

клеток и в легких хомяков с помощью электронно-микроскопического анализа.

Сопоставление морфогенеза процессов в клетках, протекающих при инфицировании вирусом парагриппа, с литературными данными показало, что ультраструктурная картина парагриппозной инфекции, наблюдаемая в наших экспериментах, в целом согласовывалась с результатами аналогичных исследований, проведенных на вирусе парагриппа [11] и других парамиксовирусах — вирусе краснухи [12], кори [13] и бычьего парагриппа [14]. Показано, что применение Ингавирина снижает количество почкующихся вирионов потомства, а также существенно нормализует ультраструктуру цитоплазмы, снижая проявления цитодеструктивного действия вируса. В этом отношении эффект Ингавирина оказывался идентичным действию препарата сравнения рибавирина или превосходил его.

В опытах *in vivo* на модели экспериментальной парагриппозной пневмонии у сирийских хомяков продемонстрировано, что Ингавирин, как и препарат сравнения рибавирин, значительно нормализует морфологическую картину легких по сравнению с наблюдаемой у контрольных животных. Эта нормализация проявляется снижением степени деструкции альвеолоцитов, а также ограничением почкования вирионов потомства и отсутствием в альвеолярных полостях клеточных и серозных компонентов воспалительного инфильтрата, что свидетельствует также о противовоспалительных свойствах препарата. Если учесть гораздо более низкую токсичность Ингавирина по сравнению с рибавирином и приблизительно одинаковое их влияние на интенсивность формирования вирионов потомства, есть основания говорить о преимуществах Ингавирина перед использованным препаратом сравнения.

Результаты, полученные в нашем исследовании, затрагивают лишь морфологическую сторону парагриппозной инфекции в клетках и у лабораторных животных. В то же время они хорошо согласуются с ранее полученными данными о способности Ингавирина снижать инфекционные титры этого вируса

в культуре клеток и ткани легких лабораторных животных. В связи с этим следует отметить, что сочетание в одном препарате противовирусных, цитопротекторных и противовоспалительных свойств делает его важной составляющей комплексной терапии парагриппозной инфекции человека.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Henrickson K. J.* Parainfluenza viruses. *Clin. Microbiol. Rev.* 2003; 16: 242—264.
2. *De Franceschi L., Fattovich G., Turrini F.* et al. Hemolytic anemia induced by ribavirin therapy in patients with chronic hepatitis C virus infection: role of membrane oxidative damage. *Hepatology* 2000; 31: 997—1004.
3. <http://www.fda-reports.com/ribavirin-ribavirin.html>
4. *Boonyaratanakornkit J., Bartlett E., Schomacker H.* et al. The C proteins of human parainfluenza virus type 1 limit double-stranded RNA accumulation that would otherwise trigger activation of MDA5 and protein kinase R. *J. Virol.* 2011; 85 (4): 1495—1506.
5. *Saladino R., Ciambecchini U., Nencioni L., Palamara A. T.* Recent advances in the chemistry of parainfluenza-1 (Sendai) virus inhibitors. *Med. Res. Rev.* 2003; 23: 427—455.
6. *Prince G. A., Porter D. D.* Treatment of parainfluenza virus type 3 bronchiolitis and pneumonia in a cotton rat model using topical antibody and glucocorticosteroid. *J. Infect. Dis.* 1996; 173: 598—608.
7. *Логина С. Я., Борисевич С. В., Лыков М. В.* и др. Изучение эффективности Ингавирина® *in vitro* в отношении «мексиканского» пандемического подтипа H1N1 вируса гриппа А, штаммы A/California/04/2009 и A/California/07/2009. *Антибиотики и химиотер.* 2009; 3—4: 15—17.
8. *Логина С. Я., Борисевич С. В., Максимов В. А.* и др. Изучение терапевтической эффективности нового отечественного препарата Ингавирин в отношении возбудителя гриппа А (H3N2). *Антибиотики и химиотер.* 2008; 53 (11—12): 27—30.
9. *Зарубаев В. В., Кривицкая В. З., Небольсин В. Е., Киселев О. И.* Экспериментальное исследование противовирусной активности Ингавирина против вируса парагриппа человека. *Антибиотики и химиотер.* 2010; 55 (7—8): 13—16.
10. *Зарубаев В. В., Гаришина А. В., Калинина Н. А.* и др. Лечение экспериментальной парагриппозной пневмонии у сирийских хомяков при помощи Ингавирина®. *Вопр. вирусол.* 2012.
11. *Hoglund S., Morein B. A.* Morphological study of outfolded and released parainfluenza type 3 virus. *J. Gen. Virol.* 1973; 21: 359—369.
12. *Risco C., Carrascosa J. L., Frey T. K.* Structural maturation of rubella virus in the Golgi complex. *Virology* 2003; 312: 261—269.
13. *Nakai M., Imagawa D. T.* Electron microscopy of measles virus replication. *J. Virol.* 1969; 3: 187—197.
14. *McLean A. M., Doane F. W.* The morphogenesis and cytopathology of bovine parainfluenza type 3 virus. *J. Gen. Virol.* 1971, 2: 271—279.

Поступила 30.05.12

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2012

УДК 578.828.3.083.2:577.21.08

*В. А. Плотников¹, Т. В. Гребенникова¹, А. Г. Южаков¹, Е. К. Дудникова¹, С. Н. Норкина¹,
А. Д. Забережный¹, Т. И. Алипер¹, А. М. Fadly²*

Молекулярно-генетический анализ полевых изолятов вируса лейкоза птиц, циркулирующих на территории Российской Федерации

¹ФГБУ НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского Минздравсоцразвития России, Москва; ²USDA-ARS Лаборатория онкологических заболеваний птиц (ADOL), Ист-Лансинг, США

Приведены результаты мониторинга вируса лейкоза птиц различных генотипов в коммерческих птицеводческих хозяйствах 14 регионов Российской Федерации. Только в трех областях вирус лейкоза птиц не был обнаружен. В остальных 11 областях вирус выявляли в 46—64% случаев. Проведен филогенетический анализ генома 12 полевых изолятов вируса лейкоза птиц, циркулирующих в коммерческих птицеводческих хозяйствах различных регионов РФ. Выделенные изоляты относятся к различным подтипам вируса и формируют 2 обширные группы. Геномные различия между российскими и зарубежными изолятами внутри соответствующих групп составляют от 5 до 10%.

Ключевые слова: вирус лейкоза птиц, ретровирусы, полимеразная цепная реакция

Molecular-Genetic Analysis of the Field Isolates of Avian Leucosis Viruses in the Russian Federation

V. A. Plotnikov¹, T. V. Grebennikova¹, A. G. Yuzhakov¹, E. K. Dudnikova¹, S. N. Norkina¹, A. D. Zaberezhny¹, T. I. Aliper¹, and A. M. Fadly²

¹ Ivanovsky Institute of Virology, Ministry of Health and Social Development of the Russian Federation, Moscow, Russia;

² USDA-ARS Avian Disease and Oncology Laboratory (ADOL), East Lansing, USA

Results of monitoring of different subtypes of avian leukosis virus (ALV) from commercial poultry farms in 14 regions of Russian Federation were discussed. Only three regions were found to be negative. ALV was detected in other 11 regions in 46-64% cases (for different regions). The phylogenetic analysis of the genomes for the 12 field isolates of ALV was carried out in different regions of Russian Federation. The isolates belong to different subtypes of the virus and form two large groups. The genomic differences between Russian and foreign isolates within each group range from 5% to 10%.

Key words: avian leucosis virus, retroviruses, polymerase chain reaction

Вирус лейкоза птиц (ВЛП) является представителем лейкозно-саркомной группы (ЛСГ), которая относится к роду птичьих ретровирусов и подразделяется на 7 подгрупп: А, В, С, D, Е и J [17]. Подгруппы выделены на основании различий: в последовательностях гена вирусного оболочечного гликопротеина env, моделях проникновения вируса в восприимчивый организм, инфекционности вирусов для ряда мишеней (in vitro и in vivo) [17]. Вирусы подгрупп А, В, С, D, J являются экзогенными, а подгруппы Е — эндогенными. Среди структурных полипептидов (p27, p19, p15, p12 и p10), присутствующих у всех членов ЛСГ ретровирусов, включая эндогенные и экзогенные ВЛП, превалирующим является p27 [8]. Факт наличия у эндогенных и экзогенных вирусов общего группоспецифического антигена p27 весьма затрудняет дифференциальную диагностику ВЛП с использованием методов, основанных на его выявлении [15, 23].

Другие методы, включая молекулярные, не базирующиеся на детекции общего для эндогенных вирусов антигена, широко используются для подтверждения лейкозной инфекции в пораженных стадах птиц [9, 15].

Экзогенные ВЛП способны индуцировать различные новообразования [12]. Самым распространенным видом опухолей, вызываемых этой подгруппой вирусов, является лимфоидный лейкоз (ЛЛ), или В-клеточная лимфома, первично образующаяся в фабрициевой сумке и инициирующая образование метастазов в висцеральных органах. В большинстве случаев от пораженных птиц выделяют вирус подгруппы А [4, 5]. Однако подгруппа J, впервые описанная в Англии в 1989 г., а позже и в других странах, была первично выделена при заболевании миелоидным лейкозом (МЛ) кур мясных пород [8, 16].

Экзогенные ВЛП передаются как вертикально, так и горизонтально, при наличии полной инфекционности вируса. Эндогенные ВЛП обычно передаются генетически в зародышевых клетках обоих полов. Многие из них являются генетически дефективными. Именно поэтому они не могут привести к развитию инфекционных вирионов. Однако некоторые из них могут экспрессироваться в инфекционную форму в эмбрионах или у вылупившихся птенцов [10].

Экономические потери от заболеваний, индуцированных ВЛП, объясняют двумя основными причина-

ми. Во-первых, непосредственно общая смертность птиц составляет около 1—2%, а в совокупности со случайными потерями может достигать 20% и более [18]. Во-вторых, инфицирование ВЛП, которому подвергается большинство голов в птичьей стае ввиду высокой патогенности вируса, оказывает подавляющее влияние на некоторое число важных производственных показателей, включая продукцию яиц и их качество [10, 21].

На данный момент лечение ретровирусных инфекций не приводит к сколько-нибудь значительному положительному результату, также не получены эффективные вакцины против ВЛП. В настоящее время данных о распространении ВЛП на территории РФ крайне мало, они нуждаются в дополнении.

В связи с этим диагностика заболевания и молекулярно-генетический анализ полученных вирусных изолятов позволяют оценить распространение различных штаммов ВЛП на территории РФ. Существует необходимость поиска птицеводческих хозяйств, свободных от ВЛП, для последующего использования эмбрионов в производстве различных препаратов, в том числе вакцин.

Целью данного исследования были составление карты географической локализации очагов распространения лейкоза птиц, выделение отечественных полевых изолятов в культуре клеток и их молекулярно-генетическая характеристика.

Материалы и методы

Сбор образцов. Для выявления вирусных антигенов ВЛП биологические образцы после сбора при транспортировке были помещены на лед и до исследований хранились при -70° С. Для тестирования методом иммуноферментного анализа (ИФА) образцы хранили в фосфатном буферном растворе (PBS), содержащем 0,1% твина-80. Для исследования методом ПЦР образцы хранили в замороженном состоянии без добавления дополнительных реагентов. Для анализа использовали цельную кровь, сыворотку, клоакальные смывы, альбумин, фрагменты новообразований и другие ткани.

Выделение вируса. С целью исследования и выделения ВЛП в гепаринизированные шприцы отбирали пробы крови птиц с клиническими признаками неопластических заболеваний.

Контактная информация:

Гребеникова Татьяна Владимировна, д-р биол. наук, проф., рук. лаб.; e-mail: plotnvadim@yandex.ru

Таблица 1

Результаты исследования проб крови на наличие группоспецифического антигена р27 ВЛП с помощью ИФА

Регион	Количество исследованных проб	Количество положительных проб, на наличие р27-антигена	Процент положительных проб
Московская область	25	14	56
Владимирская область	15	8	53
Нижегородская область	15	7	46
Свердловская область	10	6	60
Ростовская область	11	6	55
Новосибирская область	12	7	58
Республика Мордовия	13	8	61
Тульская область	15	7	46
Республика Марий Эл	14	9	64
Липецкая область	12	7	58
Ленинградская область	15	8	53
Самарская область	10	0	0
Оренбургская область	10	0	0
Рязанская область	9	0	0
Итого...	186	87	47

Полученные образцы сепарировали центрифугированием в градиенте Ficoll-Pac («Amersham Biosciences», Швеция) для получения лейкоцитарной фракции крови. Пробы тестировали на наличие группоспецифического р27-антигена ВЛП посредством ИФА. Положительные пробы в дальнейшем использовали для вирусыведения [11]

Культура клеток. Для выделения изолятов ВЛП использовали первичную культуру клеток фибробластов, полученную от 11-дневных свободных от патогенной флоры (СПФ) куриных эмбрионов («Loghman», Германия), применяя стандартную процедуру трипсинизации. С целью заражения культуры клеток в культуральную среду вносили лейкоцитарную фракцию и инкубировали в течение 7—14 дней. В качестве ростовой и поддерживающей сред использовали среду MEM с фетальной сывороткой крупного рогатого скота, выращивание проводили при 38°C с содержанием в воздухе 4% CO₂. В качестве контроля служили матрасы с неинокулированной культурой клеток куриных фибробластов.

Иммуноферментный анализ. Обнаружение присутствия вируса и подтверждение выделения вирусных изолятов выполняли с использованием коммерческого ИФА-набора («АВИВАК», Россия) для определения группоспецифического антигена р27 по методике производителя.

Выделение РНК. Суммарную РНК выделяли из монослоя зараженных вирусом клеток с помощью тризола (Trizol, «Gibco BRL», США) и коммерческого набора («Ветбиохим», Россия) с использованием неорганического сорбента по методике производителей.

ОТ-ПЦР проводили в одной пробирке. Реакционная смесь в конечном объеме 25 мкл содержала 1 мкл РНК, 10 пмоль каждого праймера, 2,5 ед. TaqI-полимеразы («Gibco BRL», США), 2,5 ед. MMLV обратной транскриптазы («Gibco BRL», США), 10 мМ трис-НСl (рН

Таблица 2

Изоляты ВЛП, выделенные на территории РФ

Обозначение изолята	Дата выделения	Регион
132	Июнь 2010	Липецкая область
346	Январь 2010	Московская область
138	Сентябрь 2010	Ростовская область
130	Январь 2010	Свердловская область
76	Март 2010	Ростовская область
11	Июнь 2011	Владимирская область
9	Июнь 2011	" "
7	Июнь 2011	" "
5	Июнь 2011	" "
2	Июнь 2011	" "
3	Июнь 2011	" "
8	Март 2011	Нижегородская область

9,0 при 25°C), 50 мМ КСl, 0,1% тритона X-100, 1,5 мМ MgCl₂. Использовали следующие параметры ОТ-ПЦР: 50°C — 45 мин, 95°C — 5 мин — 1 цикл, 95°C — 1 мин, 51°C — 1 мин, 72°C — 1 мин — 5 циклов; 95°C — 30 с, 51°C — 30 с, 72°C — 45 с — 30 циклов.

Праймеры. Для индикации генома ВЛП в ПЦР использовали праймеры от тест-системы обнаружения ВЛП («Ветбиохим», Россия).

Секвенирование. Продукты ПЦР очищали в геле, используя набор для очистки продуктов ПЦР из геля (Geneclean), и секвенировали. Первичную последовательность определяли на автоматическом ДНК-секвенаторе (ABI-377, США) и анализировали с помощью компьютерных программ MacVector/AssemblyLign (Oxford Molecular Group, США) и PHYLIP (Felsenstein, 1993).

Результаты

В ходе исследования было собрано 177 проб сыворотки крови из 14 племенных и промышленных птицеводческих хозяйств в различных регионах Российской Федерации. Кровь брали у птиц в возрасте от 100 до 400 дней с выраженными клиническими признаками неопластической болезни, а также у птиц в регионах с неблагоприятной эпизоотической обстановкой. Сыворотку крови исследовали с помощью ИФА на наличие группоспецифического антигена р27 ВЛП (табл. 1).

Как видно из результатов, представленных в табл. 1, из 14 обследуемых регионов только в трех не был обнаружен ВЛП (Самарская, Оренбургская и Рязанская области). В остальных 11 регионах из 186 исследуемых проб 87 были положительными, при этом средний показатель составил 47%. Процент положительных проб варьировал от 46 (Новосибирская область) до 64 (Республика Марий Эл), причем только в двух регионах этот показатель составил 46%, в остальных он равнялся 50% и более.

Выделенную из проб крови лейкоцитарную фракцию использовали для дальнейшей изоляции вирусов в культуре клеток СПФ ФЭК с целью создания банка вирусных изолятов и изучения их культуральных и молекулярно-генетических свойств.

Необходимо отметить, что ВЛП не вызывает цитопатоморфологических изменений культур клеток, что усложняет его выявление. Поэтому в мировой практике для обнаружения ВЛП прибегают к таким методам, как ИФА и ПЦР [9, 20].

Мы также проверяли наличие ВЛП с использованием ПЦР и ИФА [14] после 7—14 дней культивирования вируса на клетках куриных фибробластов.

Из 186 проб удалось выделить 12 (6,5%) изолятов из различных областей Российской Федерации (табл. 2).

Для выявления генома ВЛП из инокулированных культур клеток была выделена РНК, которую исследовали в ПЦР. В результате амплификации с праймерами для лейкоза А—D синтезировали специфический фрагмент кДНК размером 314 п. н. и фрагмент размером 738 п. н. — в результате амплификации с праймерами для лейкоза J. Данные праймеры были разработаны ранее и использованы для исследования птиц на наличие вируса лейкоза [1].

Определение и сравнительный анализ структуры амплифицированных фрагментов кДНК показал, что все исследованные пробы содержали фрагменты генома ВЛП.

Для выявления генетических различий между полученными нами изолятами ВЛП был проведен анализ нуклеотидных последовательностей амплифицированного ПЦР-фрагмента гена *env*. Нуклеотидные последовательности выделенных ранее ВЛП получали из банка данных GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank/>). Необходимо отметить, что молекулярно-генетическое исследование различных подтипов ВЛП в последние годы получило широкое распространение [22, 25].

На рис. 1 представлена филогенетическая дендрограма, построенная на основании сиквенса фрагмента последовательности гена *env* ВЛП. Анализ дендрогаммы показал, что изоляты 130, 76, 132, 138, 8, 346 образуют с известными ранее изолятами (AY013303, EF467236, DQ500007, AY013304, EU070900, EU070901, EU070902, M37980, NC_001408, DQ365814, AY350569, AB303223, AB112960) одну генетическую группу с уровнем внутрigrupповых различий не более 5%. В данной группе представлены эндогенные и рекомбинантные ВЛП, выделенные на территории США, Китая, Франции и Японии с 1993 г. по настоящее время.

Изоляты 9, 7, 2, 5, 3, 11, 138 и 346 образуют вторую обширную генетическую группу с изолятами ВЛП подгруппы J, выделенными на территории Китая, Франции и США. Внутрigrupповые различия в данной группе превышают 10%.

Из дендрогаммы видно, что изоляты 138 и 346 одновременно входят в обе группы. Это объясня-

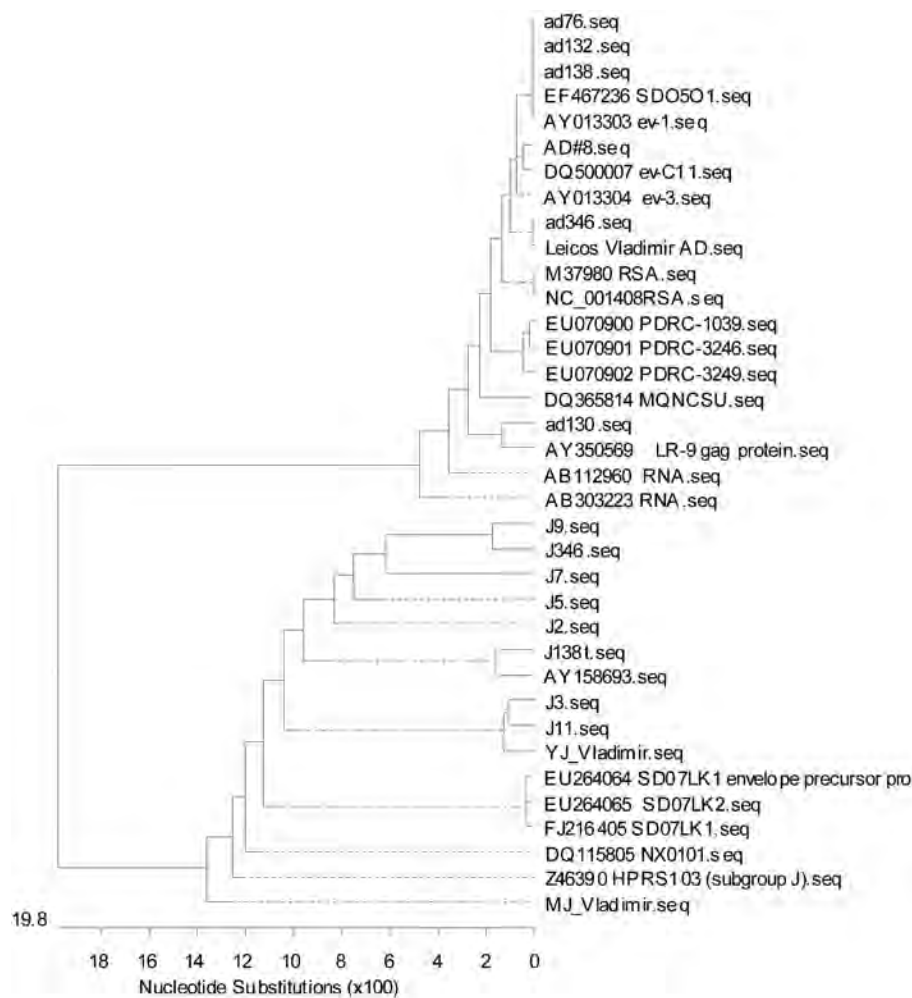


Рис. 1 Филогенетическая дендрограма, построенная на основании анализа фрагмента гена *env* вируса лейкоза птиц.

ется тем, что ВЛП подгруппы J являются рекомбинантными вирусами. Рекомбинация может происходить между изолятами экзогенной подгруппы J, возможна также рекомбинация дефективных эндогенных вирусов (подгруппа E) с вирусами подгруппы A [6, 13, 19].

Обсуждение

Полученные нами результаты указывают на то, что ВЛП широко распространен на территории Российской Федерации. Он был обнаружен в 79% исследуемых регионов РФ (в 11 из 14). Это свидетельствует о том, что ВЛП остается одной из самых актуальных проблем вирусологии. Регионы, в которых был выделен ВЛП, представлены на схеме карты Российской Федерации (рис. 2).

В результате наших исследований были изолированы и охарактеризованы 12 изолятов ВЛП в первичной культуре клеток куриных фибробластов. Изоляты были идентифицированы методами ИФА и ПЦР, проведен молекулярно-генетический анализ. При проведении филогенетических исследований важным является вопрос о выборе участка генома, на основании которого выполняется анализ. Нами был выбран участок гена *env*, поскольку основные подгруппы ВЛП были выделены на основании различий в последовательностях гена вирусного обо-



Рис. 2. Распространение вируса лейкоза птиц на территории Российской Федерации (11 регионов).

лочечного гликопротеина env. Эти различия также определяют разное поведение вирусных подтипов в реакции нейтрализации, различие в моделях проникновения вируса в восприимчивый организм и в инфекционности вирусов для ряда мишеней (in vivo и in vitro) [4, 6].

Исследуемые полевые изоляты формируют две обширные группы, в каждую из которых входят российские изоляты. Одна группа изолятов образована экзогенными и эндогенными ВЛП, в ней представлено 4 российских изолята: 76, 132, 8, 130. Ко второй группе ВЛП подгруппы J относятся 8 изолятов: 138, 346, 2, 3, 5, 9, 7, 11. Из генетического сравнения видно, что большинство выделенных изолятов (8), представляют подгруппу J, которая состоит из рекомбинантных вирусов, образованных путем рекомбинации между эндогенными и экзогенными ВЛП. В результате данной рекомбинации могут образовываться штаммы с различными генетическими подгруппами, существенно отличаясь друг от друга [24]. Геномные различия между российскими и зарубежными изолятами внутри соответствующих групп составляют от 5 до 10%, для некоторых штаммов возможно наличие общего предшественника.

В связи с этими данными для успешной профилактики необходимо проводить исследования для выявления ВЛП в птицеводческих хозяйствах, выбраковку птиц, положительных на ВЛП, и особое внимание уделять дезинфекции помещений и содержанию птиц. Кроме того, полученные данные необходимо учитывать при использовании сырья из хозяйств, положительных на наличие ВЛП, в изготовлении препаратов ветеринарного и медицинского назначения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гребенникова Т. В., Алексеев К. П., Власова А. Н. и др. Исследование поголовья птиц на наличие вируса птичьего лейкоза методом ПЦР. Птицы и птицепродукты. 2003; 6: 35—37.
2. Плотников В. А., Алипер Т. И., Дудникова Е. К. и др. Распространение вируса лейкоза птиц на территории Российской Федерации. В кн.: 10-й Международный конгресс «Здоровье и образование в XXI веке». Инновационные технологии в биологии и медицине. М.: РУДН; 2009.
3. Плотников В. А., Алипер Т. И., Дудникова Е. К. и др. Филогенетический анализ изолятов вируса лейкоза птиц, циркулирующих на территории Российской Федерации. В кн.: VI Международный ветеринарный конгресс по птицеводству. М.; 2010. 44—48.
4. Bacon L. D., Witter R. L., Fadly A. Augmentation of retrovirus-induced lymphoid leukosis by Marek's disease herpesviruses in white leghorn chickens. J. Virol. 1989; 63: 504—512.
5. Bacon L. D., Hunt H. D., Cheng H. H. Genetic resistance to Marek's disease. In: Hirai K., ed. Current topics in microbiology and immunology. New York: Springer-Verlag; 2001; 255: 121—141.
6. Blanca L., Hunt H., Silva R., Fadly A. Identification and characterization of subgroup J avian leukosis viruses (ALV) expressing subgroup A ALV envelope. Virology 2000; 276: 37—43.
7. Coffin J. M. Structure and classification of retroviruses. In: Levy J. A. ed. The Retroviridae. New York: Plenum Press; 1992; 1: 19—49.
8. Fadly A. M., Smith E. J. Isolation and some characteristics of a subgroup J-like avian leukosis virus associated with myeloid leukemia in meat-type chickens in the United States. Avian Dis. 1999; 43: 391—400.
9. Fadly A. M. Isolation and identification of avian leukosis viruses: a review. Avian Pathol. 2000; 29: 529—535.
10. Fadly A. M., Payne L. N. Leukosis/sarcoma group. In: Saif Y. M. et al. eds. Diseases of Poultry. 11th ed. Ames: Iowa State Press, 2003; 465—516.
11. Fadly A. M., Silva R., Hunt H. et al. Isolation and characterization of an adventitious avian leukosis virus isolated from commercial Marek's disease vaccines. Avian Dis. 2006; 50: 380—385.
12. Gingerich E., Porter R. E., Lupiani B., Fadly A. M. Diagnosis of myeloid leukemia induced by a recombinant avian leukosis virus in commercial white leghorn egg laying flocks. Avian Dis. 2002; 46: 745—748.
13. Lee L. F., Fadly A. M., Hunt H. D. Avian leukosis virus subgroup J envelope gene product for diagnosis and immunogenic composition. USA. Pat. 6,146,641.

14. Pandiri A. R., Mays J. K., Fadly A. M. Influence of strain, dose, of virus, and age of inoculation on subgroup J avian leucosis virus persistence, antibody response and oncogenicity in commercial meat-type chickens. *Avian Dis.* 2007; 51: 725—732.
15. Pandir A. R., Gimeno I. M., Reed W. M. et al. Distribution of viral antigen gp85 and provirus in various tissues from commercial meat-type and experimental White Leghorn Line 0 chickens with different subgroup J avian leucosis infection profiles. *Avian Patol.* 2008; 37 (1): 7—13.
16. Payne L. N., Brown S. R., Bumstead N. et al. A novel subgroup of exogenous avian leucosis virus in chickens. *J. Gen. Virol.* 1991; 72: 801—807.
17. Payne L. N., Howes K., Smith L. M., Venugopal K. Current status of diagnosis, epidemiology and control of ALV-J. In: Fadly A. M. et al. eds. *Avian Tumor Viruses Symposium*. Reno, NV: American Association of Avian Pathologists. 1997; 58—62.
18. Silva R. F., Fadly A. M., Hunt H. D. Hypervariability in the envelope genes of subgroup J avian leucosis viruses obtained from different farms in the U. S. *Virology.* 2000; 272: 106—111.
19. Silva R. F., Fadly A. M. Evolution of ALV-J strains. In: Kaleta E. F. et al. eds., *International Symposium on ALV-J and Other Avian Retroviruses*. Rauschholzhausen, Germany: World Veterinary Poultry Association, 2000:23—31.
20. Smith E. J., Fadly A. M., Crittenden L. B. Observations on an enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of antibodies against avian leucosis/sarcoma viruses. *Avian Dis.* 1986; 30: 488—493.
21. Smith E. J., Salter D. W., Silva R. F., Crittenden L. B. Selective shedding and congenital transmission of endogenous avian leucosis viruses. *J. Virol.* 1986; 60: 1050—1054.
22. Thapa B. R., Omar A. R., Arshad S. S., Hair-Bejo M. Detection of avian leucosis virus subgroup J in chicken flocks from Malaysia and their molecular characterization. *Avian Pathol.* 2004; 33 (3): 359—363.
23. Witter R. L., Lee L. F., W. Okazaki W. Expression of endogenous (gs, chick helper factor, Rous-associated virus-O) and exogenous avian RNA tumor viruses. *J. Natl. Cancer Inst.* 1975; 55: 215—218.
24. Witter R. L., Bacon L. D., Hunt H. D. et al. Avian leucosis virus subgroup J infection profiles in broiler breeder chickens: association with virus transmission to progeny. *Avian Dis.* 2000; 44: 913—931.
25. Zavala G., Cheng S., Jackwood M. W. Molecular epidemiology of avian leucosis virus subgroup J and evolutionary history of its 3' untranslated region. *Avian Dis.* 2007; 51 (4): 942—953.

Поступила 22.03.12

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2012
УДК 616.98:578.832.1]-092.9

А. В. Зайковская¹, К. А. Шаршов¹, Е. А. Шерстков¹, А. К. Юрлов², А. М. Шестопалов¹

Экспериментальная инфекция сизой чайки (*Larus canus*), вызванная вирусом гриппа А/Н5N1

¹ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор», Новосибирская область, пос. Кольцово; ²Институт систематики и экологии животных СО РАН, Новосибирск

Штамм вируса гриппа A/common gull/Chany/P/2006 (H5N1), выделенный от клинически здоровой сизой чайки (*Larus canus*), при экспериментальном инфицировании не вызывает гибель своего естественного хозяина (сизая чайка). Показано, что вирус способен к эффективной репликации в тканях легких, селезенки, верхних дыхательных путей, в клетках слизистых оболочек кишечника сизой чайки с последующим выделением во внешнюю среду со слизистыми выделениями из клоаки и глотки в течение 2 нед. Обсуждается потенциальная роль этого вида птиц в циркуляции вируса гриппа.

Ключевые слова: вирус гриппа H5-субтипа, экспериментальная инфекция, сизая чайка

Experimental infection caused by influenza A (H5N1) virus in common gull (*Larus canus*)

A. V. Zaykovskaya¹, K. A. Sharshov¹, E. A. Sherstkov¹, A. K. Yurlov², A. M. Shestopalov²

¹Vektor State Research Center of Virology and Biotechnology, Koltsovo, Novosibirsk Region; ²Institute of Animal Systematics and Ecology, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk

The influenza A/common gull/Chany/P/2006 (H5N1) virus strain isolated from a clinically healthy common gull (*Larus canus*) caused no death of its natural host (a common gull). The virus was shown to be capable for effective replication in the tissues of the lung, spleen, and upper respiratory tract and in the intestinal mucosal cells of the common gull with further environmental virus liberation elimination along with mucinous discharges from the cloaca and fauces for 2 weeks. The potential role of this bird species in the circulation of influenza virus is discussed.

Key words: influenza H5-subtype virus, experimental infection, common gull (*Larus canus*)

Природным резервуаром вируса гриппа являются различные перелетные птицы, принадлежащие к отрядам гусеобразных (*Anseriformes*) и ржанкообразных (*Charadriiformes*) [16]. Они широко распространены во всем мире и в основном представлены видами, мигрирующими на далекие расстояния [15].

В 2005 г. была зарегистрирована эпизоотия гриппа птиц на территории Новосибирской области среди разных видов домашних и диких птиц. Результаты филогене-

тического анализа указывают на то, что вирус гриппа был занесен с территории Китая, по-видимому, дикими перелетными птицами в период весенней миграции [3, 13]. В июле 2006 г. от сизой чайки, не имеющей видимых признаков болезни, был выделен вирус A/common gull/Chany/P/2006 H5N1-субтипа. Генетически вирус охарактеризован как высокопатогенный для кур, однако в эксперименте он показал более низкую степень патогенности для кур по сравнению с другими штаммами

Контактная информация:

Зайковская Анна Владимировна, канд. биол. наук, ст. науч. сотр.; e-mail:zaykovskaya@ngs.ru