DOI: 10.29326/2304-196X-2021-3-38-203-208
 УДК 619:616.98:578.835.1:616-078

Изучение биологических свойств штамма «№ 2348 Италия/2008» вируса везикулярной болезни свиней

Е. Н. Калинина¹, С. Н. Фомина²

ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»), г. Владимир, Россия

¹ ORCID 0000-0001-8088-6400, e-mail: haritonova@arriah.ru

² ORCID 0000-0002-2122-9096, e-mail: fomina@arriah.ru

РЕЗЮМЕ

Везикулярная болезнь свиней – инфекционная вирусная болезнь, сопровождающаяся при остром течении клинической картиной, общей для ряда заболеваний с везикулярным синдромом, включая ящур. При субклиническом течении явные признаки болезни отсутствуют, что затрудняет постановку диагноза и может создавать угрозу заноса инфекционного заболевания на территорию Российской Федерации с инфицированными свиньями. Основной мерой предотвращения заноса везикулярной болезни свиней является проведение контрольных диагностических исследований всех ввозимых на территорию страны животных, что требует постоянного поддержания в актуальном состоянии используемых методов и средств лабораторной диагностики заболевания. В статье представлены данные по экспериментальному заражению естественно восприимчивых животных штаммом «№ 2348 Италия/2008» вируса везикулярной болезни свиней, принадлежащего к наиболее поздней из четырех известных филогенетических групп. Вирус получен из Всемирной справочной лаборатории по ящуру (Пирбрайт, Великобритания) и адаптирован к перевиваемым монослойным культурам клеток свиного происхождения IB-RS-2 и ПКГ-30. Свиней заражали интрадермально концентрированным культуральным вирусом в дозе 10^6 ТЦД₅₀. У зараженных животных наблюдали клинические признаки, характерные для острого течения болезни. Показано отсутствие передачи вируса интактному животному при соблюдении условий содержания, предотвращающих фекально-оральный и контактный механизмы передачи инфекции. В результате опыта получены референтные образцы сыворотки крови свиней в разные сроки после инфицирования, определена их активность в реакции микронеutralизации вируса в культуре клеток и в иммуноферментном анализе. Отобранный от зараженных животных афтозный материал заложен на хранение в рабочую коллекцию штаммов микроорганизмов референтной лаборатории диагностики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ».

Ключевые слова: везикулярная болезнь свиней, лабораторная диагностика, экспериментальное заражение, иммуноферментный анализ, реакция микронеutralизации вируса в культуре клеток

Благодарность: Исследование выполнено за счет средств федерального бюджета в рамках проведения научно-исследовательских работ по теме «Разработка метода выявления антител к везикулярной болезни свиней в реакции микронеutralизации» (ГЗ № 081-00010-19-00 от 28.12.2018).

Для цитирования: Калинина Е. Н., Фомина С. Н. Изучение биологических свойств штамма «№ 2348 Италия/2008» вируса везикулярной болезни свиней. *Ветеринария сегодня*. 2021; 10 (3): 203–208. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-3-38-203-208.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Калинина Елена Николаевна, кандидат ветеринарных наук, младший научный сотрудник референтной лаборатории диагностики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ», 600901, Россия, г. Владимир, мкр. Юрьевец, e-mail: haritonova@arriah.ru.

Biological properties of swine vesicular disease virus strain 2348 Italy/2008

Ye. N. Kalinina¹, S. N. Fomina²

FGBI "Federal Centre for Animal Health" (FGBI "ARRIAH"), Vladimir, Russia

¹ ORCID 0000-0001-8088-6400, e-mail: haritonova@arriah.ru

² ORCID 0000-0002-2122-9096, e-mail: fomina@arriah.ru

SUMMARY

Swine vesicular disease (SVD) is a viral infectious disease, which, if acute, is manifested by the clinical pattern similar to a number of vesicular diseases including foot-and-mouth disease. In case of subclinical disease, there are no evident clinical signs, therefore the diagnosis is problematic, and there can be the risk of the disease introduction into the Russian Federation with the infected pigs. The key measure for the prevention of SVD introduction involves control diagnostic testing of all animals imported in the country that makes it necessary to keep updated the currently used methods and tools for the disease laboratory diagnosis. The paper demonstrates data on experimental infection of pigs with SVDV strain 2348 Italy/2008 that belongs to the most recent one of the four known phylogenetic

groups. The virus was kindly provided by the World Reference Laboratory for Foot-and-Mouth Disease (Pirbright, Great Britain), and it was adapted to the monolayer continuous cell cultures of porcine origin (IB-RS-2 and PGSK-30). The pigs were intradermally infected with concentrated cultured virus at a dose of 10^3 TCID₅₀. The infected animals demonstrated clinical signs typical for the acute disease. There was evidence that the virus was not transmitted to the intact animal in case husbandry conditions were met that allowed to avoid the infection transmission by the fecal-oral and contact mechanisms. As a result of the experiment, reference sera were collected at different time intervals post infection and their activity was determined using virus microneutralization test in cell culture and ELISA. Aphthae collected from the infected animals were deposited into the Strain collection of the Reference Laboratory for Foot-and-Mouth Disease, FGBI "ARRIAH".

Keywords: swine vesicular disease, laboratory diagnosis, experimental infection, enzyme-linked immunosorbent assay, virus microneutralization test in cell culture

Acknowledgements: The work was funded by the federal government as a part of the research activities "Development of the method for the detection of swine vesicular disease virus antibodies using microneutralization assay" (SA 081-00010-19-00 of 28.12.2018).

For citation: Kalinina Ye. N., Fomina S. N. Biological properties of swine vesicular disease virus strain 2348 Italy/2008. *Veterinary Science Today*. 2021; 10 (3): 203–208. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-3-38-203-208.

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

For correspondence: Yelena N. Kalinina, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Junior Researcher, Reference Laboratory for FMD Diagnosis, FGBI "ARRIAH", 600901, Russia, Vladimir, Yur'evets, e-mail: haritonova@arriah.ru.

ВЕДЕНИЕ

Везикулярная болезнь свиней (ВБС) – контагиозная вирусная болезнь, сопровождающаяся симптомокомплексом, общим для ряда заболеваний с везикулярным синдромом, и в первую очередь с ящуром – одной из экономически значимых и особо опасных болезней животных. Из-за схожести клинических проявлений дифференциальная диагностика болезней с везикулярной симптоматикой невозможна без применения комплекса вирусспецифических средств для лабораторных исследований [1–5].

Несмотря на то что вирус отличается высокой контагиозностью и повышенной устойчивостью к факторам окружающей среды, заболеваемость среди восприимчивых животных значительно варьирует. Ущерб, причиняемый ВБС напрямую, незначителен: при вспышке инфекции у животных наблюдается лишь временное снижение продуктивности при невысоких показателях смертности. Однако косвенный ущерб от мероприятий, направленных на искоренение болезни, значителен [3, 4, 6–8]. Фактором, способствующим распространению инфекции, служит способность ВБС протекать в субклинической форме и длительное время оставаться незамеченной. В последних официально зарегистрированных эпизоотиях бессимптомная форма переболевания стала причиной массового распространения ВБС среди восприимчивых животных, когда болезнь регистрировали исключительно на основании данных серологического мониторинга [9, 10]. По этой причине крупные мировые справочные лаборатории, занимающиеся изучением и диагностикой заболеваний с везикулярным синдромом, разработали, внедрили и продолжают поддерживать в актуальном состоянии современные лабораторные методы диагностики ВБС [5].

Вирус ВБС, как и многие представители семейства *Picornaviridae*, характеризуется достаточно высокой антигенной изменчивостью. Внутри единственного серотипа выделяют четыре отдельные филогенетические группы, последовательно развивавшиеся в различные периоды времени и существенно отличающиеся в анти-

генном отношении [5, 10]. Для Российской Федерации ВБС считается экзотической болезнью и никогда не регистрировалась, но наблюдалась на территории СССР в 1972 г. в Одесской области. Выделенный во время эпизоотии и охарактеризованный штамм «№ 463 Одесса/1972» был отнесен ко II филогенетической группе вируса ВБС, изоляты которой по своим антигенным свойствам значительно отличаются от более поздних изолятов III и IV геногрупп [5, 10–12]. В связи с этим определенный научный и практический интерес с точки зрения использования для диагностики ВБС представляет штамм вируса «№ 2348 Италия/2008», принадлежащий к самой поздней из известных – IV филогенетической группе и, согласно литературным данным, вызывавший в свиноводческих хозяйствах преимущественно бессимптомное, субклиническое течение [7].

Цель работы – воспроизвести клиническую картину ВБС у естественно восприимчивых животных при экспериментальном заражении штаммом «№ 2348 Италия/2008» и изучить динамику образования антител у инфицированных поросят. Эксперимент предоставляет уникальную возможность получить в различные, точно установленные сроки после заражения пробы сыворотки крови подопытных свиней, представляющие определенную ценность в качестве референтных контрольных образцов с возможностью использования в диагностических целях.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Вирус. В работе использовали вирус ВБС, полученный из Всемирной справочной лаборатории МЭБ по ящуре (Пирбрайт, Великобритания), который был адаптирован к монослойным перевиваемым культурам клеток и депонирован в Государственную коллекцию штаммов микроорганизмов ФГБУ «ВНИИЗЖ» как штамм «№ 2348 Италия/2008». Определение титра инфекционной активности вируса проводили микрометодом в 96-луночных культуральных планшетах на культуре клеток IB-RS-2. Для экспериментального заражения и гипериммунизации естественно восприимчивых жи-

вотных использовали культуральный вирус VII пассажа, полученный в культуре клеток IB-RS-2, с титром инфекционной активности ($7,73 \pm 0,60$) Ig ТЦД₅₀/50 мкл.

Культура клеток. Для проведения опыта по адаптации штамма «№ 2348 Италия/2008» вируса ВБС использовали клеточные культуры свиного происхождения, получаемые в секторе культивирования клеток отдела инноваций ФГБУ «ВНИИЗЖ»: СП (первичная культура клеток почки свиньи), ПСГК-30 (перевиваемая линия клеток свиного происхождения) и IB-RS-2 (перевиваемая культура клеток почки свиньи). Для определения чувствительности культур клеток к вирусу ВБС изучаемого штамма проводили серию последовательных «слепых» пассажей в культуральных пластиковых матрасах объемом 25 см³ с внесенной поддерживающей питательной средой до появления видимого цитопатического действия (ЦПД). Зараженную клеточную культуру инкубировали при температуре ($37,0 \pm 0,5$) °C не менее 72 ч. Продолжительность проведения очередного пассажа сокращали по мере уменьшения времени, необходимого для развития 80–100%-го ЦПД.

Животные. Для экспериментального заражения использовали трех подсвинков породы крупная белая и ландрас в возрасте 4 мес. массой 35–40 кг, полученных из хозяйств Владимирской области, благополучных по инфекционным заболеваниям.

Все эксперименты на животных проводились в строгом соответствии с межгосударственным стандартом по содержанию и уходу за лабораторными животными ГОСТ 33215-2014, принятым Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации, а также согласно требованиям Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза от 22.09.2010 по охране животных, используемых в научных целях.

Экспериментальное заражение поросят. Животные содержались в изолированном боксе виварного корпуса ФГБУ «ВНИИЗЖ» со свободным доступом к воде и корму в течение 29 сут. Поросят № 1 и 2 заражали интрадермально в область пяточка, венчика обеих передних и одной задней конечностей концентратом вируса в дозе 10^9 ТЦД₅₀. Для получения гипериммунной сыворотки крови животным-реконвалесцентам на 21 день после заражения (ДПЗ) проводили дополнительную иммунизацию: внутримышечно вводили суспензию из смеси 100-кратного концентрированного вирусного антигена с неполным адъювантом Фрейнда в соотношении 1:1. Интактное животное № 3 перевели в бокс с инфицированным поросенком на 4-й ДПЗ и в дальнейшем содержали совместно. До начала и во время эксперимента у всех животных периодически, с интервалом от 2 до 6 дней, отбирали кровь для серологических исследований.

Реакция микронейтрализации вируса в культуре клеток. Для исследования проб сыворотки крови свиней на наличие вируснейтрализующих антител использовали реакцию микронейтрализации (PMH) вируса в культуре клеток на основе штамма «№ 2348 Италия/2008» вируса ВБС с использованием чувствительной перевиваемой монослойной клеточной культуры IB-RS-2. Исследование проб сыворотки крови свиней проводили методом последовательных разведений на культуральном 96-луночном планшете с внесением предварительно рассчитанной рабочей дозы вирусной суспензии. Планшет оставляли в CO₂-инкубаторе с содержанием

5% углекислого газа при температуре ($37,0 \pm 0,5$) °C на 1 ч для взаимодействия вируснейтрализующих антител испытуемой сыворотки с вирусом. Затем вносили клеточную культуру с концентрацией $(0,8-1,0) \times 10^6$ клеток в см³. Планшет снова помещали в CO₂-инкубатор при температуре ($37,0 \pm 0,5$) °C на 60–72 ч. Учет реакции проводили при помощи инвертированного микроскопа, подсчитывая количество лунок с сохранившимся клеточным монослоем. Расчет титра антител проводили по методу Кербера.

Иммуноферментный анализ. Для определения уровня специфических антител к вирусу ВБС в пробах сыворотки крови животных использовали иммуноферментный анализ, согласно «Методическим рекомендациям по выявлению специфических антител к вирусу везикулярной болезни свиней в конкурентном «сэндвич»-варианте иммуноферментного анализа с использованием моноклональных антител 5B7» (КС-ИФА), и «Набор для определения антител к вирусу ВБС в иммуноферментном анализе» (ФГБУ «ВНИИЗЖ», Россия). В качестве референтной диагностической тест-системы использовали коммерческий набор PrioCHECK SVDV Ab Kit (Prionics Lelystad B.V., Нидерланды). Диагностические наборы использовали согласно инструкциям по применению.

Таблица 1

Адаптационные характеристики вируса ВБС штамма «№ 2348 Италия/2008» в культурах клеток свиного происхождения

Table 1

Adaptive capacity of SVDV strain 2348 Italy/2008 in cell cultures of porcine origin

Культура клеток	Номер пассажа	Время проявления 80–100%-го ЦПД, ч	Титр инфекционной активности в РМН на культуре клеток, Ig ТЦД ₅₀ /50 мкл
СП	I	отсутствовало	–
ПСГК-30	I	48	н/и
IB-RS-2	I	48	н/и
СП	II	отсутствовало	–
ПСГК-30	II	48	н/и
IB-RS-2	II	24	н/и
СП	III	отсутствовало	–
ПСГК-30	III	21	н/и
IB-RS-2	III	18	$7,80 \pm 0,60$
ПСГК-30	IV	18	н/и
IB-RS-2	IV	18	$7,80 \pm 0,60$
ПСГК-30	V	18	н/и
IB-RS-2	V	18	$7,73 \pm 0,60$
IB-RS-2	VI	18	$6,98 \pm 0,60$
IB-RS-2	VII	18	$7,73 \pm 0,60$
IB-RS-2	VIII	18	$6,75 \pm 0,60$

н/и – исследование не проводили (not tested).

Рис. 1. Контроль культуры клеток IB-RS-2 через 96 ч культивирования (ув. $\times 200$)

Fig. 1. IB-RS-2 cell culture after 96 hours of cultivation (magnification 200 $\times$)

Рис. 2. ЦПД вируса ВБС в культуре клеток IB-RS-2 через 15 ч после инокуляции (ув. $\times 200$)

Fig. 2. CPE of SVDV in IB-RS-2 cell culture in 15 hours post inoculation (magnification 200 $\times$)

Рис. 3. ЦПД вируса ВБС в культуре клеток IB-RS-2 через 18 ч после инокуляции (ув. $\times 200$):
1 – округлившиеся клетки, 2 – в стадии разрушения

Fig. 3. CPE of SVDV in IB-RS-2 cell culture in 18 hours post inoculation (magnification 200 $\times$):
1 – rounded cells, 2 – in the process of degradation

Рис. 4. ЦПД вируса ВБС в культуре клеток IB-RS-2 через 18 ч после инокуляции (ув. $\times 400$)

Fig. 4. CPE of SVDV in IB-RS-2 cell culture in 18 hours post inoculation (magnification 400 $\times$)

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Адаптация вируса ВБС к клеточным культурам.

Адаптацию штамма «№ 2348 Италия/2008» вируса ВБС проводили методом «слепых» пассажей в культуре клеток СП (3 пассажа), ПСГК-30 (5 пассажей) и IB-RS-2 (8 пассажей). Для дальнейшей работы отбирали культуру, к которой вирус быстрее адаптировался и которой требовалось меньшее время для развития 80–100%-го ЦПД. При этом показатели титра инфекционной активности оставались постоянными на протяжении не менее пяти последовательных пассажей. Как видно из представленных в таблице 1 данных, вирус ВБС штамма «№ 2348 Италия/2008» лучше адаптировался к перевиваемым культурам клеток ПСГК-30 и IB-RS-2.

В первичной культуре СП признаки репродукции вируса в течение 3 пассажей отсутствовали. При культивировании в ПСГК-30 и IB-RS-2 на первых пассажах вирус вызывал 100%-е ЦПД через 48 ч. К третьему пассажу время полного разрушения клеточного монослоя для ПСГК-30 сократилось до 21 ч, для IB-RS-2 – до 18 ч. В свя-

зи с высокой чувствительностью к вирусу ВБС для последующей работы была выбрана культура клеток IB-RS-2. Картина дегенеративного изменения клеток, обусловленная репликацией штамма «№ 2348 Италия/2008», была характерной для возбудителя ВБС. Клетки культуры IB-RS-2, изначально имевшие в монослое форму неправильных многоугольников (рис. 1), через 12–15 ч после инокуляции под действием накапливающегося вируса слегка вытягивались, принимая веретенообразную форму (рис. 2), затем округлялись, отрывались от пластика культурального матраса (рис. 3), в итоге сморщивались и разрушались (рис. 4).

Штамм «№ 2348 Италия/2008» вируса ВБС на протяжении шести пассажей в монослойной перевиваемой культуре клеток IB-RS-2 имел относительно постоянный титр инфекционной активности в пределах от $(6,98 \pm 0,60)$ до $(7,80 \pm 0,60)$ lg ТЦД₅₀/50 мкл. Для заражения свиней использовали полученный в IB-RS-2 100-кратный концентрат культурального вируса VII пассажа с титром инфекционной активности $(7,73 \pm 0,60)$ lg ТЦД₅₀/50 мкл. Для постановки РМН исполь-

зовали клеточную суспензию, содержащую вирус ВБС штамма «№ 2348 Италия/2008» VI пассажа с титром инфекционной активности ($6,98 \pm 0,60$) Ig ТЦД₅₀/50 мкл.

Заражение естественно восприимчивых животных. На время проведения опыта за поросятами установили ежедневное наблюдение, включающее клинический осмотр с термометрией, оценку общего состояния животных, характера передвижения, наличия неврологической симптоматики.

У животных № 1 и 2, зараженных концентрированным культуральным вирусом ВБС штамма «№ 2348 Италия/2008», характерные для острого течения болезни клинические признаки появились через 2 сут. У обоих поросят наблюдали снижение двигательной активности и повышение температуры тела. В местах внутрикожного введения вируса образовались первичные афты: у животного № 1 – на пяточке и венчике обеих передних конечностей, у животного № 2 – на венчике трех конечностей. Генерализация инфекции с образованием вторичных афт наблюдалась на 5-й ДПЗ. Заметное улучшение в состоянии поросят отмечали только после образования вторичных афт и не ранее 7-го ДПЗ. У животного № 2 на 4-й ДПЗ наблюдали диарею, начиная с 5-го ДПЗ появилась хромота, обусловленная воспалительным процессом в области копыт. При этом животное старалось больше лежать, вставало с трудом, опираясь на пястные суставы. На 11-й ДПЗ был отмечен пододерматит, осложнившийся гнойным процессом в результате присоединения вторичной инфекции. У поросенка № 1 наблюдали диарею, начиная с 7-го ДПЗ хромота проявлялась менее выражено, но более длительно, вплоть до 11-го ДПЗ, что связано с развитием пододерматита. На протяжении всего эксперимента ни одно из животных не демонстрировало явных нарушений со стороны нервной системы, не отказывалось от корма. У обоих поросят начиная с 5-го ДПЗ наблюдалась папулезная сыпь на животе и в паху, на более поздних сроках сопровождавшаяся зудом.

У животного № 3 клинических проявлений ВБС, повышения температуры тела и изменений в поведении не наблюдали.

В ходе экспериментального заражения у заболевших животных был отобран биологический материал – эпителий афт и афтозная лимфа. Молекулярно-генетическое исследование биоматериала подтвердило наличие генома вируса ВБС, идентичного геному вируса штамма «№ 2348 Италия/2008». Полученные эпителиальные образцы были заложены на хранение в рабочую коллекцию штаммов микроорганизмов референтной лаборатории диагностики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ».

Серологические исследования. Образцы крови для получения сыворотки отбирали у поросят до начала эксперимента и после заражения на протяжении всего опыта, начиная с 4-х сут. Всего было отобрано 26 проб с различной активностью в серологических реакциях. Результаты исследований на наличие антител против вируса ВБС, полученные разными методами, коррелировали друг с другом (табл. 2).

Полученные результаты свидетельствуют о наличии у заболевших поросят вирусспецифических антител, выявленных во всех тест-системах: у животного № 1 – начиная с 7-го ДПЗ, у животного № 2 – с 4-го ДПЗ. Нарастание титра антител продолжалось до 11-го ДПЗ с последующим плавным снижением [8]. При этом у животного № 2

отмечался более высокий уровень вирусспецифических антител в сравнении с таковым у животного № 1. С целью получения гипериммунной сыворотки к вирусу ВБС переболевших животных дополнительно иммунизировали на 21-й ДПЗ. Дополнительная иммунизация, как и ожидалось, усилила иммунный ответ, при этом титры антител в сыворотках крови обоих поросят достиг-

Таблица 2

Активность образцов сыворотки крови свиней, полученных в разные сроки после заболевания и иммунизации штаммом «№ 2348 Италия/2008» вируса ВБС, в различных тест-системах ($n > 3$)

Table 2

Activity of sera collected from pigs at different time intervals post disease and immunization with 2348 Italy/2008 SVDV strain and tested using different test-kits ($n > 3$)

Номер живот- ного	ДПЗ	Результаты ИФА						Результаты РМН	
		Набор ФГБУ «ВНИИЗЖ»		КС-ИФА		Набор PrioCHECK SVDV Ab Kit			
		Ig	результат	Ig	результат	Ig	результат	Ig	результат
1	0	< 1	отриц.	< 1	отриц.	< 1	отриц.	< 1	отриц.
	4	< 1	отриц.	< 1	отриц.	1,00	полож.	1,81	полож.
	7	2,20	полож.	2,08	полож.	1,90	полож.	2,58	полож.
	11	2,68	полож.	2,08	полож.	2,08	полож.	2,71	полож.
	15	2,51	полож.	2,08	полож.	1,78	полож.	2,58	полож.
	21*	2,34	полож.	1,78	полож.	1,48	полож.	2,41	полож.
	25	2,68	полож.	2,34	полож.	1,90	полож.	3,01	полож.
	29	3,71	полож.	3,28	полож.	2,98	полож.	3,79	полож.
	31	4,19	полож.	3,71	полож.	3,89	полож.	3,79	полож.
2	0	< 1	отриц.	< 1	отриц.	< 1	отриц.	< 1	отриц.
	4	1,78	полож.	1,30	полож.	1,30	полож.	2,11	полож.
	7	2,68	полож.	2,98	полож.	2,98	полож.	2,71	полож.
	11	2,98	полож.	2,81	полож.	2,98	полож.	2,89	полож.
	15	2,68	полож.	2,68	полож.	2,81	полож.	2,71	полож.
	21*	2,68	полож.	2,08	полож.	2,51	полож.	2,71	полож.
	25	2,98	полож.	2,68	полож.	2,51	полож.	3,49	полож.
	29	4,01	полож.	3,58	полож.	3,11	полож.	3,91	полож.
	31	4,19	полож.	3,58	полож.	3,71	полож.	3,91	полож.
3	0	< 1	отриц.	< 1	отриц.	< 1	отриц.	< 1	отриц.
	4	< 1	отриц.	< 1	отриц.	< 1	отриц.	< 1	отриц.
	7	< 1	отриц.	< 1	отриц.	< 1	отриц.	< 1	отриц.
	11	< 1	отриц.	< 1	отриц.	< 1	отриц.	< 1	отриц.
	17	< 1	отриц.	< 1	отриц.	< 1	отриц.	< 1	отриц.
	21	< 1	отриц.	< 1	отриц.	< 1	отриц.	< 1	отриц.
	24	< 1	отриц.	< 1	отриц.	< 1	отриц.	< 1	отриц.
	27	< 1	отриц.	< 1	отриц.	< 1	отриц.	< 1	отриц.

* дополнительная иммунизация (booster immunization).

ли значительных показателей, как свидетельствовали результаты всех видов исследований.

У поросенка № 3 ни одним из методов исследования антитела в крови обнаружены не были, что позволило сделать вывод о том, что животное не переболело ВБС, хотя и содержалось совместно с заболевшими. Предположительно, отсутствие заражения обусловлено условиями содержания опытных животных, при которых возможность передачи вируса была минимальной: поросят размещали в сухом, ежедневно убиравшемся просторном боксе. Данное обстоятельство исключило контактный способ передачи инфекции. Несмотря на то что для животных, больных ВБС, свойственно продолжительное выделение вируса с экскрементами, а фекально-оральный механизм передачи инфекции остается ведущим, концентрация вирусных частиц в фекалиях, как отмечает ряд авторов [3, 6], относительно невысока. Кормление и поение поросят было организовано таким образом, что комбикорм животными поедался за короткий промежуток времени, а воду подавали в поилки непрерывно, постоянно обновляя. Это исключило контаминацию как корма, так и воды продуктами жизнедеятельности и, как следствие, предотвратило передачу инфекции от заболевших животных контактному как водным, так и алиментарным путем.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты, полученные в ходе проведенной работы, показали, что вызванная вирусом штамма «№ 2348 Италия/2008» везикулярная болезнь свиней протекает с характерными клиническими признаками и сопровождается выраженным иммунным ответом. Появление ранних вирусспецифических антител у зараженных свиней было отмечено на 4-е сут после инфицирования. Длительность логарифмической и стационарной фаз продуктивной стадии антителообразования, при первичном контакте с вирусом ВБС, составила около двух недель: уровень специфических антител достигал максимума с последующим постепенным снижением на 11–15-е сут после заражения. При повторной инокуляции вируса у животных наблюдали более интенсивную динамику прироста вирусспецифических антител, сохранявшуюся до завершения опыта. Ввиду того что ВБС для Российской Федерации является экзотическим заболеванием, полученные в ходе эксперимента сыворотки крови животных-реконвалесцентов представляют определенную ценность, так как могут быть использованы в качестве референтных в лабораторной диагностике болезни.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ (п. п. 1, 3–11 см. REFERENCES)

2. Семкина В. П., Акимова Т. П., Соломатина И. Ю., Караулов А. К. Риск заноса особо опасных заболеваний животных с везикулярным синдромом на территорию России. *Ветеринария сегодня*. 2019; 1 (28): 3–15. DOI: 10.29326/2304-196X-2019-1-28-3-15.

12. Луговская Н. Н. Антигенное родство штамма О-72 с европейскими и азиатскими штаммами вируса везикулярной болезни свиней. *Труды Федерального центра охраны здоровья животных*. 2012; 10: 113–121. eLIBRARY ID: 18881518.

REFERENCES

1. Swine vesicular disease. In: *OIE. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. 2019; Chapter 3.8.8: 1608–1617. Available at: http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.08.08_SVD.pdf.

2. Semakina V. P., Akimova T. P., Solomatina I. Yu., Karaulov A. K. Risk of introducing highly dangerous animal vesicular diseases into the Russian Federation. *Veterinary Science Today*. 2019; 1 (28): 3–15. DOI: 10.29326/2304-196X-2019-1-28-3-15.

3. De Clercq K. Swine vesicular disease: incidence, pathogenicity, epidemiology, diagnosis, economic impact. *Conf. OIE*. 2000; 263–270. Available at: <https://www.oie.int/doc/ged/D5674.PDF>.

4. Lin F., Kitching R. P. Swine vesicular disease: an overview. *Vet. J.* 2000; 160 (3): 192–201. DOI: 10.1053/tvj.2000.0505.

5. EFSA Panel on Animal Health and Welfare (AHAW). Scientific Opinion on Swine Vesicular Disease and Vesicular Stomatitis. *EFSA Journal*. 2012; 10 (4): 2631. DOI: 10.2903/j.efsa.2012.2631.

6. Dekker A. Pathogenesis, diagnosis and epizootiology of swine vesicular disease: PhD Thesis. Lelystad: University of Utrecht; 2000. 122 p. Available at: <https://dspace.library.uu.nl/bitstream/handle/1874/330939/Dekker.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

7. Bellini S., Alborali L., Zanardi G., Bonazza V., Brocchi E. Swine vesicular disease in northern Italy: diffusion through densely populated pig areas. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* 2010; 29 (3): 639–648. DOI: 10.20506/rst.29.3.2006.

8. Niedbalski W. Diagnostic value of the isotype-specific ELISA for the detection of antibodies against swine vesicular disease virus (SVDV). *Bull. Vet. Inst. Pulawy*. 2002; 46 (1): 37–44.

9. Bellini S., Santucci U., Zanardi G., Brocchi E., Marabelli R. Swine vesicular disease surveillance and eradication activities in Italy. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* 2007; 26 (3): 585–593. PMID: 18293607. DOI: 10.20506/rst.26.3.1766.

10. Brocchi E., Zhang G., Knowles N. J., Wilsden G., McCauley J.W., Marquardt O., et al. Molecular epidemiology of recent outbreaks of swine vesicular disease: two genetically and antigenically distinct variants in Europe, 1987–94. *Epidemiol. Infect.* 1997; 118 (1): 51–61. DOI: 10.1017/S0950268896007170.

11. Niedbalski W. Phylogenetic analysis of Polish isolates of swine vesicular disease virus (SVDV). *Bull. Vet. Inst. Pulawy*. 1999; 43 (2): 139–145.

12. Lugovskaya N. N. Antigenic relationship of strain O-72 to European and Asian strains of swine vesicular disease virus. *Proceedings of the Federal Centre for Animal Health*. 2012; 10: 113–121. eLIBRARY ID: 18881518. (in Russian)

Поступила 20.04.2021

Принята в печать 07.07.2021

Received on 20.04.2021

Approved for publication on 07.07.2021

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Калинина Елена Николаевна, кандидат ветеринарных наук, младший научный сотрудник референтной лаборатории диагностики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Фомина Светлана Николаевна, кандидат ветеринарных наук, заведующий референтной лабораторией диагностики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Yelena N. Kalinina, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Junior Researcher, Reference Laboratory for FMD Diagnosis, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Svetlana N. Fomina, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Head of Reference Laboratory for FMD Diagnosis, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.