G. Zinyakov, Candidate of Science (Biology), Senior Researcher, Reference Laboratory for Avian Viral Diseases, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Zoya B. Nikonova, Candidate of Science (Biology), Researcher, Reference Laboratory for Avian Viral Diseases, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Anton A. Kozlov, Candidate of Science (Biology), Junior Researcher, Reference Laboratory for Avian Viral Diseases, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Perizat B. Akshalova, Post-Graduate Student, Researcher, Reference Laboratory for Avian Viral Diseases, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Dmitry A. Altunin, Leading Biologist, Reference Laboratory for Avian Viral Diseases, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Dmitry B. Andreychuk, Candidate of Science (Biology), Head of Reference Laboratory for Avian Viral Diseases, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.