



УДК 619:616.98:578.835.2:616-036.22(517)

# ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ИЗОЛЯТОВ ВИРУСА ЯЩУРА, ВЫЯВЛЕННЫХ НА ПОСТСОВЕТСКОМ ПРОСТРАНСТВЕ И В МОНГОЛИИ В 2016 ГОДУ

А. М. Тимина<sup>1</sup>, Н. Г. Зиняков<sup>2</sup>, А. В. Щербаков<sup>3</sup>, Д. А. Лозовой<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Старший научный сотрудник, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: timina@arriah.ru

<sup>2</sup> Старший научный сотрудник, кандидат биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: zinyakov@arriah.ru

<sup>3</sup> Заведующий лабораторией, кандидат биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: ascherbakov@arriah.ru

<sup>4</sup> Директор, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: lozovoy@arriah.ru

## РЕЗЮМЕ

Федеральный центр охраны здоровья животных (ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия) является Региональной референтной лабораторией МЭБ по ящуру для стран Восточной Европы, Центральной Азии и Закавказья и Референтным центром ФАО по ящуру для стран Центральной Азии и Западной Евразии. Задачей ФГБУ «ВНИИЗЖ» как региональной референтной лаборатории/центра по ящуру является непрерывное наблюдение за вирусом ящура, циркулирующим на постсоветском пространстве, выявление новых генетических вариантов вируса и сравнение их антигенных свойств с имеющимися вакцинными штаммами. В данной работе описаны результаты филогенетического анализа вируса ящура, вызвавшего в 2016 г. вспышки болезни в Армении, Забайкальском крае России, Средней Азии и Монголии. В результате проведенных исследований установлено, что вспышки ящура в Армении вызваны вирусом, относящимся к генетической линии A/G-VII, которая получила распространение на Ближнем Востоке в 2015 г. и ранее никогда не регистрировалась на постсоветском пространстве. Причина вспышек ящура в Забайкальском крае в ноябре – декабре 2016 г. – вирус генетической линии O/Ind-2001d, экзотической для России. Ящур в Средней Азии был обусловлен вирусом O/ME-SA/PanAsia-2, эндемичным в этом регионе. В Монголии вспышка ящура была вызвана вирусом, принадлежащим к генетической линии A/Sea-97, которая уже регистрировалась в этой стране в 2013 г. Результаты генотипирования вируса ящура имеют важное значение для корректировки мероприятий по борьбе с болезнью.

Ключевые слова: вирус ящура, филогенетический анализ.

## ВВЕДЕНИЕ

Ящур – высококонтагиозная вирусная болезнь домашних и диких парнокопытных животных. Относится к категории трансграничных болезней, способных преодолевать границы между государствами, вызывать эпизоотии и наносить большой экономический ущерб животноводству.

Возбудителем болезни является безоболочечный РНК-содержащий вирус ящура, представитель рода *Aphthovirus* семейства *Picornaviridae*. Различают семь серотипов вируса: О, А, С, Азия-1, SAT-1, SAT-2 и SAT-3. В пределах каждого типа существует множество генетических и антигенных вариантов вируса.

В настоящее время в мире существует семь экосистем (пулов) вируса ящура: 1 – Юго-Восточная Азия

и Китай, 2 – Южная Азия, 3 – Ближний и Средний Восток, 4 – Западная и Центральная Африка, 5 – Восточная Африка, 6 – Южная Африка и 7 – Южная Америка [3]. В каждом пуле циркулируют штаммы вируса ящура, отличающиеся по генетическим и антигенным свойствам. Эти устойчивые генетические группы получили название топотипов [6, 8]. В пределах каждого топотипа различают многочисленные генетические линии и сублинии вируса ящура.

Ситуация по ящуру в мире очень динамична. Ежегодно регистрируются многочисленные случаи заноса болезни из эндемичных регионов в страны, свободные от ящура. В эндемичных регионах в силу естественной эволюции вируса периодически возникают новые ге-

нетические линии или сублинии, которые вытесняют существовавшие ранее.

Для эффективной борьбы с ящуром необходимо отслеживать появление новых генетических и антигенных вариантов вируса, против которых существующие вакцины могут оказаться неэффективными.

В 2005 г. с целью глобального надзора за ящуром была создана международная сеть референтных лабораторий, которая включает одну всемирную, четыре региональных и несколько национальных лабораторий. ФГБУ «ВНИИЗЖ» (г. Владимир, Россия) входит в эту сеть как Региональная референтная лаборатория МЭБ по ящуре для стран Восточной Европы, Центральной Азии и Закавказья и Референтный центр ФАО по ящуре для стран Центральной Азии и Западной Евразии.

Одной из задач ФГБУ «ВНИИЗЖ» является непрерывное наблюдение за вирусом ящюра, циркулирующим на постсоветском пространстве, выявление новых генетических вариантов вируса (филогенетический анализ) и сравнение их антигенных свойств с имеющимися вакцинными штаммами (matching).

В данной работе представлены результаты филогенетического анализа вируса ящюра, вызвавшего вспышки болезни на постсоветском пространстве и в Монголии в 2016 г.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

**Патологический материал.** Для исследований использовали пробы афтозного эпителия от крупного рогатого скота.

**Выделение РНК.** РНК выделяли из 10%-й суспензии эпителия методом аффинной сорбции на стекловолокнистых фильтрах [2].

**Обратная транскрипция и полимеразная цепная реакция (ОТ-ПЦР).** Амплификацию гена VP1 проводили методом ОТ-ПЦР в соответствии с «Методическими указаниями по индикации генома и штаммовой дифференциации вируса ящюра методом полимеразной цепной реакции и секвенированием гена VP1» [1].

**Секвенирование.** Секвенирование осуществляли с использованием набора BigDye® Terminator Cycle Sequencing Kit и автоматического секвенатора ABI Prism 3130 (Applied Biosystems, США).

**Анализ нуклеотидных последовательностей** проводили с использованием пакета программ BioEdit. Для графического построения дендрограмм применяли программу MEGA 6, Neighbor-joining method, 1000 bootstrap replications.

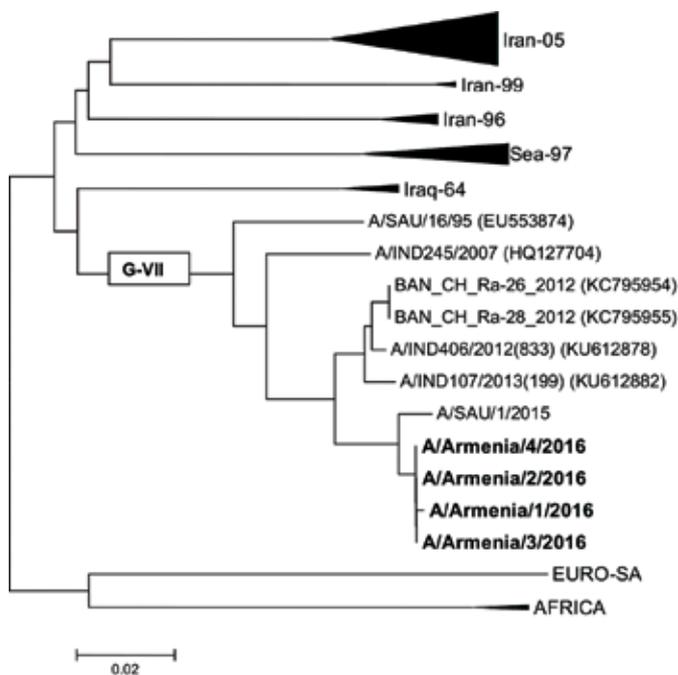
### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В конце декабря 2015 – январе 2016 г. в населенном пункте Аразап на границе Армении с Турцией была зарегистрирована вспышка ящюра среди крупного рогатого скота и свиней. Патологический материал от больных животных поступил в ФГБУ «ВНИИЗЖ» для лабораторных исследований. Методом ОТ-ПЦР в реальном времени в четырех пробах материала был обнаружен вирус ящюра. Филогенетический анализ показал, что выявленный вирус принадлежит к генетической линии G-VII серотипа А (рис. 1).

Эта генетическая линия эндемична в Южной Азии и до 2015 г. за пределами полуострова Индостан обнаруживалась только в Саудовской Аравии в 1995 г. и в Европе (Албания и Македония) в 1996 г. [5]. Осенью 2015 г. вирус ящюра А/G-VII вызвал многочисленные вспышки болезни сразу в нескольких странах за преде-

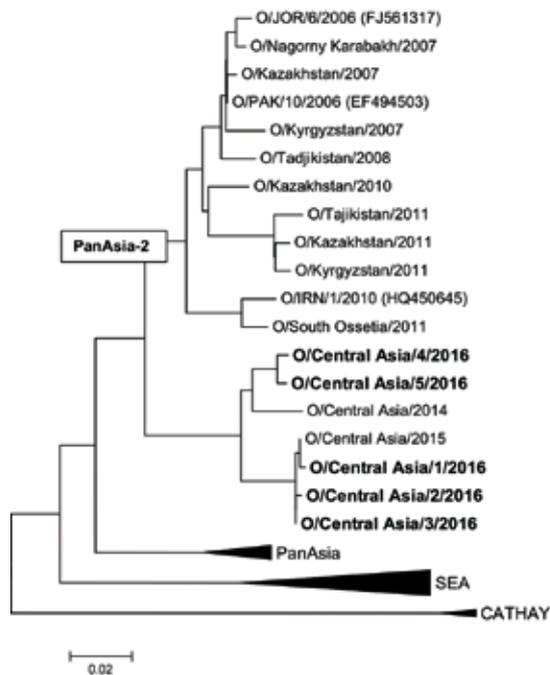
**Рис. 1. Положение армянских изолятов 2016 г. на филогенетическом древе вируса ящюра типа А**  
Дендрограмма основана на сравнении полных нуклеотидных последовательностей гена VP1.

**Fig. 1. Armenian isolates 2016 on Type A FMDV tree diagram**  
The tree diagram is based on VP1 gene sequence comparison.



**Рис. 2. Положение среднеазиатских изолятов на филогенетическом древе вируса ящюра типа О**  
Дендрограмма основана на сравнении полных нуклеотидных последовательностей гена VP1.

**Fig. 2. Middle Asian isolates on Type O FMDV tree diagram**  
The tree diagram is based on VP1 gene sequence comparison.



лами своего естественного ареала: Саудовской Аравии, Турции и Иране [7]. Очевидно, именно с территории Турции этот вирус был занесен в Армению.

Главная опасность ситуации заключалась в том, что традиционные вакцинные штаммы не способны защищать животных от вируса ящура A/G-VII. Европейская комиссия по ящуру Продовольственной и сельскохозяйственной организации ООН (Рим, Италия) официально предупредила страны Закавказья об угрозе, которую представляет для них новый штамм вируса, и рекомендовала им применять новые, оперативно разработанные вакцины.

В апреле 2016 г. в ФГБУ «ВНИИЗЖ» поступил для исследований патологический материал от крупного рогатого скота, полученный в одной из бывших советских республик Средней Азии. В пяти образцах методом ОТ-ПЦР был выявлен вирус ящура типа О. Секвенирование и филогенетический анализ показали, что вирус, обнаруженный в исследованных пробах, принадлежит к генетической линии O/PanAsia-2 и генетически близок к среднеазиатским изолятам 2014–2015 гг. (рис. 2).

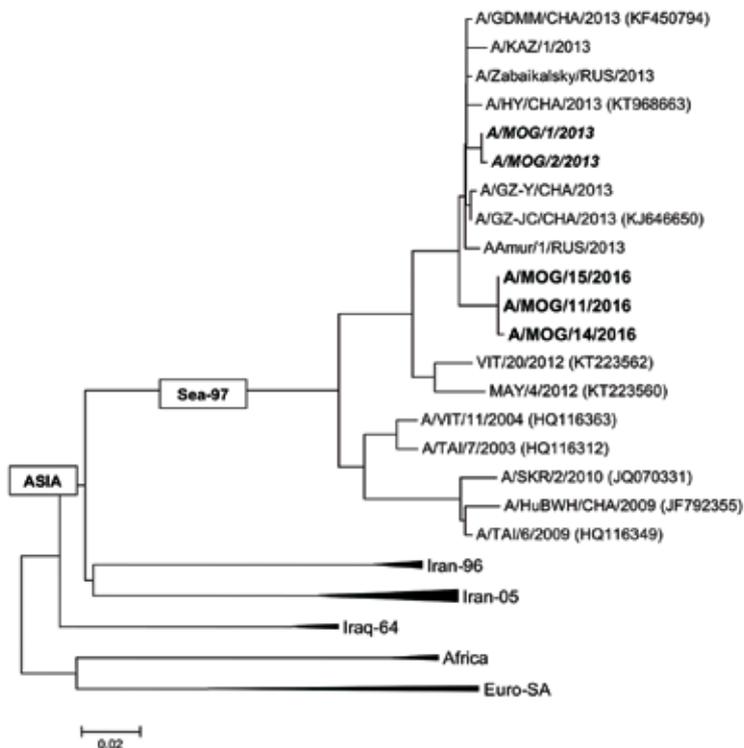
Вспышки, вызванные вирусом O/PanAsia-2, регистрируются на постсоветском пространстве последние 10 лет. В 2007 г. данный вирус распространился из Южной Азии на Ближний Восток и Центральную Азию, вытеснил из этих регионов линию O/PanAsia и доминирует в них до настоящего времени. За этот период вирус значительно дивергировал, образовав несколько генетических сублиний [7].

Проведенные исследования свидетельствуют о том, что ситуация по ящуру в Средней Азии принципиально не изменилась: здесь по-прежнему циркулирует вирус, принадлежащий к генетической линии O/PanAsia-2, а значит, вакцина на основе данного штамма по-прежнему актуальна для стран этого региона.

12 августа 2016 г. в ФГБУ «ВНИИЗЖ» поступил патологический материал от крупного рогатого скота из Монголии. Согласно сопроводительной документации, пробы были отобраны 17 июля 2016 г. в провинции Govi-Sumber. В трех из пяти поступивших проб методом ОТ-ПЦР был обнаружен вирус ящура. Секвенирование и филогенетический анализ показали, что он относится к генетической линии Sea-97 топотипа Asia серотипа А (рис. 3).

Вирус A/Asia/Sea-97 уже регистрировался в Монголии в 2013 г. Генетическая линия A/Sea-97 эндемична в странах Юго-Восточной Азии. В 2013 г. он вышел за пределы своего естественного ареала и вызвал панзоотию, охватившую Китай, Россию (Забайкальский край и Амурскую область), Монголию и Казахстан (Восточно-Казахстанскую область). В Российской Федерации, Монголии и Казахстане ящур был ликвидирован. Однако в Китае искоренить вирус A/Asia/Sea-97 не удалось, и вызванные им вспышки регистрировались в стране в 2013–2015 гг. В 2016 г. КНР не сообщала о ящуре типа А на своей территории, однако необходимо учитывать, что эта страна традиционно сообщает не обо всех вспышках. Поскольку непосредственный занос вируса A/Asia/Sea-97 в Монголию из стран Юго-Восточной Азии маловероятен, можно предположить, что он по-прежнему циркулирует в Китае и именно с территории этой страны был занесен в Монголию.

Результаты исследований свидетельствуют о том, что включение штамма A/Asia/Sea-97 в состав проти-



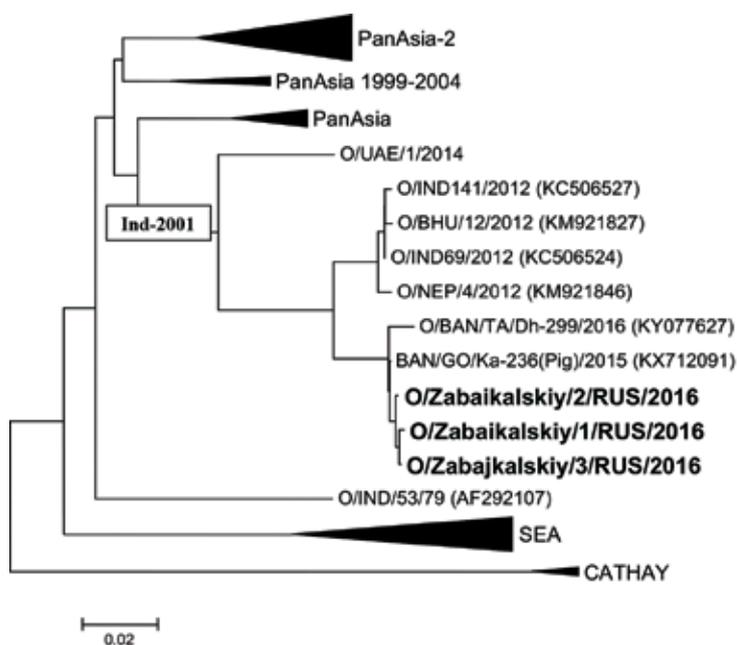
**Рис. 3. Положение монгольских изолятов 2016 г. на филогенетическом древе вируса ящура типа А**  
Дендрограмма основана на сравнении полных нуклеотидных последовательностей гена VP1.

**Fig. 3. Mongolian isolates 2016 on Type A FMDV phylogenetic tree diagram**  
The tree diagram is based on VP1 gene sequence comparison

воящурной вакцины для Монголии и буферной зоны Российской Федерации по-прежнему является актуальным.

В ноябре – декабре 2016 г. в населенных пунктах Среднеаргунск, Падь Широкая и Кайластуй Забайкальского края Российской Федерации были зарегистрированы вспышки ящура типа О. Филогенетический анализ показал, что вирус, вызвавший эти вспышки, относится к генетической линии Ind-2001d, которая ранее никогда не регистрировалась в России и на постсоветском пространстве (рис. 4).

Из изолятов вируса ящура, чьи нуклеотидные последовательности представлены в международной базе данных GenBank, к забайкальскому вирусу наиболее близким оказался изолят BAN/GO/Ка-236(Pig)/2015 (KX712091) – 99,7–99,8% гомологии. По первичной структуре гена VP1 забайкальские изоляты отличались от вируса из Бангладеш всего по 1–2 нуклеотидным основаниям (н. о.). Использование базы данных Всемирной референтной лаборатории МЭБ/ФАО по ящуру (Великобритания) позволило установить, что забайкальский вирус на 99,2% идентичен тайским изолятам TAI-225-2016R3 и TAI-269-2-2016 и на 99,1% – непальским изолятам 2015–2016 гг. [7]. Занос вируса ящура в Забайкальский край из этих стран маловероятен. Более вероятным представляется другой сценарий: вирус ящура линии O/ME-SA/Ind-2001 был занесен из одной из этих стран сначала в Китай, там получил достаточно широкое распространение и затем уже



**Рис. 4. Положение забайкальских изолятов 2016 г. на филогенетическом древе вируса ящура типа O**

Дендрограмма основана на сравнении полных нуклеотидных последовательностей гена VP1.

**Fig. 4. Zabaikalsky Krai isolates on Type O FMDV tree diagram**

The tree diagram is based on VP1 gene sequence comparison.

с территории КНР попал в приграничные населенные пункты Забайкальского края России. В 2016 г. Китай сообщил о вспышках ящура типа O на своей территории [4], однако их генетическая характеристика пока неизвестна.

В настоящее время актуальной задачей является определение эффективности вакцины, применяемой в буферной зоне Российской Федерации, против вируса ящура линии O/Ind-2001d.

Таким образом, проведенные исследования показали, что на постсоветском пространстве в 2016 г. появились две новые генетические линии вируса ящура (A/G-VII и O/Ind-2001d) и при этом продолжает циркулировать вирус O/PanAsia-2. В Монголии повторно зарегистрирована линия A/Sea-97.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Ящур в Средней Азии был обусловлен вирусом O/ME-SA/PanAsia-2, который в 2007 г. распространился из Южной Азии на Ближний Восток и Центральную Азию, вытеснил из этих регионов линию O/PanAsia и доминирует в них по настоящее время. За этот период вирус значительно дивергировал, образовав несколько генетических сублиний. Поэтому вакцина на основе данного штамма по-прежнему актуальна для стран этого региона. Секвенирование и филогенетический анализ вируса, выделенного из проб, поступивших из Монголии, показали, что он относится к генетической линии A/Sea-97, которая регистрировалась в этой стране в 2013 г.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Щербаков А. В., Перевозчикова Н. А., Дрыгин В. В. Методические указания по индикации генома и штаммовой дифференциации вируса ящура методом полимеразной цепной реакции и секвенированием гена VP1 // Методические указания по диагностике заболеваний сельскохозяйственных животных методом полимеразной цепной реакции. – Владимир, 1998. – С. 31–41.
2. Application of RT-PCR and nucleotide sequencing in foot-and-mouth disease diagnosis / A. Scherbakov, N. Lomakina, V. Drygin, A. Gusev // Vet. Q. – 1998. – Vol. 20, No. 2. – P. 32–34.
3. Foot-and-mouth disease. – URL: <http://www.foot-and-mouth.org> (дата обращения: 02.02.17).
4. Foot-and-mouth disease, China. – URL: [http://oie.int/wahis\\_2/public/wahid.php/Reviewreport/Review?page\\_refer=MapFullEventReport&reportid=21595](http://oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Reviewreport/Review?page_refer=MapFullEventReport&reportid=21595) (дата обращения: 29.09.17).
5. Incursions of foot-and-mouth disease virus into Europe between 1985 and 2006 / J. F. Valarcher, Y. Leforban, M. Rweyemamu [et al.] // Transbound. Emerg. Dis. – 2008. – Vol. 55, No. 1. – P. 14–34.
6. Knowles N. J., Samuel A. R. Molecular epidemiology of foot-and-mouth disease virus // Virus Res. – 2003. – Vol. 91, No. 1. – P. 65–80.
7. Molecular epidemiology reports produced by the FAO World Reference Laboratory for FMD. – URL: [http://www.wrlfmd.org/fmd\\_genotyping](http://www.wrlfmd.org/fmd_genotyping) (дата обращения: 02.02.17).
8. Samuel A. R., Knowles N. J. Foot-and-mouth disease type O viruses exhibit genetically and geographically distinct evolutionary lineages (topotypes) // J. Gen. Virol. – 2001. – Vol. 82, No. 3. – P. 609–621.

# PHYLOGENETIC ANALYSIS OF FMDV ISOLATES RECOVERED IN POST-SOVIET STATES AND MONGOLIA IN 2016

A. M. Timina<sup>1</sup>, N. G. Zinyakov<sup>2</sup>, A. V. Scherbakov<sup>3</sup>, D. A. Lozovoy<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Senior Researcher, Candidate of Science (Veterinary Medicine), FGBI "ARRIAH", Vladimir, e-mail: timina@arriah.ru

<sup>2</sup>Senior Researcher, Candidate of Science (Biology), FGBI "ARRIAH", Vladimir, e-mail: zinyakov@arriah.ru

<sup>3</sup>Head of Laboratory, Candidate of Science (Biology), FGBI "ARRIAH", Vladimir, e-mail: ascherbakov@arriah.ru

<sup>4</sup>Director, Candidate of Science (Veterinary Medicine), FGBI "ARRIAH", Vladimir, e-mail: lozovoy@arriah.ru

## SUMMARY

Federal Centre for Animal Health (FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia) is an OIE Regional Reference Laboratory for Foot-and-Mouth Disease for Eastern Europe, Central Asia and Transcaucasia and FAO Reference Centre for Foot-and-Mouth Disease for Central Asia and Western Eurasia. The FGBI "ARRIAH's" objectives as a Regional Reference Laboratory/Centre include continuous FMDV monitoring in post-Soviet states, detection of new genetic virus variants and matching their antigenic properties with antigenic properties of available vaccine virus strains. The paper demonstrates results of phylogenetic analysis of foot-and-mouth disease virus (FMDV) that caused the disease in Armenia, Zabaikalsky Krai (Russia), Middle Asia and Mongolia in 2016. The test results are indicative of the fact that FMD outbreaks in Armenia were caused by the virus belonging to A/G-VII genetic lineage that was widely spread in the Near East in 2015 and had been never reported in post-Soviet states before. The FMD outbreaks in the Zabaikalsky Krai in November – December 2016 were caused by the exotic for Russia FMD virus of O/Ind-2001d genetic lineage. In Middle Asia FMD was caused by O/ME-SA/PanAsia-2 virus belonging to the O/ME-SA/PanAsia-2 genetic lineage and endemic for the region. In Mongolia the FMD outbreak was caused by the virus belonging to A/Sea-97 genetic lineage that had been previously reported in this country in 2013. Results of the virus genotyping are of particular importance for adjustment of the disease control measures.

**Key words:** foot-and-mouth disease virus (FMDV), phylogenetic analysis.

## INTRODUCTION

Foot-and-mouth disease is a highly contagious viral disease of domestic and wild cloven-hoofed animals. It falls under the category of transboundary diseases capable of crossing international borders, causing epidemics and inflicting major economic damage to the livestock industry.

The disease is caused by non-enveloped RNA virus of genus *Aphthovirus*, family *Picornaviridae*. There are seven serotypes of FMDV, namely O, A, C, Asia 1, SAT 1, SAT 2, and SAT 3. Within each type a large number of genetic and antigenic virus variants can be identified.

Currently there are seven FMDV ecosystems (pools): 1 – South East Asia and China, 2 – South Asia, 3 – Near and Middle East, 4 – West and Central Africa, 5 – East Africa, 6 – South Africa and 7 – South America [3]. Antigenically and genetically different FMD viruses are circulating in each pool. Such stable genetic groups were named as topotypes [6, 8]. Within each topotype multiple genetic FMDV lineages and sub-lineages are differentiated.

Global FMD situation is highly dynamic. Annually multiple cases of the disease introduction are reported in FMD free countries. Due to the virus natural evolution

new genetic lineages and sub-lineages emerge in endemic regions thus replacing previously existing ones.

For the FMD control to be efficient, emergence on new genetic and antigenic virus variants should be monitored as currently used vaccines can be ineffective against them.

In 2005, an International Network of Reference Laboratories was established and included one World Reference Laboratory, four Regional Reference Laboratories and several National Reference Laboratories. The FGBI "ARRIAH" (Vladimir, Russia) is a member of the Network as OIE Regional Reference Laboratory for Foot-and-Mouth Disease for Eastern Europe, Central Asia and Transcaucasia and FAO Reference Centre for Central Asia and Western Eurasia.

Among the FGBI "ARRIAH's" objectives is continuous monitoring of FMDV circulation in post-Soviet states, detection of new genetic virus variants (phylogenetic analysis) and matching their antigenic properties with antigenic properties of available vaccine virus strains.

The paper demonstrates results of phylogenetic analysis of FMDV that caused the disease outbreaks in post-Soviet countries and Mongolia in 2016.

## MATERIALS AND METHODS

**Pathological material.** Aphthous epithelium samples collected from cattle were used in the studies.

**RNA extraction.** RNA was extracted from 10% epithelium suspension by means of binding on the fibrous glass filters [2].

**Reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR).** VP1 gene amplification was performed using RT-PCR according to Methodical instructions on FMDV genome indication and strain differentiation using polymerase chain reaction and VP1 gene sequencing [1].

**Sequencing.** Sequencing was performed using BigDye Terminator Cycle Sequencing kit and automatic sequencer ABI Prism 3130 (Applied Biosystems, США).

**Nucleotide sequences were analyzed** using BioEdit software. Tree diagrams were plotted using MEGA 6, Neighbor-Joining method, 1000 bootstrap replications.

## RESULTS AND DISCUSSION

In the end of December 2015 – January 2016, an FMD outbreak was reported in cattle and pigs settlement located in Arazap on the border between Armenia and Turkey. Samples from the diseased animals were delivered for testing to the FGBI ARRIAH. FMD virus was isolated from four samples using real time RT-PCR. Phylogenetic analysis demonstrated that the isolated virus belonged to serotype A of G-VII genetic lineage (Fig. 1, P. 4).

This genetic lineage is endemic in South Asia and before 2015 outside Indostan peninsular it was detected only in Saudi Arabia (1995) and Europe (Albania and Macedonia) (1996) [5]. In autumn 2015, A/G-VII FMDV caused multiple outbreaks in several countries outside its natural range: Saudi Arabia, Turkey and Iran [7]. The virus was obviously introduced to Armenia from Turkey.

The key hazard of the situation is that conventional vaccines cannot protect animals against A/G-VII FMDV. The European Commission for the Control of Foot-and-Mouth Disease (EuFMD) of the UN Food and Agricultural Organization (Rome, Italy) officially warned the Transcaucasian countries about the threat posed by the new strain and recommended to use new and rapidly developed vaccines.

The pathological material collected from cattle in one of the former Soviet Republics in Middle Asia was delivered for testing into the FGBI "ARRIAH" in April 2016. RT-PCR results demonstrated Type O FMDV in five samples. Sequencing and phylogenetic analysis demonstrated that the isolated virus belonged to O/PanAsia-2 genetic lineage and it was genetically related to Middle Asian isolates of 2014–2015 (Fig. 2, P. 4).

Outbreaks induced by O/PanAsia-2 virus have been reported in the post-Soviet states in the past 10 years. The virus spread from the South Asia to the Near East and Central Asia in 2007, it replaced O/PanAsia lineage from these regions and have been dominating there until now. In the meantime the virus significantly diverged and formed several genetic lineages [7].

The tests performed are indicative of the fact that FMD situation in the Middle East has not radically changed: virus of O/PanAsia-2 is still circulating there and thus the vaccine based on such strain is still relevant for the countries located in this region.

On August 12, 2016 pathological material collected from cattle in Mongolia was delivered for testing into the FGBI "ARRIAH". According to the accompanying documents the samples were collected in Govi-Sumber Aimag on July 17, 2016. RT-PCR results demonstrated FMDV in three out of five samples. Sequencing and phylogenetic analysis indicated that the virus belonged to Sea-97 genetic lineage, Asia topotype, serotype A (Fig. 3, P. 5).

A/Asia/Sea-97 virus was reported in Mongolia already in 2013. A/Sea-97 genetic lineage is endemic in South-East Asian countries. In 2013 it spread out of its natural habitat and caused panzootics that seized China, Russia (Zabaikalsky Krai and Amur Oblast), Mongolia and Kazakhstan (East Kazakhstan Oblast). FMD was eradicated in the Russian Federation, Mongolia and Kazakhstan. However, China failed to eradicate A/Asia/Sea-97 virus, and its outbreaks were reported in the country in 2013–2015. In 2016, the PRC did not notify any FMD outbreaks, however, consideration should be given to the fact that this country traditionally notifies not all outbreaks. As direct introduction of A/Asia/Sea-97 virus to Mongolia from South-East Asia is hardly probable, is it likely to be still circulating in China and it was introduced into Mongolia from this territory.

The test results are indicative of the fact that integration of A/Asia/Sea-97 strain into the FMD vaccine is still relevant for Mongolia and for the protection zone in the Russian Federation.

Type O FMDV outbreaks were reported in Sredneargusk, Pad' Shirokaya and Kailastuj settlements (Zabaikalsky Krai, the Russian Federation) in November – December 2016. The phylogenetic analysis demonstrated that the virus, which caused these outbreaks, belonged to

Ind-2001d genetic lineage that had never been reported in Russia and post-Soviet countries before (Fig. 4, P. 6).

Out of all FMDV isolates deposited in the GenBank database the isolate BAN/GO/Ka-236(Pig)/2015 (KX712091) was the most closely related to the Zabaikalsky Krai virus (homology: 99.7–99.8%). According to the primary VP1 gene structure the Zabaikalsky Krai isolates differed from the Bangladesh virus in just 1–2 nucleobases. Data from the OIE/FAO WRLFMD (Great Britain) allowed to establish that the Zabaikalsky Krai virus was 99.2% identical to Thai isolates TAI-225-2016R3 and TAI-269-2-2016 and 99.1% identical to Nepal isolates recovered in 2015–2016 [7]. FMDV introduction to Zabaikalsky Krai from these countries is hardly probable. Other scenario is more possible: FMDV of O/ME-SA/Ind-2001 genetic lineage was initially introduced from one of these countries to China and widely spread there. Hereafter it was introduced from China to the border settlements in the Zabaikalsky Krai, Russia. In 2016, China notified Type O FMD outbreaks [4], however genetic data are not yet available.

Currently of topical significance is determination of the vaccine efficacy against O/Ind-2001d FMDV in the Russian Federation protective zone.

Thus the studies demonstrated that two novel genetic lineages had emerged in the post-Soviet countries in 2016 (A/G-VII и O/Ind-2001d). Moreover, O/PanAsia-2 virus still circulates in the region. Virus of A/Sea-97 genetic lineage was repeatedly reported in Mongolia.

## CONCLUSION

In Middle Asia FMD was caused by O/ME-SA/PanAsia-2 virus that spread from Southern Asia to Near East and Central Asia in 2007, replaced O/PanAsia viruses in these regions and has been dominating there to the present day. In the meantime the virus significantly diverged and formed several genetic lineages. Therefore, the vaccine based on this strain is still relevant for the countries of this region. Sequencing and phylogenetic analysis of the virus isolated from the samples from Mongolia demonstrated that the virus belonged to A/Sea-97 genetic lineage that was reported in the country in 2013.

## REFERENCES

1. Scherbakov A. V., Perevozchikova N. A., Drygin V. V. Methodical instructions on FMDV genome indication and strain differentiation using polymerase chain reaction and VP1 gene sequencing // Methodical guidelines for livestock disease diagnosis using polymerase chain reaction. – Vladimir, 1998. – P. 31–41.
2. Application of RT-PCR and nucleotide sequencing in foot-and-mouth disease diagnosis / A. Scherbakov, N. Lomakina, V. Drygin, A. Gusev // *Vet. Quart.* – 1998. – Vol. 20, No. 2. – P. 32–34.
3. Foot-and-mouth disease. – URL: <http://www.foot-and-mouth.org> (accessed date: 02.02.17).
4. Foot-and-mouth disease, China. – URL: [http://oie.int/wahis\\_2/public/wahid.php/Reviewreport/Review?page\\_refer=MapFullEventReport&reportid=21595](http://oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Reviewreport/Review?page_refer=MapFullEventReport&reportid=21595) (accessed date: 29.09.17).
5. Incursions of foot-and-mouth disease virus into Europe between 1985 and 2006 / J. F. Valarcher, Y. Leforban, M. Rweyemamu [et al.] // *Transbound. Emerg. Dis.* – 2008. – Vol. 55, No. 1. – P. 14–34.
6. Knowles N. J., Samuel A. R. Molecular epidemiology of foot-and-mouth disease virus // *Virus Res.* – 2003. – Vol. 91, No. 1. – P. 65–80.
7. Molecular epidemiology reports produced by the FAO World Reference Laboratory for FMD. – URL: [http://www.wrlfmd.org/fmd\\_genotyping](http://www.wrlfmd.org/fmd_genotyping) (accessed date: 02.02.17).
8. Samuel A. R., Knowles N. J. Foot-and-mouth disease type O viruses exhibit genetically and geographically distinct evolutionary lineages (topotypes) // *J. Gen. Virol.* – 2001. – Vol. 82, No. 3. – P. 609–621.