



<https://doi.org/10.29326/2304-196X-2026-15-2-131-138>
УДК 619:578.835.2:57.017



Исследование биологических свойств экзотического штамма «О/ЕА-3/Тунис/2019» вируса ящура генетической линии О/ЕА-3, выявленного на территории Северной Африки

М. И. Доронин, Д. И. Кара, А. В. Борисов, М. Н. Гусева, Ю. С. Елькина, Д. В. Михалишин, В. В. Михалишин, Т. В. Оковьята, В. В. Никифоров, С. Н. Фомина
ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»), ул. Гвардейская, 6, мкр. Юрьеvec, г. Владимир, 600901, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. Вспышки ящура, которые регистрировались на территории Африки в 2013–2023 гг. (Египет – 2013–2017, 2021 гг., Алжир – 2018, 2019, 2022 гг., Сенегал – 2018 г., Ливия – 2019, 2023 гг., Марокко – 2019 г., Тунис – 2019, 2022 гг.), были вызваны вирусом генотипа О/ЕА-3. Текущая эпизоотическая ситуация в регионе, а также наличие торгово-экономических связей Российской Федерации со странами Африканского континента диктует необходимость изучения штаммов вируса ящура генотипа О/ЕА-3 для создания средств диагностики и специфической профилактики опасного заболевания.

Цель исследования. Изучение биологических свойств штамма «О/ЕА-3/Тунис/2019» вируса ящура генетической линии О/ЕА-3, выявленного на территории Северной Африки.

Материалы и методы. Штамм «О/ЕА-3/Тунис/2019» вируса ящура был выделен от крупного рогатого скота на территории Туниса в 2019 г. В ходе исследования применяли комплекс культуральных, серологических и молекулярно-генетических методов.

Результаты. По результатам сравнительного анализа нуклеотидных последовательностей установлена принадлежность данного штамма к генетической линии О/ЕА-3. Показатель антигенного родства (r_1) штамма «О/ЕА-3/Тунис/2019» с производственными штаммами вируса ящура находился в диапазоне от 0,01 до 0,54. В организме крупного рогатого скота вирус ящура изучаемого штамма накапливался с титром инфекционной активности 5,00 Ig ИД₅₀/0,1 см², а в организме свиней – 4,75 Ig ИД₅₀/0,1 см². Антиген вируса ящура штамма «О/ЕА-3/Тунис/2019» использовали для получения штаммоспецифических сывороток крови кролика, предназначенных для диагностики ящура, и изготовления культуральной инактивированной моновалентной сорбированной вакцины, обеспечивающей защиту от заражения вирусом ящура экзотического штамма.

Заключение. Проведено исследование биологических свойств штамма вируса ящура генетической линии О/ЕА-3, выявленного на территории Северной Африки. Учитывая близкое антигенное родство ($r_1 = 0,49$) генетических линий О/ЕА-3 и О/МЕ-SA/PanAsia2, производственный штамм «О № 2356/Пакистан/2018», относящийся к линии О/МЕ-SA/PanAsia2, может использоваться для защиты животных от заражения вирусом ящура генетической линии О/ЕА-3.

Ключевые слова: ящур, штамм «О/ЕА-3/Тунис/2019», генетическая линия О/ЕА-3, реакция микронеutralизации, реакция связывания комплемента, секвенирование, вакцина

Благодарности: Работа выполнена в рамках государственного задания по теме «Изучение биологических свойств, особенностей заноса и распространения вновь выявляемых возбудителей трансграничных и эмерджентных заболеваний животных, возможных факторов их передачи».

Для цитирования: Доронин М. И., Кара Д. И., Борисов А. В., Гусева М. Н., Елькина Ю. С., Михалишин Д. В., Михалишин В. В., Оковьята Т. В., Никифоров В. В., Фомина С. Н. Исследование биологических свойств экзотического штамма «О/ЕА-3/Тунис/2019» вируса ящура генетической линии О/ЕА-3, выявленного на территории Северной Африки. *Ветеринария сегодня*. 2026; 15 (2): 131–138. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2026-15-2-131-138>

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Доронин Максим Игоревич, д-р биол. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории профилактики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ», ул. Гвардейская, 6, мкр. Юрьеvec, г. Владимир, 600901, Россия, doronin@arriah.ru

A study of the biological properties of the exotic foot-and-mouth disease virus O/EA-3/Tunisia/2019 strain (lineage O/EA-3) isolated in North Africa

Maksim I. Doronin, Dmitry I. Kara, Alexey V. Borisov, Marina N. Guseva, Yulia S. El'kina, Dmitry V. Mikhailishin, Valery V. Mikhailishin, Tatyana V. Okovyataya, Viktor V. Nikiforov, Svetlana N. Fomina

Federal Centre for Animal Health, ul. Gvardeyskaya, 6, Yur'evets, Vladimir 600901, Russia

ABSTRACT

Introduction. Foot-and-mouth disease (FMD) outbreaks that were reported in Africa in 2013–2023 (Egypt – 2013–2017, 2021, Algeria – 2018, 2019, 2022, Senegal – 2018, Libya – 2019, 2023, Morocco – 2019, Tunisia – 2019, 2022), were caused by O/EA-3 toptotype virus. Given the current epizootic situation in the

region and the trade and economic ties between the Russian Federation and African countries, there is an urgent need to study foot-and-mouth disease virus (FMDV) O/EA-3 topotype strains to facilitate the development of diagnostic and specific prevention tools against this dangerous disease.

Objective. A study of the biological properties of the exotic FMDV O/EA-3/Tunisia/2019 strain (lineage O/EA-3) isolated in North Africa.

Materials and methods. FMDV O/EA-3/Tunisia/2019 strain was isolated from cattle in Tunisia in 2019. A combination of cultural, serological, and molecular genetic methods was applied during the study.

Results. Based on comparative analysis of the nucleotide sequences, this strain was identified as belonging to the O/EA-3 genetic lineage. The antigenic relationship (r_1) of the O/EA-3/Tunisia/2019 strain with FMDV production strains ranged from 0.01 to 0.54. The studied strain accumulated in cattle to an infectious titer of $5.00 \log_{10} \text{ID}_{50}/0.1 \text{ mL}$, and in pigs to $4.75 \log_{10} \text{ID}_{50}/0.1 \text{ mL}$. The FMDV O/EA-3/Tunisia/2019 antigen served as the basis for producing strain-specific rabbit sera for FMD diagnosis, as well as a culture-derived, inactivated, monovalent, adsorbed vaccine capable of providing protection against infection with this exotic FMDV strain.

Conclusion. Biological properties of the FMDV strain (O/EA-3 lineage) isolated in North Africa were studied. In light of the close antigenic relationship ($r_1 = 0.49$) between the O/EA-3 and O/ME-SA/PanAsia2 genetic lineages, the production strain O 2356/Pakistan/2018, which belongs to the O/ME-SA/PanAsia2 lineage, may be used to protect animals against infection with FMDV of the O/EA-3 genetic lineage.

Keywords: foot-and-mouth disease, O/EA-3/Tunisia/2019 strain, O/EA-3 genetic lineage, micro-neutralization test, complement fixation test, sequencing, vaccine

Acknowledgements: The work was carried out within the framework of a state assignment on the topic "Study of the biological properties, routes of introduction, and spread patterns of emerging and transboundary animal disease pathogens, and of the factors driving their transmission".

For citation: Doronin M. I., Kara D. I., Borisov A. V., Guseva M. N., El'kina Yu. S., Mikhailishin D. V., Mikhailishin V. V., Okovyntaya T. V., Nikiforov V. V., Fomina S. N. A study of the biological properties of the exotic foot-and-mouth disease virus O/EA-3/Tunisia/2019 strain (lineage O/EA-3) isolated in North Africa. *Veterinary Science Today*. 2026; 15 (2): 131–138. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2026-15-2-131-138>

Conflict of interests: The authors declare no conflict of interests.

For correspondence: Maksim I. Doronin, Dr. Sci. (Biology), Leading Researcher, Laboratory for FMD Prevention, Federal Centre for Animal Health, ul. Gvardeyskaya, 6, Yur'evets, Vladimir 600901, Russia, doronin@arriah.ru

ВВЕДЕНИЕ

Ящур считается сверхопасным вирусным заболеванием парнокопытных животных, приводящим к глобальным экономическим потерям в производстве мясной и молочной продукции во многих государствах мира [1, 2]. Возбудителем ящура является вирус вида *Aphthovirus vesiculae* (foot-and-mouth disease virus, FMDV) рода *Aphthovirus* семейства *Picornaviridae*. В настоящее время отмечают существование семи серотипов вируса ящура: А, О, С, Азия 1, SAT 1, SAT 2 и SAT 3. Геном вируса ящура представлен одноцепочечной молекулой РНК с положительной полярностью, размером 8450–8520 н. о., которая кодирует следующие структурные белки: VP₁, VP₂, VP₃, VP₄ [3, 4, 5].

Распределение серотипов вируса ящура на земном шаре неравномерное. На территории государств Африканского материка заболеваемость обуславливается такими серотипами, как SAT 1, SAT 2, SAT 3, А и О. Следует отметить, что изоляты вируса ящура серотипа О наиболее часто встречаются в странах Восточной, Западной, Центральной и Южной Африки, а также на территории Ближнего Востока и Азиатского континента [6, 7, 8, 9, 10].

Изоляты и штаммы вируса ящура серотипа О являются самыми распространенными в мире и представлены 11 топотипами, которые встречаются на территории Западной и Восточной Африки, Юго-Восточной Азии, Европы, Ближнего Востока и Южной Америки [11, 12, 13].

Для вируса ящура характерны такие явления, как мутационная и модификационная изменчивость, особенно для изолятов и штаммов серотипа О. По этой причине данный серотип включает в себя топотипы, генетические линии и сублинии, различия между которыми определяют при анализе нуклеотидной последовательности гена 1D, кодирующего высоковариабельный протеин VP₁ [14, 15, 16].

Более 92% аминокислотных замен отмечается в структурном белке VP₁. Наиболее вариабельными

областями являются участки 40–60, 141–160 (G–H петля) и 190–213 а. о. (С-конец) [17]. Участок поверхностного белка VP₁ в регионе 141–160 а. о. отличается наиболее высокой вариабельностью, поскольку отвечает за один из важнейших этапов жизненного цикла вируса ящура – адсорбцию на поверхности клетки [5, 7, 18, 19].

Учитывая наличие торгово-экономических отношений Российской Федерации со странами Африканского континента, в частности Алжиром, Египтом, Ливией, Марокко и Тунисом, высоки риски заноса изолятов серотипа О на территорию нашей страны, это угрожает биологической безопасности России по ящуру.

Как показывают результаты анализа вспышек ящура, которые регистрировались на территории Африки, все они были вызваны вирусом генотипа О/EA-3: в Алжире – в 2018, 2019 и 2022 гг., в Египте – в 2013–2017 и 2021 гг., в Ливии – в 2019 и 2023 гг., в Марокко – в 2019 г., в Тунисе – в 2019 и 2022 гг., в Сенегале – в 2018 г. [5, 6, 8, 9, 10]. В настоящее время эпизоотическая ситуация по ящуру данной генетической линии остается напряженной, поэтому актуальным является исследование биологических свойств штаммов возбудителя линии О/EA-3.

Цель работы заключалась в исследовании биологических свойств штамма «О/EA-3/Тунис/2019» вируса ящура генетической линии О/EA-3, выявленного на территории Северной Африки.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Вирус ящура. Изолят «О/TUN 19/2019» вируса ящура был выделен в пробах от крупного рогатого скота (КРС) на территории Тунисской Республики в 2019 г. В ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» вирусный материал поступил для анализа в 2020 г. При проведении научных исследований штамм был охарактеризован и получил название «О/EA-3/Тунис/2019».

Клеточные линии. Процесс выделения вируса ящура указанного штамма осуществляли в перевиваемых монослойных линиях клеток почки сибирского горного козерога ПСГК-30, почки свиньи IB-RS-2, почки новорожденного сирийского хомячка ВНК-21. В исследовании применяли также перевиваемую суспензионную культуру клеток почки новорожденного сирийского хомячка ВНК-21/SUSP/ARRIAN [20].

Животные. В экспериментах использовали следующих животных:

- а) КРС массой по 260–310 кг (7 гол.);
- б) свиньи массой по 35–40 кг (2 гол.);
- в) кролики массой по 2,8–3,0 кг (20 гол.).

Этический статус. Исследования с участием животных проводили в соответствии с Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей. Проект исследования одобрен Комиссией по биоэтике ФГБУ «ВНИИЗЖ».

Определение генетической принадлежности штамма вируса ящура проводили с помощью реакции секвенирования на генетических анализаторах Applied Biosystems (США) при автоматизации пробоподготовки продуктов реакции с использованием станции Freedom EVO-2 100 Bas (Tecan, Швейцария).

Определение антигенного родства (r_1) в реакции микронейтрализации (PMH). Титр референтных сывороток крови КРС, полученных в результате двукратной иммунизации животных культуральными инактивированными моновалентными вакцинами, содержащими антиген производственных штаммов вируса ящура серотипа О, против гомологичного и гетерологичного вируса в дозе 2,0 Ig ТЦД₅₀, определяли в PMH и выражали в Ig SN₅₀. Значение r_1 рассчитывали как разность антилогарифма Ig SN₅₀ титров вируснейтрализующих антител сыворотки крови против гетерологичного и гомологичного штаммов вируса ящура [3].

Значение r_1 в PMH интерпретировали следующим образом:

- при $\geq 0,3$ – сравниваемые штаммы вируса ящура имеют близкое родство;
- при $< 0,3$ – сравниваемые штаммы значительно отличаются друг от друга.

Определение инфекционной активности посевного материала штамма вируса ящура проводили микрометодом в культуральных 96-луночных планшетах в соответствии с рекомендациями Всемирной организации здравоохранения животных (ВОЗЖ) [3].

Реакция связывания комплемента (РСК). Исследование антигена вируса ящура указанного штамма для определения содержания полных вирусных частиц осуществляли с помощью количественного варианта РСК [3]. Данную реакцию также применяли для определения типоспецифичности и активности штамма вируса.

Реакция микронейтрализации (PMH). Титр вируснейтрализующих антител (ВНА) в пробах сыворотки крови животных определяли с помощью PMH с использованием монослоя перевиваемой клеточной линии почки свиньи IB-RS-2 в соответствии с процедурой, отраженной в Руководстве по диагностическим тестам и вакцинам для наземных животных ВОЗЖ [3].

Получение и контроль качества антигена вируса ящура. Для изготовления антигена осуществляли культивирование вируса ящура в перевиваемой суспензионной клеточной линии почки новорожденного

сирийского хомячка ВНК-21/SUSP/ARRIAN. Титр инфекционной активности вирусной суспензии должен быть не менее 6,00 Ig ТЦД₅₀/см³. Полученную вирусную суспензию инактивировали и осветляли.

Концентрирование антигена вируса ящура проводили с применением 6–8% полиэтиленгликоля 6000 (ПЭГ 6000) с добавлением 0,85%-го хлорида натрия в течение 24 ч при температуре 2–8 °С по стандартной технологии [21].

Для изготовления сыворотки крови кролика против антигена штамма «О/ЕА-3/Тунис/2019» вируса ящура серотипа О применяли 20 клинически здоровых особей. Трехкратную иммунизацию животных осуществляли с использованием концентрированного и очищенного антигена вируса ящура, изготовленного, как описано выше.

Статистическая обработка данных. Данные результатов исследования обрабатывали методами вариационной статистики с использованием программ Statistica и Microsoft Excel [22, 23, 24].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Учитывая распространение ящура в странах – торговых партнерах Российской Федерации, были детально изучены биологические свойства штамма «О/ЕА-3/Тунис/2019», выделенного на территории Северной Африки.

Исследование генетической принадлежности штамма «О/ЕА-3/Тунис/2019» вируса ящура. По результатам сравнительного анализа нуклеотидных последовательностей установлено, что штамм «О/ЕА-3/Тунис/2019» вируса ящура принадлежит серотипу О, топотипу ЕА-3 (рис. 1).

Анализируя аминокислотные последовательности вирусного протеина VP₁ для штамма «О/ЕА-3/Тунис/2019», выявили точечные мутации, представленные в таблице 1: в высоковариабельной области 40–60 а. о. имеются 2 замены, в диапазоне 130–160 а. о. – 4 замены, из них 2 – в диапазоне G–H петли (141–160 а. о.), находящейся в области рецептора, на С-конце (190–213 а. о.) – 2 замены. Представленные аминокислотные замены могут привести к изменению биологических свойств штамма «О/ЕА-3/Тунис/2019» вируса ящура по сравнению с другими изолятами и штаммами серотипа О.

Исследование биологических свойств вируса ящура штамма «О/ЕА-3/Тунис/2019» при репродукции в монослойных перевиваемых клеточных культурах. Выделение изолята «О/TUN 19/2019» вируса ящура осуществляли в перевиваемых монослойных культурах клеток почки сибирского горного козерога ПСГК-30, почки свиньи IB-RS-2 и почки новорожденного сирийского хомячка ВНК-21 в течение 5 последовательных пассажей. Результаты адаптации вируса указанного штамма к представленным клеточным культурам продемонстрированы в таблице 2.

Установлено, что репродукция штамма «О/ЕА-3/Тунис/2019» вируса ящура эффективнее происходит при культивировании в монослойной клеточной линии ПСГК-30: титр инфекционной активности – (7,50 ± 0,10) Ig ТЦД₅₀/см³.

Исследование биологических свойств вируса ящура штамма «О/ЕА-3/Тунис/2019» в организме КРС и свиней. Заражали КРС (2 гол.) исходным штаммом вируса ящура интрадермоингвально (I пассаж).

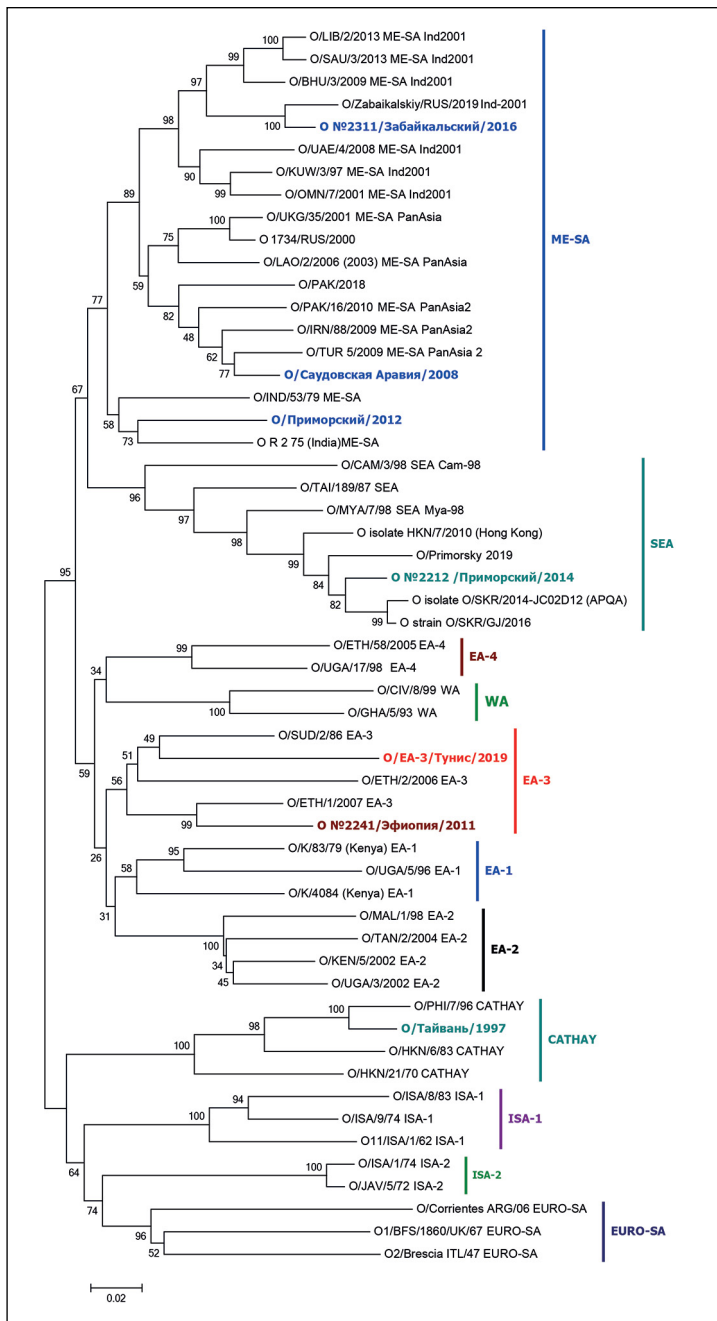


Рис. 1. Филогенетическое древо, построенное на сравнении полных аминокислотных последовательностей вирусного белка VP1 и отражающее родство штамма «O/EA-3/Тунис/2019» вируса ящура с эпизоотическими изолятами и производственными штаммами серотипа O

Fig. 1. Phylogenetic tree based on complete VP1 amino acid sequences showing the relationship of the FMDV O/EA-3/Tunisia/2019 strain with O-serotype field isolates and production strains

Адаптацию и наработку вируса ящура штамма «O/EA-3/Тунис/2019» с последующим титрованием осуществляли на КРС. Титр инфекционной активности на КРС составил $5,00 \lg \text{ИД}_{50}/0,1 \text{ см}^3$. Аналогичная работа проведена на свиньях, титр инфекционной активности был равен $4,75 \lg \text{ИД}_{50}/0,1 \text{ см}^3$.

Изучение биологических свойств штамма вируса ящура «O/EA-3/Тунис/2019» при репродукции в перевиваемой суспензионной клеточной линии ВНК-21/SUSP/ARRIAH. По окончании репродук-

Таблица 1
Аминокислотные замены высоковариабельных участков белка VP1 штамма «O/EA-3/Тунис/2019» по сравнению с последовательностями эпизоотических изолятов и производственных штаммов вируса ящура серотипа O

Table 1
Amino acid substitutions in the hypervariable VP1 regions of the O/EA-3/Tunisia/2019 strain compared with FMDV serotype O field isolates and production strains

Высоко-вариабельная область	Позиция в протеине	Аминокислотная замена
Высоковариабельная область 40–60 а. о.	49	Ile→Val
	57	Thr→Ala
Высоковариабельная область (130–160 а. о.), в том числе G–H петля (141–160 а. о.)	134	Asn→Ser
	139	Glu→Ala
	156	Val→Ala
	159	Thr→Lys
С-конец (190–213 а. о.)	196	His→Tyr
	198	Ser→Thr

ции указанного штамма вируса ящура концентрация общего вирусного белка в суспензии составила $(2,78 \pm 0,20) \text{ мкг/см}^3$. При концентрации клеток линии ВНК-21/SUSP/ARRIAH, равной $(4,05 \pm 0,18) \text{ млн кл/см}^3$, дозе заражения $0,005 \text{ ТЦД}_{50}/\text{кл}$ и продолжительности репродукции вируса $(10,50 \pm 0,25) \text{ ч}$ средний титр инфекционной активности возбудителя ящура был на уровне $(7,99 \pm 0,15) \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$, содержание 146S компонента – $(2,10 \pm 0,14) \text{ мкг/см}^3$ ($n = 3$, Mean \pm SD, $p < 0,01$).

Определение типовой специфичности и активности штамма «O/EA-3/Тунис/2019» вируса ящура в реакции связывания комплемента проводили с применением сывороток крови морских свинок на производственные штаммы вируса ящура «O/EA-3/Тунис/2019», «O № 2241/Эфиопия/2011», «A № 2029/Турция/06», «Азия-1/Таджикистан/2011», «SAT-1/Танзания/2012», «SAT-2/SAU/7/2000», «SAT-3/Бечуаналенд/65». По результатам исследования выявлено, что штамм «O/EA-3/Тунис/2019» вируса ящура обладает выраженной типовой специфичностью, относится к серотипу O и активен в РСК в разведении 1:64 ($n = 3$, $p < 0,01$).

Получение антигена вируса ящура штамма «O/EA-3/Тунис/2019» проводили, как указано выше. Результаты спектрометрического исследования полученных фракций вируса ящура штамма «O/EA-3/Тунис/2019» после ультрацентрифугирования представлены в таблице 3. Анализ проводили для всех фракций, высокие значения оптической плотности наблюдали для фракций 4–11 с максимальными значениями для фракции № 8 ($1,985 \pm 0,002 \text{ о. е.}$, $n = 3$, Mean \pm SD, $p < 0,01$).

По результатам белкового гель-электрофореза в полиакриламидном геле в денатурирующих условиях получен очищенный 100-кратный антиген вируса ящура штамма «O/EA-3/Тунис/2019».

Данный антиген использовали в качестве компонента при проведении РСК для детекции антигена вируса ящура штамма «O/EA-3/Тунис/2019» в исследуемых пробах инактивированного сырья при изготовлении

Таблица 2

Биологические свойства вируса ящура штамма «О/ЕА-3/Тунис/2019» при репродукции в монослойных клеточных линиях ($n = 10$, Mean \pm SD, $p < 0,05$)

Table 2

Reproduction dynamics of FMDV O/EA-3/Tunisia/2019 in monolayer cell lines ($n = 10$, Mean \pm SD, $p < 0.05$)

Наименование монослойной клеточной линии	Время развития ЦПД, ч	Количество адаптационных пассажей	Характеристика адаптированного материала	
			Активность в РСК	Титр инфекционной активности вируса, Ig ТЦД ₅₀ /см ³
ПСГК-30	17,00 \pm 0,25	5	1:64	7,50 \pm 0,10
IB-RS-2	19,25 \pm 0,25	5	1:32	7,35 \pm 0,08
ВНК-21	20,50 \pm 0,25	5	1:16	7,25 \pm 0,10

ЦПД – цитопатическое действие (cytopathic effect); РСК – реакция связывания комплемента (complement fixation test).

вакцинных препаратов. Для определения диагностической чувствительности теста анализировали 325 заведомо положительных проб антигена, в результате анализа было подтверждено, что все они положительные. Для исследования специфичности РСК тестировали 205 отрицательных образцов антигена вируса ящура, все они идентифицированы как отрицательные. Пользуясь статистическими методами анализа [22, 23, 24], определили, что в 95%-м доверительном интервале диагностическая чувствительность составляла 98,41–100,00%, диагностическая специфичность – 98,32–100,00%, общая точность – 99,37–100,00%.

Получение штаммоспецифических сывороток кролика. Исследуемый антиген применяли для иммунизации 20 кроликов, активность сывороток крови которых в РСК составила 1:2000. Данный показатель является высоким и свидетельствует о пригодности сывороток для изготовления средств диагностики для выявления антигена вируса ящура и определения вирусоспецифических антител.

Полученные сыворотки объединили в общий пул и подвергли лиофилизации. Данный антителный вирусоспецифический препарат использовали для проведения РСК для детекции антигена вируса ящура штамма «О/ЕА-3/Тунис/2019». Для определения диагностической чувствительности реакции анализировали 390 проб антигена, которые являлись заведомо положительными. Для исследования специфичности реакции тестировали 220 отрицательных проб. В 95%-м доверительном интервале диагностическая чувствительность составила 99,10–100,00%, диагностическая специфичность – 98,35–100,00%, общая точность – 99,38–100,00%.

В результате была создана диагностическая тест-система, включающая штаммоспецифические сыворотки крови кролика для определения антигена вируса ящура штамма «О/ЕА-3/Тунис/2019» в РСК.

Применение антигена вируса ящура штамма «О/ЕА-3/Тунис/2019» для изготовления вакцины. Из полученного антигена приготовили сорбированную вакцину и в цельном виде ввели 5 гол. КРС. На 21-е сут после иммунизации отобрали кровь, получили сыворотки, которые исследовали на наличие антител к вирусу ящура штамма «О/ЕА-3/Тунис/2019» в РМН. Результаты отражены в таблице 4, из которой следует, что среднее значение титра вируснейтрализующих антител в РМН составило (2,18 \pm 0,07) Ig SN₅₀ (положительно при титре вируснейтрализующих

Таблица 3

Результаты спектрометрического исследования полученных фракций штамма «О/ЕА-3/Тунис/2019» вируса ящура ($n = 3$, Mean \pm SD, $p < 0,01$)

Table 3

The spectrometric analysis results of all FMDV O/EA-3/Tunisia/2019 strain fractions ($n = 3$, Mean \pm SD, $p < 0.01$)

Номер фракции	Значение оптической плотности, о. е.	Номер фракции	Значение оптической плотности, о. е.
1	0,012 \pm 0,001	8	1,985 \pm 0,002
2	0,255 \pm 0,001	9	1,765 \pm 0,001
3	0,625 \pm 0,001	10	1,451 \pm 0,001
4	1,002 \pm 0,001	11	1,012 \pm 0,001
5	1,241 \pm 0,001	12	0,505 \pm 0,002
6	1,545 \pm 0,001	13	0,185 \pm 0,001
7	1,798 \pm 0,002	14	0,008 \pm 0,001

о. е. – оптические единицы (optical density units).

Таблица 4

Выявление антител к структурным белкам вируса ящура штамма «О/ЕА-3/Тунис/2019» после однократной иммунизации КРС на 21-е сут после вакцинации в реакции микронейтрализации ($n = 3$, Mean \pm SD, $p < 0,01$)

Table 4

Antibody titers against FMDV O/EA-3/Tunisia/2019 structural proteins after single cattle vaccination (21 days post vaccination, micro-neutralization test, $n = 3$, Mean \pm SD, $p < 0.01$)

Номер животного	Титр вируснейтрализующих антител в РМН*, Ig SN ₅₀
1	2,23 \pm 0,04
2	2,12 \pm 0,04
3	2,15 \pm 0,04
4	2,12 \pm 0,04
5	2,27 \pm 0,04
M \pm m	2,18 \pm 0,07

* при дозе вируса ящура, равной 2,0 Ig ТЦД₅₀/см³ (at FMDV dose of 2.0 log₁₀ TCID₅₀/mL); РМН – реакция микронейтрализации (micro-neutralization test).

антител $\geq 1,65$ Ig SN₅₀). Таким образом, антиген вируса данного штамма можно применять для создания вакцины, обеспечивающей защиту от инфицирования вирусом ящура указанного штамма.

Исследование степени антигенного родства (r_1) в РМН. Антигенное родство (r_1) штамма «О/ЕА-3/Тунис/2019» вируса ящура анализировали

Таблица 5

Антигенное родство (r_1) штамма «O/EA-3/Тунис/2019» с вакцинными штаммами вируса ящура серотипа O в реакции микронейтрализации

Table 5

Antigenic relationship (r_1) of the FMDV O/EA-3/Tunisia/2019 strain with serotype O vaccine strains by micro-neutralization test

Название производственного штамма вируса ящура	Название генетической линии вируса ящура	Значения показателя r_1 в РМН с производственными штаммами вируса ящура для штамма «O/EA-3/Тунис/2019»
«O № 1715/Тайвань/1997»	O/CATHAY/CAM 94	0,14
«O № 2212/Приморский/2014»	O/SEA/Mya-98	0,20
«O № 2147/Приморский/2012»	O/ME-SA/PanAsia	0,25
«O № 2047/Саудовская Аравия/2008»	O/ME-SA/PanAsia2	0,39
«O № 2356/Пакистан/2018»	O/ME-SA/PanAsia2	0,49
«O/TUR/5/2009»	O/ME-SA/PanAsia2	0,35
«O № 2311/Забайкальский/2016»	O/ME-SA/Ind-2001d	0,18
«O/Парагвай/2011»	O/EURO-SA	0,01
«O/Кения/2017»	O/EA-2	0,17
«O № 2241/Эфиопия/2011»	O/EA-3	0,54

– антигенное родство с производственными штаммами генетической линии O/ME-SA/PanAsia2 (antigenic relationship with production strains of the O/ME-SA/PanAsia2 genetic lineage);

– близкое антигенное родство с производственным штаммом той же генетической линии O/EA-2 (close antigenic relationship with a production strain of the same O/EA-2 genetic lineage).

в РМН с применением специфических сывороток, полученных на указанные ниже производственные штаммы:

- «O № 2212/Приморский/2014» (генетическая линия O/SEA/Mya-98);
- «O № 2047/Саудовская Аравия/2008» (генетическая линия O/ME-SA/PanAsia2);
- «O № 2356/Пакистан/2018» (генетическая линия O/ME-SA/PanAsia2);
- «O/TUR/5/2009» (генетическая линия O/ME-SA/PanAsia2);
- «O № 2147/Приморский/2012» (генетическая линия O/ME-SA/PanAsia);
- «O № 2311/Забайкальский/2016» (генетическая линия O/ME-SA/Ind-2001d);
- «O № 1715/Тайвань/1997» (генетическая линия O/CATHAY/CAM 94);
- «O/Парагвай/2011» (генетическая линия O/EURO-SA);
- «O/Кения/2017» (генетическая линия O/EA-2);
- «O № 2241/Эфиопия/2011» (генетическая линия O/EA-3).

Показатель антигенного родства при изучении штамма «O/EA-3/Тунис/2019» составлял 0,01–0,54, что свидетельствовало об отсутствии близкого антигенного родства с большинством вакцинных штаммов вируса ящура серотипа O, кроме генетических линий O/ME-SA/PanAsia2 (гетерологичная генетическая линия) и O/EA-3 (гомологичная генетическая линия). Результаты исследования отражены в таблице 5.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведено изучение биологических свойств штамма «O/EA-3/Тунис/2019» вируса ящура. В результате сравнительного анализа нуклеотидных последовательностей установлена принадлежность данного штамма к генетической линии O/EA-3. При анализе аминокислотных последовательностей белка VP₁ эпизоотических изолятов и производственных штаммов вируса ящура серотипа O для штамма «O/EA-3/Тунис/2019» выявили существенные аминокислотные замены в высоковариабельных областях 40–60, 130–160 и 190–213 а. о.

Установлено отсутствие близкого антигенного родства штамма «O/EA-3/Тунис/2019» с большинством вакцинных штаммов вируса ящура серотипа O, кроме штаммов гетерологичной O/ME-SA/PanAsia2 и гомологичной O/EA-3 генетических линий ($r_1 = 0,01–0,54$).

При исследовании биологических свойств указанного штамма вируса ящура выявлено, что в монослойной культуре клеток ПСГК-30 за (17,00 ± 0,25) ч получали вирусную суспензию с наибольшими показателями репродукции: активность в РСК составила 1:64, титр инфекционной активности – (7,50 ± 0,10) lg ТЦД₅₀/см³.

Определено, что вирус ящура штамма «O/EA-3/Тунис/2019» в организме КРС накапливался с титром инфекционной активности 5,00 lg ИД₅₀/0,1 см³, а в организме свиней – 4,75 lg ИД₅₀/0,1 см³.

Выявлено, что при концентрации клеток линии ВНК-21/SUSP/ARRIAH, равной (4,05 ± 0,18) млн кл/см³, дозе заражения 0,005 ТЦД₅₀/кл и продолжительности репродукции вируса (10,50 ± 0,25) ч средний титр инфекционной активности возбудителя ящура составил (7,99 ± 0,15) lg ТЦД₅₀/см³, содержание 146S компонента – (2,10 ± 0,14) мкг/см³.

Установлено, что данный штамм обладает выраженной типовой специфичностью и активен в РСК в разведении 1:64.

Антиген вируса ящура штамма «O/EA-3/Тунис/2019» использован для получения штаммоспецифических сывороток крови кролика (активность в РСК 1:2000) и изготовления биопрепарата, предназначенного для диагностики ящура серотипа O в РСК.

Данный антиген предложен для получения культуральной инактивированной моновалентной сорбированной вакцины, обеспечивающей защиту от заражения вирусом ящура штамма «O/EA-3/Тунис/2019»: среднее значение титра вируснейтрализующих антител в РМН составило (2,18 ± 0,07) lg SN₅₀.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Arzt J., Sanderson M. W., Stenfeldt C. Foot-and-mouth disease. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 2024; 40 (2): 191–203. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2024.01.001>
2. Diaz-San Segundo F., Medina G. N., Stenfeldt C., Arzt J., de Los Santos T. Foot-and-mouth disease vaccines. *Veterinary Microbiology*. 2017; 206: 102–112. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2016.12.018>
3. Foot and mouth disease (infection with foot and mouth disease virus). In: *WOAH. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. Chapter 3.1.8. https://www.woah.org/fileadmin/Home/fr/Health_standards/tahm/3.01.08_FMD.pdf
4. Bachanek-Bankowska K., Wadsworth J., Gray A., Abouchoaib N., King D. P., Knowles N. J. Genome sequence of foot-and-mouth disease virus serotype O isolated from Morocco in 2015. *Genome Announcements*. 2016; 4 (2): e01746-15. <https://doi.org/10.1128/genomea.01746-15>
5. Bouguedour R., Ripani A. Review of the foot and mouth disease situation in North Africa and the risk of introducing the disease into Europe. *Revue Scientifique et Technique*. 2016; 35 (3): 757–768. <https://doi.org/10.20506/rst.35.3.2566>
6. Canini L., Blaise-Boisseau S., Nardo A. D., Shaw A. E., Romey A.,

- Relmy A., et al. Identification of diffusion routes of O/EA-3 topotype of foot-and-mouth disease virus in Africa and Western Asia between 1974 and 2019 – a phylogeographic analysis. *Transboundary and Emerging Diseases*. 2022; 69 (5): e2230–e2239. <https://doi.org/10.1111/tbed.14562>
7. Colenutt C., Brown E., Nelson N., Wadsworth J., Maud J., Adhikari B., et al. Environmental sampling as a low-technology method for surveillance of foot-and-mouth disease virus in an area of endemicity. *Applied and Environmental Microbiology*. 2018; 84 (16):e00686–18. <https://doi.org/10.1128/aem.00686-18>
8. Ellis J., Brown E., Colenutt C., Gubbins S. Assessing the effectiveness of environmental sampling for surveillance of foot-and-mouth disease virus in a cattle herd. *Frontiers in Veterinary Science*. 2023; 10:1074264. <https://doi.org/10.3389/fvets.2023.1074264>
9. González Gordon L., Porphyre T., Muhanguzi D., Muwonge A., Boden L., Bronsvoort B. M. C. A scoping review of foot-and-mouth disease risk, based on spatial and spatio-temporal analysis of outbreaks in endemic settings. *Transboundary and Emerging Diseases*. 2022; 69 (6): 3198–3215. <https://doi.org/10.1111/tbed.14769>
10. Howson E. L. A., Armonson B., Lyons N. A., Chepkwony E., Kasanga C. J., Kandusi S., et al. Direct detection and characterization of foot-and-mouth disease virus in East Africa using a field-ready real-time PCR platform. *Transboundary and Emerging Diseases*. 2018; 65 (1): 221–231. <https://doi.org/10.1111/tbed.12684>
11. Kabela T. I., Fana E. M., Hyera J. M., Lebani K. A review of foot-and-mouth disease status and control measures in Botswana. *Tropical Animal Health and Production*. 2023; 55 (4):278. <https://doi.org/10.1007/s11250-023-03674-5>
12. Kardjadj M. History of foot-and-mouth disease in North African countries. *Veterinaria Italiana*. 2018; 54 (1): 1–12. <https://doi.org/10.12834/vetit.928.4711.2>
13. Paton D. J., Füssel A.-E., Vosloo W., Dekker A., De Clercq K. The use of serosurveys following emergency vaccination, to recover the status of "foot-and-mouth disease free where vaccination is not practised". *Vaccine*. 2014; 32 (52):7050–7056. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2014.10.064>
14. Zewdie G., Akalu M., Tolossa W., Belay H., Deresse G., Zekarias M., Tesfaye Y. A review of foot-and-mouth disease in Ethiopia: epidemiological aspects, economic implications, and control strategies. *Virology Journal*. 2023; 20 (1):299. <https://doi.org/10.1186/s12985-023-02263-0>
15. Shaw A. E., Lebani K., González Gordon L., Ihearahu U. E., Wadsworth J., Hicks H. M., et al. Universal amplification and sequencing of foot-and-mouth disease virus complete genomes using nanopore technology. *BMC Genomics*. 2025; 26 (1):770. <https://doi.org/10.1186/s12864-025-11938-7>
16. Singh I., Deb R., Kumar S., Singh R., Andonissamy J., Smita S., et al. Deciphering foot-and-mouth disease (FMD) virus-host tropism. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*. 2019; 37 (18): 4779–4789. <https://doi.org/10.1080/07391102.2019.1567386>
17. Sobhy N. M., Bayoumi Y. H., Mor S. K., El-Zahar H. I., Goyal S. M. Outbreaks of foot and mouth disease in Egypt: molecular epidemiology, evolution and cardiac biomarkers prognostic significance. *International Journal of Veterinary Science and Medicine*. 2018; 6 (1): 22–30. <https://doi.org/10.1016/j.ijvsm.2018.02.001>
18. Squarzone-Diaw C., Arsevska E., Kalthoum S., Hammami P., Cherni J., Daoudi A., et al. Using a participatory qualitative risk assessment to estimate the risk of introduction and spread of transboundary animal diseases in scarce-data environments: a spatial qualitative risk analysis applied to foot-and-mouth disease in Tunisia 2014–2019. *Transboundary and Emerging Diseases*. 2021; 68 (4): 1966–1978. <https://doi.org/10.1111/tbed.13920>
19. Ularanu H. G., Lefebvre D. J., Haegeman A., Wungak Y. S., Ehizibolo D. O., Lazarus D. D., et al. Complex circulation of foot-and-mouth disease virus in cattle in Nigeria. *Frontiers in Veterinary Science*. 2020; 7:466. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.00466>
20. Лозовой Д. А., Гусева М. Н., Михалишин Д. В., Доронин М. И., Манин Б. Л., Шишкова А. А. и др. ВНК-21/SUSP/ARRIAH – перевиваемая суспензионная сублиния клеток почки новорожденного сирийского хомячка, предназначенная для репродукции вирусов ящура, бешенства, паратриппа-3, болезни Ауески при производстве противовирусных вакцин, а также для изготовления диагностических и профилактических ветеринарных биопрепаратов. Патент № 2722671 С1 Российская Федерация, МПК С12Н 5/10. ФГБУ «ВНИИЗЖ». № 2019131190. Заявл. 01.10.2019. Опубл. 02.06.2020. Бюл. № 16.
- Lozovoj D. A., Guseva M. N., Mikhailishin D. V., Doronin M. I., Manin B. L., Shishkova A. A., et al. ВНК-21/SUSP/ARRIAH – continuous suspension subline of newborn syrian hamster kidney cells, intended for reproduction of foot-and-mouth disease viruses, rabies, parainfluenza-3, Aujeszky's disease in producing antiviral vaccines, as well as for making diagnostic and preventive veterinary biopreparations. Patent No. 2722671 C1 Russian Federation, Int. C12N 5/10. Federal Centre for Animal Health. No. 2019131190. Date of filing: 01.10.2019. Date of publication: 02.06.2020. Bull. No. 16. (in Russ.)
21. Луговская Н. Н., Калинина Е. Н., Малкова К. С., Воробьева О. В., Горячева Г. М., Майорова Т. К. Валидация методики определения уровня противоящурных антител в реакции жидкофазного блокирующего «сэндвич»-варианта иммуноферментного анализа. *Ветеринария сегодня*. 2015; (3): 22–29. <https://veterinary.ariah.ru/jour/article/view/203>
- Lugovskaya N. N., Kalinina Ye. N., Malkova K. S., Vorobyova O. V., Goryacheva G. M., Mayorova T. K. Validation of the technique aimed at the determination of FMD antibodies in liquid phase blocking sandwich ELISA. *Veterinary Science Today*. 2015; (3): 22–29. <https://veterinary.ariah.ru/jour/article/view/203> (in Russ.)
22. OIE Quality Standard and Guidelines for Veterinary Laboratories: Infectious Diseases, 2nd ed. Paris, 2008. 70 p.
23. Stumpf M. P. H. Biology challenging statistics. *Statistical Applications in Genetics and Molecular Biology*. 2018; 17 (4):20180048. <https://doi.org/10.1515/sagmb-2018-0048>
24. Viari A. Big data in biology. *Médecine Sciences*. 2012; 28 (12): 1027–1028. <https://doi.org/10.1051/medsci/20122812001> (in French)

Поступила в редакцию / Received 14.01.2026

Поступила после рецензирования / Revised 19.03.2026

Принята к публикации / Accepted 03.04.2026

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Доронин Максим Игоревич, д-р биол. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории профилактики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-4682-6559>, doronin@ariah.ru

Maksim I. Doronin, Dr. Sci. (Biology), Leading Researcher, Laboratory for FMD Prevention, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-4682-6559>, doronin@ariah.ru

Кара Дмитрий Игоревич, аспирант, ветеринарный врач лаборатории профилактики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0009-0005-6242-9886>, kara@ariah.ru

Dmitry I. Kara, Postgraduate Student, Veterinarian, Laboratory for FMD Prevention, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0009-0005-6242-9886>, kara@ariah.ru

Борисов Алексей Валерьевич, канд. вет. наук, заведующий лабораторией профилактики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0001-9880-9657>, borisov_av@ariah.ru

Alexey V. Borisov, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Head of Laboratory for FMD Prevention, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-9880-9657>, borisov_av@ariah.ru

Гусева Марина Николаевна, канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории профилактики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-3997-3390>, guseva_mn@ariah.ru

Marina N. Guseva, Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher, Laboratory for FMD Prevention, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-3997-3390>, guseva_mn@ariah.ru

Елькина Юлия Сергеевна, канд. вет. наук, младший научный сотрудник лаборатории профилактики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-2986-8992>, elkina_ys@arriah.ru

Yulia S. El'kina, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Junior Researcher, Laboratory for FMD Prevention, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-2986-8992>, elkina_ys@arriah.ru

Михалишин Дмитрий Валерьевич, д-р вет. наук, главный эксперт информационно-аналитического центра ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-1718-1955>, mihalishindv@arriah.ru

Dmitry V. Mikhailishin, Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Chief Expert, Information and Analysis Centre, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-1718-1955>, mihalishindv@arriah.ru

Михалишин Валерий Васильевич, д-р вет. наук, профессор, главный научный сотрудник информационно-аналитического центра ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0009-0001-9538-5657>, mihalishin@arriah.ru

Valery V. Mikhailishin, Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Professor, Chief Researcher, Information and Analysis Centre, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0009-0001-9538-5657>, mihalishin@arriah.ru

Оковытая Татьяна Владимировна, канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории профилактики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0009-0002-8403-8665>, okovitaya@arriah.ru

Tatyana V. Okovytaya, Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher, Laboratory for FMD Prevention, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0009-0002-8403-8665>, okovitaya@arriah.ru

Никифоров Виктор Викторович, канд. вет. наук, заведующий референтной лабораторией диагностики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-3390-3209>, nikiforov@arriah.ru

Viktor V. Nikiforov, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Head of Reference Laboratory for FMD Diagnosis, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-3390-3209>, nikiforov@arriah.ru

Фомина Светлана Николаевна, канд. вет. наук, ведущий научный сотрудник референтной лаборатории диагностики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-2122-9096>, fomina@arriah.ru

Svetlana N. Fomina, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Leading Researcher, Reference Laboratory for FMD Diagnosis, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-2122-9096>, fomina@arriah.ru

Вклад авторов: Доронин М. И. – формирование идеи, формулировка и развитие ключевых целей и задач, проведение исследований, анализ и интерпретация полученных данных, подготовка и редактирование текста, принятие ответственности за все аспекты работы, целостность всех частей статьи и ее окончательный вариант; Кара Д. И. – проведение исследований, статистический анализ и интерпретация полученных данных, подготовка рисунков, обсуждение результатов; Борисов А. В. – научное консультирование, редактирование текста статьи; Гусева М. Н. – сбор статистических данных; Елькина Ю. С. – сбор статистических данных; Михалишин Д. В. – научное консультирование; Михалишин В. В. – научное консультирование; Оковытая Т. В. – подготовка рисунков; Никифоров В. В. – подготовка и редактирование текста; Фомина С. Н. – подготовка рисунков.

Contribution of the authors: Doronin M. I. – conceptualization, formulation and development of the key objectives and tasks, investigations, analysis and interpretation of the obtained data, preparation and editing of the manuscript, taking responsibility for all aspects of the work, integrity of all parts of the article, and for its final version; Kara D. I. – investigations, statistical analysis and interpretation of the obtained data, data visualization, discussion of the results; Borisov A. V. – scientific consultation, manuscript editing; Guseva M. N. – collection of statistical data; El'kina Yu. S. – collection of statistical data; Mikhailishin D. V. – scientific consultation; Mikhailishin V. V. – scientific consultation; Okovytaya T. V. – data visualization; Nikiforov V. V. – preparation and editing of the manuscript; Fomina S. N. – data visualization.