

**STRESZCZENIE**

Zakaźne zapalenie oskrzeli kur (IB) jest wysoce zakaźną chorobą wirusową kur o zasięgu ogólnosiwiatowym i niezwykle istotnym znaczeniu ekonomicznym. Podstawą kontroli choroby jest ściśle przestrzeganie zasad bioasekuracji w produkcji drobiarskiej oraz stosowanie szczepień profilaktycznych. Z drugiej strony wirus zakaźnego zapalenia oskrzeli kur charakteryzuje się niezwykle dużą zmiennością sprzyjającą powstawaniu wielu odmian sero- czy genotypowych wirusa, co sprawia że skuteczność szczepień wciąż budzi wiele problemów. W grudniu 2015 roku wykryto w Polsce pierwszy przypadek choroby wywołanej przez IBV typu Var2 (wg nowej klasyfikacji GI-23). W krótkim czasie decyzją Urzędu Rejestracji Produktów Leczniczych, Wyrobów Medycznych i Produktów Biobójczych dopuszczono do obrotu w kraju szczepionkę zawierającą ten wariant wirusa, co miało ograniczyć straty wywołane kliniczną postacią choroby oraz siewstwo wirusa, ale jednocześnie spowodowało utrudnienia w już i tak skomplikowanej diagnostyce IB.

Pierwszym zadaniem pracy była aktualizacja sytuacji epidemiologicznej w zakresie występowania zakażeń IBV w Polsce. W tym celu w latach 2016-2019 przebadano łącznie 189 stad drobiu pochodzących z różnych regionów kraju. Badania potwierdziły wysoką prevalencję szczepów Var2, które stanowiły ponad 28% wszystkich wykrytych wirusów IB. W dalszym etapie prac przeprowadzono charakterystykę molekularną krajowych szczepów Var2 wirusa zakaźnego zapalenia oskrzeli. Analiza sekwencji genu S1 wykazała wspólne pochodzenie polskich szczepów Var2, wyrażone ich przynależnością do jednej podgrupy filogenetycznej (grupa I). Niemniej stosunkowo niewielka zmienność sekwencji nukleotydowej (na poziomie 97,2 – 100%) wśród omawianych szczepów wskazuje na dynamiczny charakter epidemii w kraju oraz postępującą ewolucję wirusa. Dalsza charakterystyka w oparciu o cały genom IBV przeprowadzona dla trzech polskich szczepów Var2 (G052/2016, G103/2016 oraz G225/2017) wykazały w organizacji ich genomu obecność 3 genów białek pomocniczych 4b, 4c oraz 6b oraz dużą zmienność nt zwłaszcza w obrębie genów 4b, 6b oraz N wyrażoną homologią nt na poziomie odpowiednio 89,5%, 72,4% oraz 91,5%. Co więcej, przeprowadzona analiza rekombinacji dowiodła obecność wstawki w obrębie genu 1 we wszystkich trzech badanych szczepach Var2 wprowadzoną do genomu w wyniku rekombinacji homologicznej ze szczepem typu QX.

Kolejnym celem pracy było określenie zjadliwości w warunkach *in vivo* szczepu G052/2016 GI-23 IBV. Ptaki zakażone w 1 dniu życia wykazywały silne objawy oddechowe, biegunkę oraz 30% śmiertelność. Z kolei zakażenie ptaków 3-tygodniowych nie prowadziło do

upadków, niemniej zaobserwowano objawy kliniczne, zaś zmiany sekcyjne miały charakter przejściowy. Badania potwierdziły patogenność badanego szczepu Var2 dla kurcząt SPF oraz wyraźnie zaznaczony tropizm do układu oddechowego oraz nerek.

Ostatnim celem niniejszej dysertacji było określenie protektotypu szczepu Var2 IBV. W doświadczeniach na zwierzętach przetestowano 7 programów swoistej immunoprofilaktyki dla IB. Uzyskane wyniki potwierdziły, że szczepienie z użyciem szczepionek zawierających wirusy niehomologiczne (typu Mass -1 dzień życia) oraz typu QX i 793B -14 dzień życia) zapewniają protekcję krzyżową na zakażenie szczepem Var2 porównywalną do szczepionki homologicznej. Przeprowadzone badania wykazały, że wprowadzenie do obrotu szczepionki homologicznej Var2 w Polsce nie było konieczne, gdyż zastosowanie odpowiedniego schematu szczepień daje podobną ochronę na zakażenie IBV Var2, zaś obecność w terenie dodatkowo szczepów szczepionkowych tego samego typu zwiększa trudności w rutynowej diagnostyce zakaźnego zapalenia oskrzeli kur.

**SUMMARY**

Avian infectious bronchitis (IB) is a highly contagious viral disease of chickens causing huge *economic* losses to poultry industry *worldwide*. The primary tool for disease control is maintenance of strict biosecurity in poultry farms and implementation of preventive vaccination. An important feature of infectious bronchitis virus is its high variability, which contribute to the occurrence of many viral serotypes and genotypes, which cause that the effectiveness of vaccination still raises many problems. In December 2015, the first case of disease caused by Var2 (GI-23) genotype was detected in Poland. In a short period of time, by the decision of the Office for Registration of Medicinal Products, Medical Devices and Biocidal Products a vaccine containing this IBV variant was authorised to the national market, in purpose to reduce the spread of infections, however it caused difficulties in the already complicated diagnosis of this pathogen.

The first task of the study was updating the epidemiological situation of IBV infections in Poland. For this purpose, a total of 189 flocks of poultry reared in 2016-2019 in different regions of Poland were examined. The study confirmed high prevalence of GI-23 strains, which in total constituted 28% of all detected IBVs. In second stage of the work, molecular characterization of Polish Var2 strains of infectious bronchitis virus was performed. The analysis of S1 gene sequence revealed a common origin of Polish Var2 strains, expressed by their belonging to one phylogenetic subgroup (group I). Nevertheless, variability of nucleotide sequence at the level of 97.2 - 100% among the discussed strains indicates the dynamic character of the epidemic in the country and progressive evolution of the virus. Further characterization based on the whole IBV genome performed for three Polish GI-23 strains (G052/2016, G103/2016 and G225/2017) demonstrated in organization of their genome the presence of three genes of non-structural proteins 4b, 4c and 6b and high nucleotide sequence variability especially within the 4b, 6b and N genes expressed by 89.5%, 72.4% and 91.5% homology, respectively. Moreover, the recombination analysis showed the presence of an insert within the gene 1 in all three examined Var2 strains introduced into the genome as a result of homologous recombination with a QX strain.

The further aim of the study was to determine the virulence of G052/2016 Var2 IBV strain. Birds infected in 1 day of life showed strong respiratory symptoms, diarrhea and 30% mortality. In contrast, the Var2 infection did not cause mortality in 3-week-old birds, but clinical symptoms and temporary pathological lesions were observed during necropsy. The study confirmed the pathogenicity of the examined Var2 strain for SPF chickens and clearly marked tropism to the respiratory system and kidneys.

The last purpose of this dissertation was to determine the protectotype of Var2 IBV strain. In experimental trial 7 different immunoprophylaxis programmes for IB were tested. The obtained results confirmed that implementation of heterologous vaccines (e.g. Massachusetts strain at 1 day of life and QX and 793B strains at 14 day of life) provides cross-protection against Var2 infection at a comparable level as the homologous vaccine. The study demonstrated that market authorisation of Var2 homologous vaccine in Poland was not necessary, because the application of an appropriate vaccination program with vaccines available at that time provides similar protection against Var2 IBV infection, moreover the use of many types of vaccines causes difficulties in routine diagnostics of IB.