

УДК 619:578.831.2:636.3:57.082.26

DOI 10.29326/2304-196X-2019-2-29-35-40

ИЗУЧЕНИЕ РЕПРОДУКЦИИ ВИРУСОВ ОСПЫ ОВЕЦ И ОСПЫ КОЗ В ПЕРВИЧНЫХ И СУБКУЛЬТИВИРУЕМЫХ КЛЕТКАХ

А. Б. Сарбасов¹, Б. Л. Манин², Р. В. Яшин³, И. Н. Шумилова⁴, В. И. Диев

¹ Ведущий научный сотрудник, кандидат биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: sarbasov@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-1742-7989

² Ведущий научный сотрудник сектора культуры клеток, кандидат биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: manin@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-5263-1491

³ Заведующий лабораторией, кандидат биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: yashin@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-1385-705X

⁴ Ведущий ветврач, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: shumilova@arriah.ru; ORCID ID 0000-0001-6132-5771

РЕЗЮМЕ

Представлены результаты экспериментальных исследований по репродукции вирусов оспы овец и оспы коз в первичных и субкультивируемых культурах клеток, полученных из почек и тестикул ягненка и козленка. Субкультивирование монослойных культур клеток проводили в пластиковых флаконах в течение пяти пассажей и заражали вирусами оспы овец и оспы коз. Показано, что производственные штаммы «ВНИИЗЖ» вируса оспы овец и «ВНИИЗЖ 2003» вируса оспы коз успешно размножаются как в первичной культуре, так и в субкультуре клеток почки и тестикул ягненка и козленка. Активность полученных вирусов оспы овец и оспы коз после пяти пассажей достигала $5,5-6,0 \text{ Ig TCID}_{50} / \text{cm}^3$. Учитывая, что современные условия выращивания клеток позволяют субкультивировать первично трипсинизированные популяции до 25–30 пассажей, для получения в производственных масштабах вирусов оспы коз, оспы овец и в научных исследованиях наряду с перевиваемыми линиями можно использовать и субкультуры.

Ключевые слова: субкультуры тканей тестикул и почек овец и коз, вирус оспы овец, вирус оспы коз, цитопатическое действие.

UDC 619:578.831.2:636.3:57.082.26

TESTING SHEEP AND GOAT POX VIRUSES FOR THEIR REPRODUCTION IN PRIMARY AND SUBCULTURED CELLS

A. B. Sarbasov¹, B. L. Manin², R. V. Yashin³, I. N. Shumilova⁴, V. I. Diev

¹ Leading Researcher, Candidate of Science (Biology), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: sarbasov@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-1742-7989

² Leading Researcher, Candidate of Science (Biology), Cell Culture Unit, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: manin@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-5263-1491

³ Head of Laboratory, Candidate of Science (Biology), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: yashin@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-1385-705X

⁴ Leading Veterinarian, Candidate of Science (Veterinary Medicine), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: shumilova@arriah.ru; ORCID ID 0000-0001-6132-5771

SUMMARY

Results of tests of sheep and goat poxviruses for their reproduction in primary and subcultured cell cultures derived from lamb and goat kid kidneys and testicles are presented. Monolayer cultures were subcultured by 5 passages in plastic vials and infected with sheep and goat poxviruses. It was shown that production ARRIAH strain of sheep pox virus and ARRIAH 2003 strain of goat pox virus successfully propagated both in primary lamb and goat kid kidney and testicle cell cultures and lamb and goat kid kidney and testicle cell subcultures. Activity of sheep and goat poxviruses passaged 5 times was $5.5-6.0 \text{ Ig TCID}_{50} / \text{cm}^3$. Taking into account that modern cell cultivation conditions allow primary trypsinized cell populations subcultivation up to 25–30th passage, subcultures together with continuous cell lines can be used for large-scale sheep and goat poxvirus production and research purposes.

Key words: sheep and goat kidney and testicle tissue subcultures, sheep poxvirus, goat poxvirus, cytopathic effect.

ВВЕДЕНИЕ

Оспа овец и оспа коз – вирусные заболевания, характеризующиеся лихорадкой, образованием папул, или узелков, пустул (редко), внутренних поражений (в частности, в легких), часто с летальным исходом. Оспа овец и коз вызывает энзоотии в Африке к северу от экватора – на Среднем Востоке и в Азии [1]. Вспышки (эпизоотии) этих болезней недавно зафиксированы в некоторых частях Европы. Страны, заявившие о вспышках болезни в период с 2010 по 2015 г., – Болгария, Китайский Тайбэй, Израиль, Казахстан, Кыргызстан, Монголия, Марокко, Греция и Россия. В Греции, Израиле и России наблюдались рецидивы болезни [13]. По данным Всемирной организации здравоохранения животных (МЭБ), в 1996–2007 гг. неблагополучными по этим заболеваниям были 55 стран, в том числе 7 стран СНГ. В РФ оспа мелких жвачных регистрировалась в 1994–2000 и 2002–2003 гг. [3, 9, 10].

Возбудители оспы овец и оспы коз – вирус оспы овец (ВОО) и вирус оспы коз (ВОК) – относятся к роду *Capripoxvirus* семейства *Poxviridae* [14].

Несмотря на то что каприпиксвирусы преимущественно поражают свой вид животных-хозяев, жестко детерминированной специфичностью они не обладают и способны инфицировать гетерологичные виды животных. В литературных источниках описана способность штаммов ВОО и ВОК в экспериментальных условиях вызывать заболевание как у овец, так и у коз [11, 12].

Опасность болезни заключается в высокой контагиозности и летальности, которая при доброкачественном течении составляет 5–10% и достигает 80–100% в случае проявления сопутствующих инфекций [2].

Для изготовления вакцин и диагностикумов из ВОО и ВОК уже много лет используют как первичные и субкультивируемые клетки, так и перевиваемые (постоянные) культуры клеток. Использование трофовариантов культур клеток имеет как свои преимущества, так и некоторые недостатки. Так, перевиваемые линии более технологичны и используются для производства вакцин, а первичные и субкультивируемые клетки предпочтительнее для наработки посевных материалов вируса и для диагностических целей [8].

В связи с вышеизложенным представляется целесообразным наличие в арсенале научных и производственных лабораторий нескольких культуральных систем для выращивания вирусов, которые бы дополняли и заменяли друг друга.

Целью данной работы было изучение репродукции вируса оспы овец и вируса оспы коз в первичных и субкультивируемых клетках, полученных из почек и тестикул барана (*Ovis aries*) и козла (*Capra hircus*).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Вирусный материал. В работе использовали производственный штамм «ВНИИЗЖ» вируса оспы овец с инфекционной активностью $5,5 \pm 0,25 \text{ Ig ТЦД}_{50}/\text{см}^3$ и производственный штамм «ВНИИЗЖ 2003» вируса оспы коз с инфекционной активностью $6,0 \pm 0,25 \text{ Ig ТЦД}_{50}/\text{см}^3$, полученные на клеточной линии ЯДК-04.

Культура клеток. Культивирование вирусов проводили в первично трипсинизированной культуре клеток, а также в субкультурах 2–5 пассажей почки и тестикул ягненка. В опыте использовали субкультуры 2–5 пассажей почки и тестикул козленка, которые были получены в 2006 г. и хранились в жидком азоте. Возраст животных составлял 4–6 недель. Клеточные культуры инкубировались при температуре $37,0 \pm 0,5 \text{ }^\circ\text{C}$.

Определение биологической активности полученных вирусных материалов проводили в реакции микротитрования с использованием постоянной клеточной линии ЯДК-04.

Питательные среды и растворы. В качестве ростовой среды для субкультур клеток использовали смесь питательных сред ПСП и 199 в соотношении 3:1 с добавлением 10% сыворотки крови крупного рогатого скота (КРС), обработанной лантаноидами, и рН 7,0–7,2.

В качестве поддерживающей среды для вируса использовали питательную среду ПСП с 2% инактивированной при $58 \text{ }^\circ\text{C}$ в течение 30 мин сыворотки крови КРС (рН 7,3–7,5). Перед инокуляцией вируса монослой клеток промывали солевым раствором Хенкса с рН 7,1–7,2. Коррекцию рН среды в процессе культивирования вируса проводили 7,5%-м раствором бикарбоната натрия.

Для предотвращения бактериального пророста в питательную среду и в раствор Хенкса добавляли 100 ед./мл канамицина и 40 ед./мл гентамицина.

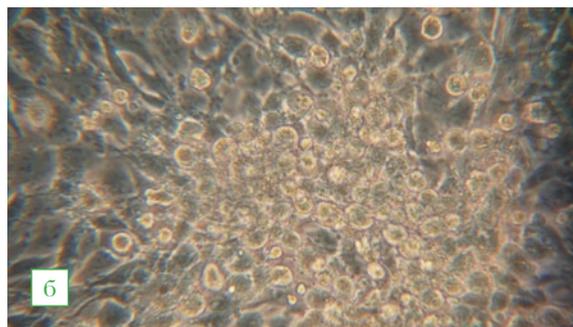
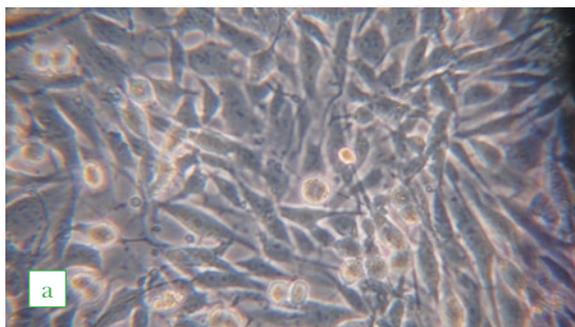
Оборудование. Лабораторное культивирование клеток проводили во флаконах фирмы Corning (США) с площадью роста 25 см^2 .

Цитоморфологические изменения в культуре при взаимодействии с вирусом ежедневно изучали и фиксировали в фазовом контрасте на микроскопах Olympus CKX-41 и Zeiss IM при увеличении в 100 и 400 крат. Все рисунки были сделаны с увеличением $\times 400$ через 48–72 ч.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для изучения репродукции ВОО и ВОК проводилось перекрестное заражение обоими вирусами первичных и субкультивируемых клеток, полученных как из органов естественных хозяев, так и из органов близкородственных видов: для ВОО – это коза, а для ВОК – овца.

Рис. 1. Монослой культуры клеток ЯДК-04 (а) и проявление ЦПД после заражения вирусами оспы овец и оспы коз (б)



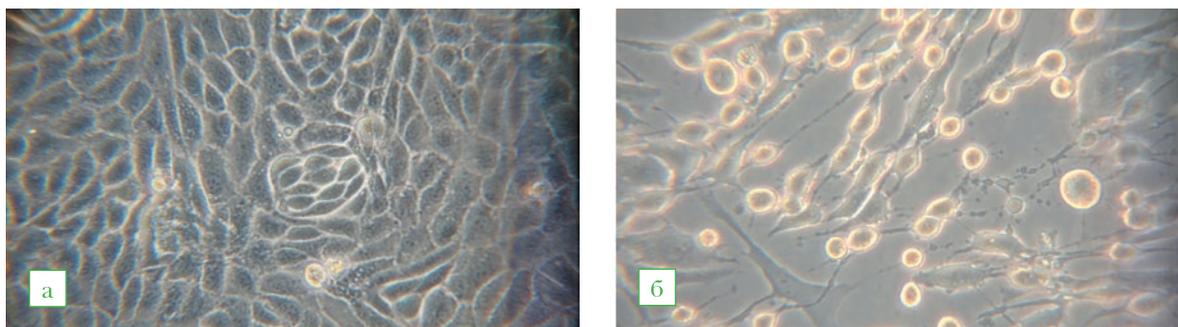


Рис. 2. Монослой первичной культуры ПБ (а) и проявление ЦПД вируса оспы овец (б)

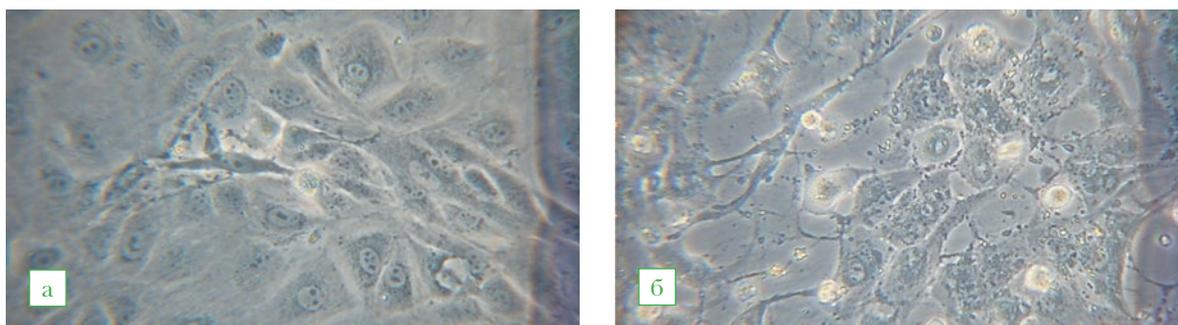


Рис. 3. Монослой субкультивируемых клеток ПК (а) и проявление ЦПД вируса оспы овец (б)

Нужно отметить, что для крупномасштабного производства вакцин против оспы овец и оспы коз стандартно используется постоянная клеточная линия ЯДК-04. Было подробно изучено цитопатическое действие (ЦПД) этих вирусов на клетки и монослой в целом [7]. Клеточная линия ЯДК-04 обладает высокой продуктивностью (до 30 тыс. клеток на см^2). Нормальная морфология представлена в основном однородными веретенообразными и эпителиоподобными клетками; делящиеся клетки перед митозом принимают сферическую форму, и при этом видны расходящиеся хромосомы (рис. 1а). При взаимодействии культуры с ВОО и ВОК картина ЦПД одинакова: основная масса клеток деадгезируется, принимает сферическую форму и частично агрегируется (рис. 1б). На этой стадии через 72 ч клетки промораживают и в дальнейшем получают вирус с высоким титром (см. таблицу).

В отличие от перевиваемой линии ЯДК-04 первичные культуры и субкультуры, полученные из почек и тестикул козлят и ягнят, отличаются полиморфизмом клеток и низкой продуктивностью. В среднем продуктивность первичной и субкультуры в 3–4 раза ниже, чем у перевиваемых линий, но первичные культуры – диплоидные и обладают биологическими свойствами организмов-доноров.

Было изучено 8 вариантов взаимодействия вирусов оспы овец и коз с первичными культурами и субкультурами почек и тестикул овец и коз.

Морфология первичной культуры и субкультуры почки барана (ПБ) отличалась наличием крупных полиморфных клеток с четкими границами (рис. 2а). Культура обладала умеренным гликолизом, значение рН среды в процессе культивирования не опускалось ниже 6,8.

Цитопатическое действие ВОО в первичной культуре ПБ начиналось уже на первые сутки. Через 72 ч монослой был тотально поражен. Почти все клетки

деадгезировались (рис. 2б). На подложке оставались сильно трансформированные крупные клетки.

Аналогичная трансформация происходила с субкультурой 5-го и 16-го пассажей. Титр вируса представлен в таблице.

Клетки субкультуры почки козла (ПК) также отличались полиморфностью и крупными размерами (рис. 3а), ядра и ядрышки хорошо контрастировались. Цитопатическое действие ВОО на этой субкультуре отличалось от предыдущего варианта. В терминальной стадии взаимодействия монослой значительно был разрежен. Только часть клеток приняла сферическую форму. Остальные клетки отличались высокой гранулярностью, деградацией цитоплазмы и ядер (рис. 3б). После промораживания титр вируса был высоким (см. таблицу).

Первичные и субкультуры тестикул барана (ТБ) отличались от почечных преобладанием веретенообразных клеток (рис. 4а). Также они обладали повышенной гранулярностью и наличием внеклеточного матрикса (соединительных белков). Цитопатическое действие

Таблица
Динамика накопления вируса оспы овец и вируса оспы коз в первичных и субкультивируемых клетках

Вид субкультуры или линии клеток	Титр вируса, $\text{lg TCID}_{50}/\text{см}^2$			
	ВОО		ВОК	
	1 пассаж	5 пассаж	1 пассаж	5 пассаж
Почка барана	$5,5 \pm 0,25$	$5,5 \pm 0,25$	$5,0 \pm 0,25$	$6,0 \pm 0,25$
Тестикулы барана	$5,0 \pm 0,25$	$5,5 \pm 0,25$	$5,5 \pm 0,25$	$6,0 \pm 0,25$
Почка козленка	$4,5 \pm 0,25$	$6,0 \pm 0,25$	$5,0 \pm 0,25$	$6,5 \pm 0,25$
Тестикулы козленка	$5,0 \pm 0,25$	$6,0 \pm 0,25$	$5,0 \pm 0,25$	$5,0 \pm 0,25$
ЯДК-04	$5,0 \pm 0,25$	$5,5 \pm 0,18$	$5,5 \pm 0,25$	$6,0 \pm 0,18$

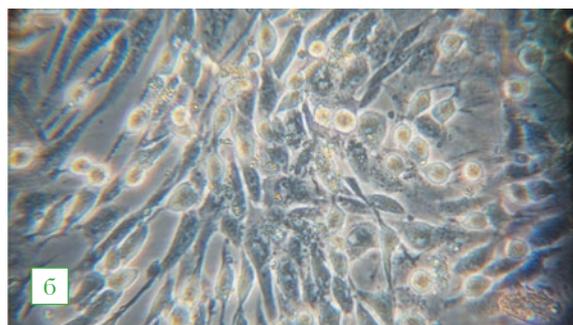
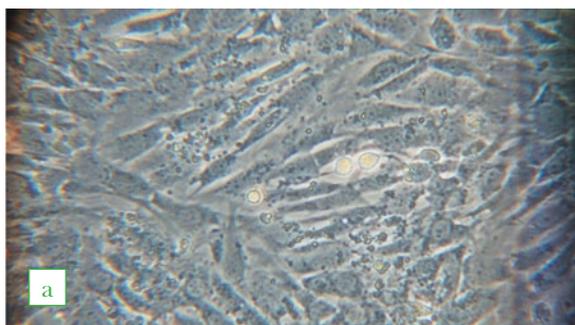


Рис. 4. Монослой культуры клеток ТБ (а) и проявление ЦПД вируса оспы овец (б)

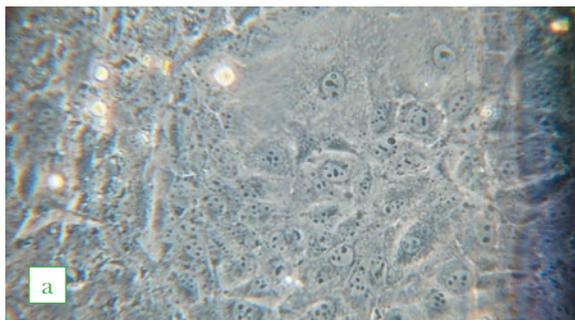


Рис. 5. Монослой субкультивируемых клеток ТК (а) и проявление ЦПД вируса оспы овец (б)

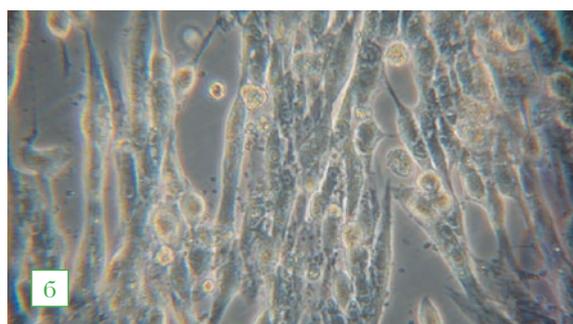
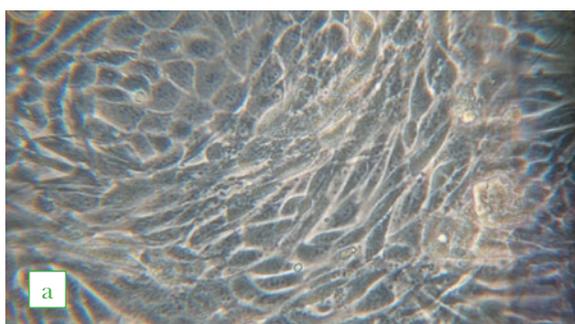


Рис. 6. Монослой субкультивируемых клеток ПБ (а) и проявление ЦПД вируса оспы коз (б)

ВОО на ТБ было схожим с воздействием на ЯДК-04. Клетки отслаивались, принимали сферическую форму, соединялись в дуплеты. В оставшихся адгезированных веретенообразных клетках повышалась гранулярность (рис. 4б).

Субкультуры тестикул козленка (ТК) 2–5 пассажей были схожи по морфологии с культурой, в которой преобладали эпителиоподобные клетки с четкими ядрами и обилием хорошо контрастированных ядрышек (рис. 5а). Этот факт свидетельствует о значительной адгезии клеток (связь с субстратом). После воздействия ВОО основная масса клеток деадгезировалась. Сферические клетки собирались в дуплеты, а оставшиеся на подложке клетки собирались в псевдосинцитии. Границы ядерных оболочек уже не контрастировались (рис. 5б).

Как было отмечено выше, в процессе реализации эксперимента проводилось субкультивирование первично трипсинизированных клеток почки барана (ПБ). Для заражения вирусом использовали культуру не старше 5-го пассажа. На этом уровне сохранялся относительный полиморфизм культуры (рис. 6а). Цитопатическое действие ВОК на субкультуру ПБ было

схожим с воздействием ВОО на ПБ (рис. 2б). Были зафиксированы менее интенсивные дегенеративные изменения, которые заключались в деадгезировании и образовании сферических агрегатов, а также в сохранении значительного количества клеток на подложке. Оставшиеся адгезированные клетки образовывали псевдосинцитий (рис. 6б).

Вирус оспы коз на субкультуру тестикул барана (ТБ) (рис. 7б) действовал аналогично ВОО (рис. 4б). В результате ЦПД сохраняется достаточное количество клеток на подложке, и в то же время значительные морфологические дегенеративные изменения внутри цитоплазмы (вакуолизация и грануляция) свидетельствуют о терминальной стадии ЦПД. Ядра и ядрышки при этом не контрастируются из-за уплотнения клеток.

Субкультура почки козленка (ПК) отличается от других культур крупными эпителиоподобными клетками с четкими ядрами и ядрышками (рис. 8а). Цитопатическое действие ВОК на ПК было аналогичным воздействию ВОО (рис. 3б), только менее интенсивным и с сохранением неразрушенных ядер (рис. 8б), при этом формировался псевдосинцитий. Нужно отметить,

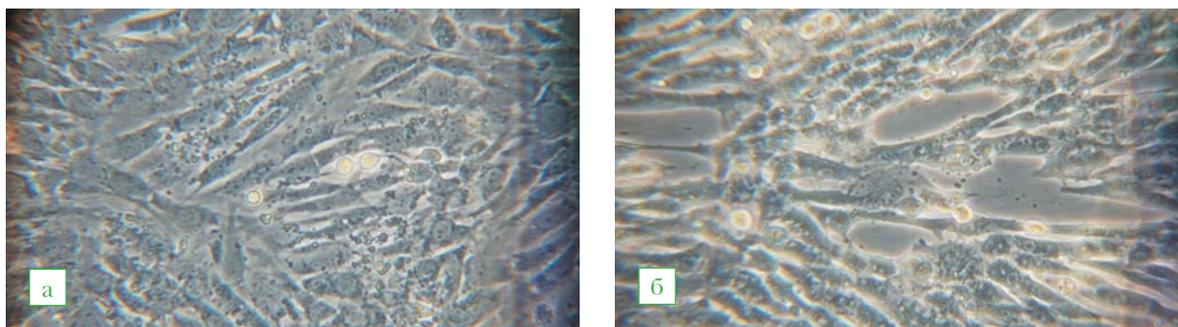


Рис. 7. Монослой субкультивируемых клеток ТБ (а) и проявление ЦПД вируса оспы коз (б)

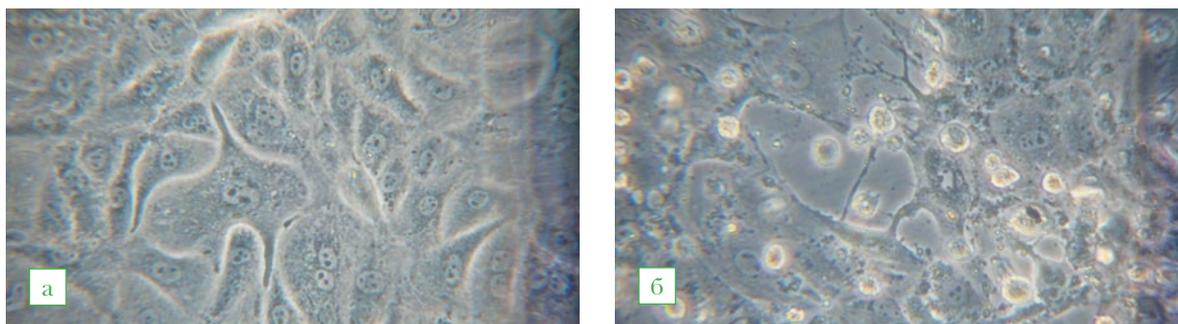


Рис. 8. Монослой субкультивируемых клеток ПК (а) и проявление ЦПД вируса оспы коз (б)

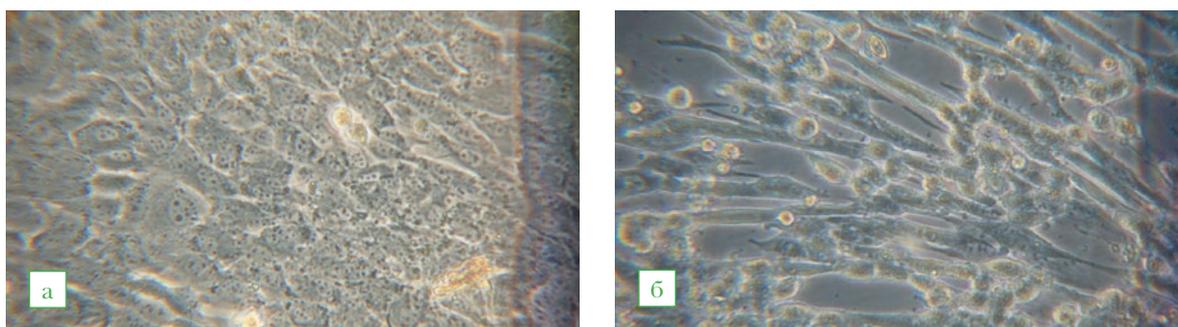


Рис. 9. Монослой субкультивируемых клеток ТК (а) и проявление ЦПД вируса оспы коз (б)

что ЦПД ВОК на ПК было не только более пролонгированным – более 80 ч, но и с самым высоким титром ($6,5 \pm 0,25 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$).

Воздействие ВОК на субкультуру тестикул козленка (ТК) 2–5 пассажей (рис. 9б) было схожим с действием вируса на культуру клеток ТБ (рис. 7б). По специфике ЦПД можно констатировать, что в первую очередь поражаются эпителиоподобные клетки первичной культуры и субкультур. Веретенообразные клетки собираются в тяжи, к концу терминальной стадии (72–96 ч) также деадгезируются и частично разрушаются.

Анализируя морфологические изменения клеточных культур в результате цитопатического действия ВОО и ВОК, были выявлены 2 типа поражения монослоя. Первый тип касается поражения субкультуры почки козленка обоими вирусами (рис. 3б, 8б). В этом случае на подложке остаются неразрушенные эпителиоподобные клетки, собранные в псевдосинцитий и деадгезированные сферические клетки разного размера. Этот тип взаимодействия отличается от контроля по морфологии, но по титру полученного вируса он соответствует производственным критериям. Второй тип поражения –

классический, который соответствует контрольным ориентирам при взаимодействии ВОО и ВОК с ЯДК-04. В результате этого взаимодействия множество клеток деадгезируются, частично агрегируются. Оставшиеся на подложке веретенообразные клетки теряют внутреннюю структуру и после промораживания разрушаются.

Была выявлена очень важная закономерность: при пассировании субкультур характерная специфика ЦПД вирусов сохраняется. Крайним показателем было стандартное поражение субкультуры почки барана на 5-м пассаже субкультивирования (рис. 2б).

По результатам биологической активности вирусных материалов, полученных в реакции микротитрования и представленных в таблице, можно утверждать, что вирусы оспы овец и оспы коз успешно репродуцируются в первичных и субкультивируемых клетках почек и тестикул ягненка и козленка. Эти данные согласуются с результатами других исследователей. Так, В. Н. Иванющенко и соавт. [5] применяли первичную культуру ткани почки овцы для получения вирусвакцины против оспы овец. В. И. Диев с соавт. [4] также успешно использовали первичную культуру ткани

почек овцы при работе с вакцинным штаммом вируса оспы овец. М. С. Кукушкина [6] репродуцировала вирусы оспы овец и оспы коз в первичной культуре ткани почки овцы с активностью 4,75–5,0 Ig ТЦД₅₀/мл.

Субкультуры первичных клеток ткани почки и тестикул ягненка могут использоваться для получения производственных партий вирусов, но чаще всего применяются исследователями как промежуточный этап культивирования вирусов или же при первичном выделении вирусов из патологических материалов. В отдельных случаях вирусы хорошо восстанавливались в субкультуре клеток, а в некоторых их размножение постепенно уменьшалось. В. А. Сергеев [8] после анализа большого количества исследований по выращиванию вирусов животных в перевиваемых линиях и субкультурах клеток тканей приходит к выводу, что клетки в перевиваемых клеточных линиях более стабильны по своим свойствам, чем клетки субкультур, и предполагает, что это происходит благодаря более интенсивному метаболизму.

Результаты изучения репродукции ВОО и ВОК в субкультуре тканей почек и тестикул ягненка и козленка, представленные в настоящем исследовании, показали, что эти вирусы накапливаются в испытанных субкультурах в значительных количествах и не снижают уровень накопления в течение 5 пассажей (срок наблюдения), инфекционная активность вирусов за этот период увеличивается на 0,5–1,0 Ig ТЦД₅₀/см³.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящей работе проведено изучение возможности репродукции вирусов оспы овец и оспы коз в первичных и субкультивируемых клетках почек и тестикул ягненка и козленка. Производственные штаммы «ВНИИЗЖ» вируса оспы овец и «ВНИИЗЖ 2003» вируса оспы коз успешно продуцировались как в первичной, так и в последующих пяти субкультивируемых пассажах клеток почек и тестикул ягненка и козленка. Полученные результаты по использованию субкультуры клеток тканей для выращивания указанных вирусов будут использованы в целях стабилизации производства вакцин против оспы овец и оспы коз, которые актуальны в настоящее время.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Вирусные болезни животных / В. Н. Сюрин, А. Я. Самуilenko, В. В. Соловьев, Н. В. Фомина. – М.: ВНИИТИБП, 1998. – С. 236–262.
2. Грачев Д. В. Иммунобиологические свойства вируса оспы коз, выделенного в Республике Таджикистан: автореф. дис. ... канд. вет. наук. – Покров, 2006. – 26 с.
3. Диев В. И., Захаров В. М., Рахманов А. М. Оспа овец и коз: мониторинг распространения и профилактика // Мониторинг распространения и предотвращения особо опасных болезней животных: сб. материалов 2-й Междунар. науч. конф. – Самарканд, 2004. – С. 63–65.
4. Диев В. И., Соколов Л. Н., Гусев А. А. Иммунобиологические свойства вакцинного штамма вируса оспы овец // Проблемы инфекц. патологии с.-х. животных: тез. докл. конф. – Владимир, 1997. – С. 81.
5. Ивановченко В. Н., Кекух В. Г., Кореба О. А. Реактогенные и иммуногенные свойства вирусвакцины против оспы овец из штамма НИСХИ // Ветеринария. – 1990. – № 7. – С. 28–30.
6. Кукушкина М. С. Иммунобиологическая характеристика вакцинных и вирулентных штаммов вирусов оспы овец и оспы коз: автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Владимир, 2008. – 24 с.
7. Культивирование вируса оспы овец штамма «ВНИИЗЖ» на перевиваемых линиях клеток / Е. В. Курненькова, В. И. Диев, Б. Л. Манин,

В. П. Мельников // Распространение и меры борьбы особо опасных болезней животных и птиц: сб. материалов 5-й Междунар. науч. конф. – Самарканд, 2016. – С. 144–145.

8. Сергеев В. А. Размножение вирусов животных в культуре ткани. – М.: Колос, 1966. – 312 с.

9. Эпизоотическая ситуация по оспе овец и коз и ее профилактика в России / В. М. Захаров, В. И. Диев, А. М. Рахманов, Н. А. Яременко // Ветеринарные и медицинские аспекты зооантропонозов: тр. Междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 45-летию института. – Покров, 2003. – Ч. 2. – С. 345–354.

10. Animal Health Status and Disease Control Methods in Member Countries in 2000 / OIE. – Paris, 2001. – Parts 1–3.

11. Davies F. G., Otema C. Relationship of capripox viruses found in Kenya with two Middle Eastern strains and other orthopox viruses // Res. Vet. Sci. – 1981. – Vol. 31 (2). – P. 253–355; PMID: 7034101.

12. Kitching R. P., Taylor W. P. Clinical and antigenic relationship between isolates of sheep and goats pox viruses // Trop. Anim. Health. Prod. – 1985. – Vol. 17 (2). – P. 64–74; DOI: 10.1007/BF02360774.

13. Sheep pox and goat pox // OIE. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals (mammals, birds and bees). – 2018. – Chap. 3.7.12. – URL: http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.07.12_S_POX_G_POX.pdf.

14. World Animal Health in 2003 / OIE. – Paris, 2004. – Vol. 2.

REFERENCES

1. Viral animal diseases [Virusnye bolezni zhivotnyh]. V. N. Syurin, A. Ya. Samuilenko, V. V. Solovyev, N. V. Fomina. M.: VNIITIBP, 1998 (in Russian).
2. Grachyov D. V. Immunobiological properties of goat poxvirus isolated in the Republic of Tajikistan [Immunobiologicheskie svoystva virusa ospy koz, vydelenennogo v Respublike Tadzhikistan]: author's abstract, Theses of Candidate of Science (Veterinary Medicines). Pskov, 2006 (in Russian).
3. Diev V. I., Zakharov V. M., Rakhmanov A. M. Sheep and goat pox: disease spread monitoring and prevention [Ospa ovec i koz: monitoring rasprostraneniya i profilaktika]. *Monitoring rasprostraneniya i predotvrascheniya osobo opasnyh bolezney zhivotnyh: Proceedings of the 2nd International Scientific Conference*. Samarkand, 2004; 63–65 (in Russian).
4. Diev V. I., Sokolov L. N., Gusev A. A. Immunobiological properties of vaccine sheep poxvirus [Immunobiologicheskie svoystva vaktsinnogo shtamma virusa ospy ovec]. *Problemy infekc. patologii s.-h. zhivotnyh: reports' theses*. Vladimir, 1997; 81 (in Russian).
5. Ivanyushchenkov V. N., Kekukh V. G., Koreba O. A. Reactogenic and immunogenic properties of anti-sheep poxvirus vaccine based on NISKH strain [Reaktogennye i immunogennye svoystva virusvaktsiny protiv ospy ovec iz shtamma NISKH]. *Veterinariya*. 1990; 7: 28–30 (in Russian).
6. Kukushkina M. S. Immunobiological characterization of vaccine and virulent strains of sheep and goat poxviruses [Immunobiologicheskaya harakteristika vaktsinnyh i virulentnyh shtammov virusov ospy ovec i ospy koz]: author's abstract, Theses of Candidate of Science (Biology). Vladimir, 2008 (in Russian).
7. Cultivation of VNIIZH strain of sheep poxvirus in continuous cell lines [Kul'tivirovaniye virusa ospy ovec shtamma «VNIIZH» na perevivayemyh liniyah kletok]. Ye. V. Kurnenkova, V. I. Diev, B. L. Manin, V. P. Melnikov. *Rasprostraneniye i mery bor'by osobo opasnyh bolezney zhivotnyh i ptic: Proceedings of the 5th International Scientific Conference*. Samarkand, 2016; 144–145 (in Russian).
8. Segeyev V. A. Propagation of animal viruses in tissue culture [Razmnozheniye virusov zhivotnyh v kul'ture tkani]. M.: Kolos, 1966 (in Russian).
9. Sheep and goat pox epidemic situation and prevention in Russia [Epizooticheskaya situatsiya po ospe ovec i koz i ee profilaktika v Rossii]. V. M. Zakharov, V. I. Diev, A. M. Rakhmanov, N. A. Yaremenko. *Veterinarnyye i medicinskie aspekty zooantropozoonozov: Proceeding of International Scientific and Practical Conference devoted to the 45th anniversary of the Institute*. Pskov, 2003; 2: 345–354 (in Russian).
10. Animal Health Status and Disease Control Methods in Member Countries in 2000. OIE. Paris, 2001; Parts 1–3.
11. Davies F. G., Otema C. Relationship of capripox viruses found in Kenya with two Middle Eastern strains and other orthopox viruses. *Res. Vet. Sci.* 1981; 31 (2): 253–355; PMID: 7034101.
12. Kitching R. P., Taylor W. P. Clinical and antigenic relationship between isolates of sheep and goats pox viruses. *Trop. Anim. Health. Prod.* 1985; 17 (2): 64–74; DOI: 10.1007/BF02360774.
13. Sheep pox and goat pox. OIE. *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals (mammals, birds and bees)*. 2018. Chap. 3.7.12; URL: http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.07.12_S_POX_G_POX.pdf.
14. World Animal Health in 2003. OIE. Paris, 2004; Vol. 2.

Поступила 20.03.19

Принята в печать 24.04.19