



# Влияние врожденного и приобретенного иммунитета на патогенез инфекционной бурсальной болезни

А. Н. Семина

Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт птицеводства – филиал ФГБНУ ФНЦ «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства» РАН (ВНИВИП), г. Санкт-Петербург, Россия

## РЕЗЮМЕ

Инфекционная бурсальная болезнь вызывается небольшим безоболочечным вирусом, обладающим высокой устойчивостью во внешней среде. Вирус инфекционной бурсальной болезни воздействует на иммунную систему кур всесторонне и комплексно, разрушая В-лимфоциты, привлекая Т-клетки и активируя макрофаги. Как РНК-содержащий вирус, возбудитель характеризуется высокой частотой мутаций, что приводит к появлению штаммов с измененной антигенностью или повышенной вирулентностью. Молекулярная основа патогенности вируса и точная причина клинического заболевания и смерти до сих пор плохо изучены, так как это не имеет четкой связи с тяжестью поражений и степенью повреждения фабрициевой сумки. Однако последние исследования указали на роль усиления врожденного иммунного ответа на ранней стадии инфекции с повышенной продукцией промедиаторов, которые вызывают цитокиновый шторм. В случае инфекционной бурсальной болезни иммунодепрессия является как прямым следствием инфицирования специфических иммунных клеток-мишеней, так и косвенным следствием взаимодействий, происходящих в иммунной сети организма птицы. Инфицирование высоковирулентным штаммом и заражение цыплят в раннем возрасте после переболевания или субклинической инфекции приводит к иммуносупрессии с более серьезными последствиями. Хотя иммунодепрессия, вызванная возбудителем инфекционной бурсальной болезни, в основном направлена на В-лимфоциты, также было продемонстрировано влияние на клеточно-опосредованный иммунитет, что усиливает воздействие вируса на иммунокомпетентность цыплят. Недавний прогресс в области иммунологии птиц позволил лучше узнать иммунологические механизмы, участвующие в развитии заболевания. В данном обзоре основное внимание уделяется роли врожденного иммунитета в патогенезе инфекционной бурсальной болезни, так как он служит первой линией защиты на пути репликации вируса и может определить исход заболевания.

**Ключевые слова:** обзор, вирус инфекционной бурсальной болезни, инфекция, врожденный иммунитет, цыплята

**Для цитирования:** Семина А. Н. Влияние врожденного и приобретенного иммунитета на патогенез инфекционной бурсальной болезни. *Ветеринария сегодня*. 2023; 12 (3): 208–214. DOI: 10.29326/2304-196X-2023-12-3-208-214.

**Конфликт интересов:** Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

**Для корреспонденции:** Семина Анна Николаевна, кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник, заведующий отделом диагностики и эпизоотологического анализа ВНИВИП, 198412, Россия, г. Санкт-Петербург, г. Ломоносов, ул. Черникова, 48, e-mail: anna14.05@mail.ru.

## Effect of innate and induced immunity on infectious bursal disease pathogenesis

A. N. Semina

All-Russian Research Veterinary Institute of Poultry Science – Branch of the FSBSI FSC “All-Russian Research and Technological Poultry Institute” of RAS (ARRVIPS), Saint Petersburg, Russia

## SUMMARY

Infectious bursal disease (IBD) is induced by a small non-enveloped virus, which is highly stable in the outer environment. The infectious bursal disease virus (IBDV) affects chicken's immune system in a comprehensive and integrated manner thus destructing B-lymphocytes, attracting T-cells and activating macrophages. Being the RNA-virus, the agent is specified by high frequency of mutations, which result in the emergence of the strains with modified antigenicity and increased virulence. The molecular basis for the virus pathogenicity and exact cause of the clinical disease and death are still understudied as they are not clearly associated with the disease severity and degree of bursa of Fabricius lesions. Recent studies, however, demonstrated the role of the enhanced immune response at early stage of the infection along with increased production of cytokine storm-inducing promediators. In case of IBD, the immunosuppression is both direct consequence of specific target-cell infection and indirect consequence of the interactions occurring in the bird's immune network. Infection with highly virulent virus strain or chicks' infection at early age after recovery or subclinical infection results in immunosuppression with more severe consequences. Since immunosuppression induced by IBD agent is targeted mostly at B-lymphocytes, effect on the cell-mediated immunity was also demonstrated and it enhances the virus pressure on the immunocompetence of the chicks. The recent progress in avian immunology allowed for better understanding of the immunological mechanisms involved in the disease development. This review focuses on the role of the innate immunity in IBD pathogenesis as it is the first line of protection against the virus replication and can predetermine the disease outcome.

**Keywords:** review, infectious bursal disease virus, infection, innate immunity, chicks

**For citation:** Semina A. N. Effect of innate and induced immunity on infectious bursal disease pathogenesis. *Veterinary Science Today*. 2023; 12 (3): 208–214. DOI: 10.29326/2304-196X-2023-12-3-208-214.

**Conflict of interest:** The author declares no conflict of interest.

**For correspondence:** Anna N. Semina, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Leading Researcher, Head of Department of Diagnostics and Epizootological Analysis, ARRIVPS, 198412, 198412, Russia, Saint Petersburg, Lomonosov, ul. Chernikova, 48, e-mail: [anna14.05@mail.ru](mailto:anna14.05@mail.ru).

## ВВЕДЕНИЕ

Инфекционная бурсальная болезнь (Infectious Bursal Disease, IBD), также известная как болезнь Гамборо, представляет собой острое, высококонтагиозное и иммунодепрессивное заболевание птиц, вызываемое вирусом инфекционной бурсальной болезни (*Avibirnavirus gumboroense*<sup>1</sup>, Infectious bursal disease virus, IBDV). Впервые он был описан в 1960-х годах в Гамборо, штат Делавер (США). С тех пор IBDV широко распространился по всему миру.

Вирус поражает молодняк, особенно цыплят в возрасте 3–6 недель – на завершающей стадии развития фабрициевой сумки. Он может напрямую атаковать и разрушать фабрициеву сумку – центральный иммунный орган кур, отвечающий за развитие и созревание В-лимфоцитов [1]. Кроме того, возбудитель IBD индуцирует апоптоз В-лимфоцитов не только в бурсе, но также в селезенке и периферической крови, что вызывает иммуносупрессию у выживших цыплят, как следствие, повышает восприимчивость к другим патогенным инфекциям и приводит к неудачам вакцинации. Факторы, влияющие на смертность, вызванную IBDV, многообразны и сложны: фенотипическое разнообразие штаммов, вирулентность вируса, инфицирующая доза, возраст и порода кур, а также уровень пассивного иммунитета [2]. Смертность цыплят, инфицированных вариантами (vIBDV) и высоковирулентными (vvIBDV) штаммами вируса, может достигать 30–100%, что приводит к огромным экономическим потерям для птицеводческой отрасли во всем мире. Хотя вакцинация цыплят живыми аттенуированными или инактивированными вакцинами эффективна для контроля бурсальной болезни в некоторых регионах, ее вспышки все еще часто наблюдаются из-за появления новых вариантных полевых штаммов и реассортантов [3]. Недавно проведенное в Бангладеш сравнительное исследование патогенности для кур трех выбранных изолятов, выделенных во время вспышек IBD в 2020–2021 гг. и принадлежащих к разным генотипам, показало, что наиболее вирулентным оказался изолят BD-25 vvIBDV (A3B2), который вызывал 100%-ю заболеваемость и 90%-ю смертность, в то время как при экспериментальном инфицировании сегмент-реассортантным изолятом BD-28 vIBDV (A3B3) наблюдали 50%-ю заболеваемость и 30%-ю смертность. Однако макроскопические и гистопатологические изменения бursы в обоих случаях были сходными, что позволяет предположить, что различия в уровне заболеваемости и смертности, вызванные двумя изолятами vvIBDV, могут быть связаны с их генетическим составом.

Как и в более раннем исследовании, классический вирулентный изолят BD-26 (A1aB1) не вызывал клинического заболевания у птиц [4, 5].

Большинство штаммов IBDV, циркулирующих в последнее время в России и Азии, являются вариантными и в основном приводят к субклиническим инфекциям, вызывая огромные экономические потери из-за серьезной иммунодепрессии. Важно отметить, что новые вариантные штаммы IBDV были выделены от цыплят, иммунизированных вакцинами на основе vvIBDV. Это свидетельствует о том, что вариантные штаммы вируса могут преодолевать иммунозащиту, индуцированную препаратами против IBD, созданными с использованием высоковирулентных штаммов. Кроме того, живые аттенуированные вакцины могут вызывать иммуносупрессию у цыплят [6, 7]. Таким образом, полное понимание механизмов, лежащих в основе взаимодействия IBDV с организмом, будет очень полезно при разработке новых иммунологических препаратов.

Вирусы реплицируют и организуют сборку вирусных компонентов в клетках-хозяевах для производства вируса-потомка, который может влиять на синтез этих клеток, метаболизм и другие нормальные физиологические функции, в конечном итоге вызывая заболевания. Для борьбы с патогенами организм постепенно эволюционирует, формируя комплексный и сложный противовирусный иммунный ответ. Врожденный иммунитет является первой линией защиты хозяина от проникновения микроорганизмов. Распознавание вторгшегося патогена является начальным и наиболее важным шагом для вызова врожденного иммунного ответа, он основан на вовлечении патоген-ассоциированных молекулярных паттернов (PAMP) рецепторами распознавания паттернов (PRR) хозяина, такими как Toll-подобные рецепторы (TLR), нуклеотид-связывающие домены олигомеризации NOD-подобные рецепторы (NLR), RIG-I-подобные рецепторы (RLR) и т. д., а также инициации иммунных сигналов для индукции ответа хозяина на вирусную инфекцию [8]. Впоследствии активируется адаптивный иммунный ответ, способствующий элиминации патогенов и формированию иммунологической памяти [9]. Между тем вирусы также выработали несколько механизмов, позволяющих избежать иммунного ответа. В птицеводстве профилактические стратегии с использованием вакцин могут в большинстве случаев предотвращать и контролировать вспышки IBD в неблагополучных по заболеванию районах. Поэтому существует огромный спрос на современные и эффективные препараты против болезни Гамборо. Изучение клеточных факторов и путей, прямо или косвенно влияющих на репликацию вируса, могло бы дать ценные ключи к разработке новых подходов к успешному контролю IBD. Настоящий обзор посвящен

<sup>1</sup> International Committee on Taxonomy of Viruses: ICTV. Режим доступа: [https://ictv.global/taxonomy/taxondetails?taxonnode\\_id=202202752](https://ictv.global/taxonomy/taxondetails?taxonnode_id=202202752).

современному пониманию реакции организма птицы на вызванную IBDV инфекцию как на клеточном уровне, так и на уровне белка.

### ХАРАКТЕРИСТИКИ ВИРУСА

Вирус инфекционной бурсальной болезни – безоболочечный двухцепочечный РНК-вирус (дцРНК) с однооболочечным икосаэдрическим капсидом, принадлежит к роду *Avibirnavirus* семейства *Birnaviridae*. Его геном состоит из бисегментированной РНК, кодирующей только пять вирусных белков, каждый из которых может выполнять множество функций. Сегмент А имеет длину 3,2 т. п. н. и содержит две частично перекрывающиеся открытые рамки считывания (ORF), кодирующие большой полипротеиновый предшественник (pVP2-VP4-VP3) и небольшой неструктурный белок VP5 (17 кДа) [10]. Полипротеин позже автокаталитически расщепляется на три полипептида: предшественника капсидного белка pVP2 (54 кДа), который в дальнейшем будет процессироваться в зрелую форму VP2 (48,5 кДа) самим VP2, каркасный белок VP3 (28 кДа) и сериновую протеазу VP4 (25 кДа) [11, 12]. VP2 отвечает за антигенную изменчивость, выступая в качестве нейтрализующего антигена. И VP2, и VP5 играют решающую роль в индуцируемом IBDV апоптозе в клетках-хозяевах. VP3 является внутренним капсидным белком и может индуцировать группоспецифические антитела [13–15]. Кроме того, VP3 связывается не только с VP1 и VP2, но также с вирусной геномной дцРНК, чтобы ингибировать распознавание вирусной дцРНК с помощью внутриклеточного рецептора опознавания паттерна MDA5, тем самым подавляя MDA5-зависимую продукцию интерферона- $\beta$  (IFN- $\beta$ ) [16–19]. VP4 также может подавлять экспрессию интерферона типа I, взаимодействуя с глюкокортикоид-индуцированной лейциновой молнией (GILZ) [20]. Недавно было обнаружено, что VP4 способствует повышенной вирулентности vvIBDV по сравнению с классическим вирусом (cIBDV) [21]. Сегмент В имеет длину 2,8 т. п. н.; он кодирует VP1 (90 кДа), РНК-зависимый белок РНК-полимеразы (RdRp), который связан с геномом вируса, участвует в синтезе мРНК и репликации вируса, а также отвечает за вирулентность IBDV [22, 23].

### ВРОЖДЕННЫЙ ИММУННЫЙ ОТВЕТ НА ИНФИЦИРОВАНИЕ IBDV

Врожденный иммунитет образует первую линию защиты от патогенной инфекции. Рецепторы распознавания паттернов, экспрессируемые почти во всех системных клетках, играют критическую роль в инициации врожденного иммунного ответа посредством распознавания PAMP, что приводит к продукции интерферонов типа I и III и других провоспалительных медиаторов (например, цитокинов, хемокинов и антимикробных пептидов). В опубликованных работах появляется все больше доказательств наличия воспалительной реакции в фабрициевой сумке кур, вызванной IBDV [24]. Как показывают результаты исследования некоторых авторов, через день после заражения IBDV в бурсе цыплят резко увеличивается количество клеток CD4+, CD8+ и макрофагов, повышается экспрессия провоспалительных цитокинов интерлейкина-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), интерлейкина-6 (IL-6) и хемокина CXCL12, однако количество противовоспалительного цитокина TGF- $\beta$ 4 снижается [25]. Сходным образом в селезенке кур, инфицированных

IBDV, увеличивался уровень мРНК провоспалительных цитокинов и хемокинов [26]. В исследовании А. Liu et al. подтверждена повышенная экспрессия фактора, ингибирующего миграцию макрофагов кур (chMIF) в первичных клетках бursy и клетках DT40, инфицированных vvIBDV. Кроме того, chMIF может способствовать транскрипции провоспалительных цитокинов в первично культивируемых макрофагах цыплят и индуцировать миграцию мононуклеарных клеток периферической крови, раскрывая механизм vvIBDV-опосредованной инициации провоспалительного ответа [27]. Недавнее исследование, сравнивающее транскрипционные профили цыплят породы белый леггорн различных инбредных линий, показало, что при инфицировании vvIBDV исход заболевания у птиц был разным – инфекция протекала с различной степенью тяжести, которая ассоциировалась со значительно усиленным воспалением, опосредованным хемокинами и цитокинами, регуляцией цитоскелета с помощью семейства клеточных сигнальных белков (Rho GTPases) [28]. Было обнаружено, что уровни транскрипции IL-1 $\beta$ , IFN- $\beta$ , каспазы-1 и цитозольного белка NLRP3 (криопирин) повышались в клетках DF-1, инфицированных IBDV, а нокдаун NLRP3 увеличивал вирусную нагрузку, это указывает на то, что инфекция активирует инфламмасому NLRP3 в DF-1 клетки [29]. Однако в этих исследованиях не было необходимых данных относительно ASC (атипические железистые клетки), каспаз-1 или -11, IL-1, IL-18 и расщепленного гасдермина на уровне белка, которые имеют решающее значение для определения возникновения воспалительных заболеваний и индукции последующего пироптоза. В настоящее время по-прежнему требуются убедительные экспериментальные данные для подтверждения индуцированной IBDV активации инфламмосом, а также возникновения пироптоза. В принципе, врожденный иммунитет кур служит первой линией защиты от IBD, включая воспалительную реакцию, которая в норме способствует фагоцитозу и клиренсу IBDV. Однако, если vvIBDV-инфекция вызывает острую воспалительную реакцию, полностью не поддающуюся контролю, чрезмерное воспаление может привести к цитокиновому шторму, что, в свою очередь, приводит к серьезным последствиям, таким как сепсис или даже гибель [30]. Несомненно, воспалительная реакция у цыплят с IBD тесно связана с тяжестью заболевания, а также со степенью поражения бursy.

Интерфероны являются наиболее важными факторами анти-IBDV в ответе организма [31]. Интерферон-стимулируемые гены (ISG), индуцируемые IFN типа I, могут влиять на жизненный цикл вируса на разных стадиях, таких как проникновение в клетку, репликация, транскрипция, сборка и высвобождение. Поскольку внутриклеточный рецептор опознавания паттерна RIG-I отсутствует в геноме кур, дцРНК IBDV в основном распознается через MDA5 и TLR3 [32, 33]. У цыплят, инфицированных vvIBDV, полученным из лимфоидных клеток DT40, экспрессия TLR1, TLR2, TLR3, TLR4 и TLR5 в бурсе увеличивалась [34]. Сходные результаты показали, что уровень мРНК chTLR3 повышался у цыплят, инфицированных полевым штаммом NN040124 IBDV, в клетках DF-1, а также в ткани бursy, но его нижестоящий эффектор IFN- $\beta$  снижался на ранней стадии инфекции. Это говорит о том, что IBDV развивался с различными стратегиями ингибирования продукции IFN типа I, чтобы выжить в организме кур [35]. В отличие от кле-

ток HD11, инфицированных IBDV, экспрессия мРНК как в TLR3, так и в TLR7 (которые распознают одноцепочечную вирусную РНК) в бурсе снижалась. Различия в экспрессии TLR, наблюдаемые в разных исследованиях, могут быть связаны с разнообразием штаммов вируса, поскольку было обнаружено, что экспрессия TLR3 повышалась после заражения классическим IBDV, но снижалась после инфицирования вариантным IBDV [36].

Заражение IBDV вызывает дозозависимую активацию куриного MDA5 и IFN- $\beta$  в куриных клетках HD11, а нокадаун экспрессии shMDA5 приводил к более высокому содержанию РНК IBDV и снижению экспрессии регуляторного фактора интерферона-3 (IRF-3) и IFN- $\beta$  [37]. Было обнаружено, что экспрессия мРНК TLR1LB, TLR2A, TLR3, TLR4, TLR15 (и TLR21 в селезенке) и MDA5 в бурсе повышалась на ранних стадиях инфекции, тогда как экспрессия TLR1LA, TLR2B и TLR7 подавлялась. В то же время экспрессия противовирусных факторов IFN- $\alpha$  и IFN- $\gamma$  и индуцированных интерфероном трансмембранных белков IFITM1, IFITM3 и IFITM5 усиливалась в бурсе кур, инфицированных IBDV, что свидетельствует о том, что инфекция запускала врожденный иммунный ответ хозяина [38]. Эти результаты показали, что как TLR3 (который обнаруживает вирусную дцРНК в эндосоме), так и MDA5 (который воспринимает цитозольную вирусную дцРНК) играют решающую роль в обнаружении генома IBDV, впоследствии инициируя развитие иммунных реакций организма в ответ на инфекцию.

Дефензины являются важными небольшими пептидами врожденного иммунитета, оказывающими прямое антимикробное действие на патогены (бактерии, грибки, простейшие и оболочечные вирусы), а также играющими определенную роль в иммуномодуляции [39]. Было обнаружено, что цыплята, иммунизированные векторной вакциной, экспрессирующей белок VP2 IBDV, вместе с куриным  $\beta$ -дефенсином-1 (AvBD1), имели более высокие уровни антител, чем птицы, привитые только одной вакциной. Это указывает на то, что AvBD1 оказывает адъювантное действие, тем самым стимулируя эффективность ДНК-вакцины [40]. Сообщалось, что введение куриных кишечных антимикробных пептидов (CIAMP) приводит к повышению титров антител у цыплят, иммунизированных вакциной против IBD. Это позволяет предположить, что CIAMP могут модулировать гуморальный иммунный ответ против IBDV.

Поскольку доказано, что врожденный иммунный ответ против IBD зависит от генетического фона кур, а степень напряженности врожденного иммунитета – от штамма вируса, одним из вариантов стратегии борьбы с заболеванием может стать разведение и селекция устойчивых к IBDV племенных цыплят, поэтому продолжение исследований в данном направлении будет актуальным.

### АДАПТИВНЫЙ ИММУННЫЙ ОТВЕТ ОРГАНИЗМА КУР НА IBDV

**Гуморальный иммунный ответ.** Адаптивный иммунитет хозяина отвечает за специфическое распознавание и элиминацию вирусов на более поздней стадии инфекции после того, как врожденный иммунитет не смог полностью устранить патогены на ранней стадии заболевания. Гуморальный иммунный ответ в основном осуществляется В-лимфоцитами. К сожалению, незрелые В-клетки в фабрициевой сумке кур являются клетками-мишенями IBDV [41], и IBDV-индуцированный

апоптоз в В-лимфоцитах непосредственно приводит к серьезному истощению В-клеток в бурсе, что ведет к разрушению иммунной системы птиц. Как показывают результаты недавних исследований, заражение IBDV штамма LJ-5 (новый изолят vvIBDV) приводит к снижению индекса бурсы, жизнеспособности В-лимфоцитов и уровня иммуноглобулинов (Ig), включая IgM и IgA в фабрициевой сумке и IgY в сыворотке [42]. С помощью секвенирования одноклеточной РНК (scRNA-seq) и проточной цитометрии было установлено, что популяция В-клеток в бурсе инфицированных IBDV цыплят резко уменьшилась по сравнению с контрольной группой, также заражение привело к снижению количества IgM<sup>+</sup> и IgY<sup>+</sup> В-клетки в фабрициевой сумке. Кроме того, было обнаружено, что IgY<sup>+</sup> и IgA<sup>+</sup> В-клетки были более многочисленными, чем IgM<sup>+</sup>, и что гены BLMP1 и IRF4, ответственные за переключение IgA, были высокоэкспрессированы у IBDV-инфицированных цыплят. Это указывает на то, что инфекция способствует секреции IgA в бурсе, а клетки IgY<sup>+</sup> и IgA<sup>+</sup> могут быть ответственны за продукцию антител против IBDV [43]. Несмотря на истощение незрелых В-клеток в бурсальной сумке цыплят из-за IBD, зрелые специфические В-клетки способны размножаться после контакта с вирусом и вызывать сильный гуморальный иммунный ответ у молодняка, перенесшего острую фазу заболевания. В недавнем исследовании была проведена сравнительная оценка патогенности малайзийского варианта IBDV и vvIBDV для цыплят, свободных от специфических патогенов (SPF), на основании макроскопических и гистопатологических поражений и определения вирусной нагрузки. Было установлено, что даже несмотря на то, что изучаемые штаммы IBDV различались по своей вирусной нагрузке, вирулентности и персистенции, оба могли вызывать значительный гуморальный ответ через 7 дней после инфицирования. Это говорит о том, что гуморальный иммунный ответ может играть решающую роль в контроле инфекции, вызванной IBDV [44].

**Клеточный иммунный ответ** в основном осуществляется Т-лимфоцитами. Повышенное количество Т-лимфоцитов и продукция родственных цитокинов и хемокинов в фабрициевой сумке цыплят, инфицированных IBDV, указывает на то, что клеточно-опосредованный иммунный ответ может быть вызван инфекцией IBD [45]. Сообщалось, что экспрессия цитокинов Т-хелперов 1 (Th1) – IFN- $\gamma$ , IL-2 и IL-12p40 – увеличивалась в бурсе цыплят после заражения vvIBDV, но у птиц, инфицированных адаптированным к клеткам штаммом Ts IBDV, экспрессия цитокинов Th2 (IL-4, IL-5, IL-13 и IL-10) была значительно выше, чем цитокинов Th1. Это свидетельствует о том, что адаптированный к клеткам штамм Ts IBDV в основном индуцировал гуморальный иммунный ответ [46]. Интересны результаты, полученные S. Rautenschlein et al., которые показали, что при инфицировании IBDV у цыплят после хирургической тимэктомии (Tx) и применения препарата циклоспорина А (CsA), избирательно подавляющего функцию Т-клеток, происходили ингибирование экспрессии рецептора IL-2 и блокировка опосредованной IL-2 передачи сигнала, в результате антигенная нагрузка в бурсе была значительно выше, чем у интактных птиц. Однако апоптоз клеток у Tx-CsA-кур был снижен по сравнению с таковым у цыплят с нормальной функцией Т-клеток. Авторы считают, что разрушение клеток бурсы, вызванное IBD, может быть опосредовано эффекторным

действием цитотоксических Т-лимфоцитов. Между тем количество фолликулов фабрициевой сумки увеличилось у Тх-СsА-цыплят относительно интактных птиц. Это указывает на то, что присутствие функциональных Т-клеток задерживает восстановление после вызванного IBDV истощения фолликулов бursы [47]. Кроме того, заражение цыплят IBDV увеличивает количество CD8+ Т-клеток в бурсе и селезенке, а экспрессия Fas-рецептора и Fas-лиганда (FasL), перфорина (PFN) и гранзимы А (GzmA) в этих органах значительно усилена [48]. До сих пор точный механизм, с помощью которого Т-клетки реагируют на инфекцию, вызванную IBDV, все еще неясен. Очень важно определить, несет ли IBDV доминантные защитные эпитопы для активации Т-клеток. Активированные Т-лимфоциты распознают эпитоп, представленный главным комплексом гистосовместимости птиц класса I (MHC I) инфицированных IBDV клеток, для индукции гибели клеток с последующим высвобождением вирусного антигена из разрушенных клеток, так что свободные вирусные антигены могут связываться со специфическими антителами с образованием комплекса антиген – антитело. Впоследствии они подвергаются фагоцитозу макрофагами путем опсонизации, опосредованной рецептором Fc, или прямого макропиноцитоза. Таким образом, иммунитет, определяемый Т-клетками, имеет решающее значение для элиминации IBDV иммунной системой птицы.

### РЕАКЦИЯ ОРГАНИЗМА КУР НА ИНФИЦИРОВАНИЕ IBDV НА УРОВНЕ БЕЛКА

Лучшее понимание молекулярных механизмов вирусной инфекции будет очень полезно при разработке новых вакцин или противовирусных препаратов. Недавние сообщения об обширных и сложных связях между вирусом и хозяином на молекулярном уровне побудили исследователей к изучению сети взаимодействия вирус – хозяин и предложению «интерактомики вирус – хозяин» [49]. Нацеливание на клеточные факторы для антивирусной терапии станет новым подходом, который может решить проблему вирусных мутаций и резистентности. В последние годы был достигнут заметный прогресс в изучении взаимоотношений IBDV и организма, что облегчает поиск клеточных мишеней, которые могут ингибировать размножение вируса, обеспечивая теоретическую основу для разработки новых вакцин или противовирусных препаратов.

Контроль амплификации вирусного генома является эффективной стратегией организма для подавления репликации IBDV. Трансляционный эукариотический фактор инициации 4AII (eIF4AII) – клеточный фактор хозяина, участвующий в осуществлении трансляции большинства клеточных мРНК, – взаимодействует с VP1, чтобы ингибировать активность вирусной РНК-полимеразы в инфицированных IBDV клетках DF-1. Это приводит к снижению размножения IBDV, что указывает на подавляющую роль фактора хозяина eIF4AII в репликации вируса [50]. Сообщалось, что другой клеточный фактор – ядерный фактор 45 (NF45), который участвует в экспорте РНК и обеспечивает стабильность и трансляцию мРНК, – специфически локализуется с VP1, VP2 и VP3 в инфицированных IBDV клетках DF-1. Циклофилин А (CyPA) – повсеместно экспрессируемый белок, обладающий пептидил-пролил-цис-транс-изомеразной (PPIase) активностью, – играет важную роль в модифи-

кации белков, укладке, транспортировке и регуляции транскрипции. CyPA также участвует в инфекционных процессах, вызванных вирусом, посредством различных механизмов. В клетках, инфицированных IBDV, CyPA взаимодействует с VP4, подавляя репродукцию вируса. Существует мнение, что CyPA влияет на ферментативную активность VP4 или активирует врожденный иммунный ответ против IBDV, однако для определения его роли все еще требуются дополнительные доказательства. Точно так же в недавнем исследовании при изучении факторов хозяина, вовлеченных в инфекционный процесс при IBD, с применением секвенирования РНК было обнаружено, что белок 25, содержащий трехчастный мотив (TRIM25), взаимодействует с VP3 и опосредует его убиквитинирование и последующую деградацию, тем самым ограничивая размножение IBDV. Эти данные свидетельствуют о том, что TRIM25 является фактором, сдерживающим репликацию вируса [51].

Аутофагия представляет собой высококонсервативный цитоплазматический путь поддержания физиологической стабильности у эукариот, с помощью которого изолируются и удаляются нежелательные собственные материалы, при этом происходит их расщепление до аминокислот для повторного использования. Растущее число исследований установило противовирусную роль аутофагии в ответе организма на патогенную инфекцию. Взаимодействие VP2 IBDV с белком теплового шока 90 (Hsp90AA1) индуцирует аутофагию через путь Hsp90AA1-AKT-mTOR на ранних стадиях инфекции, а активированная аутофагия ингибирует репликацию вируса [52]. Недавно было обнаружено, что аутофагический грузовой рецептор p62 взаимодействует с VP2 IBDV, что усиливает индукцию аутофагии и способствует аутофагической деградации VP2. Это свидетельствует о том, что p62-опосредованная аутофагическая деградация VP2 может играть роль в представлении пептида VP2 с помощью MHC, чтобы инициировать адаптивный иммунный ответ. Следует отметить, что аутофагию, с помощью которой разлагаются инородные материалы (например, патогены), часто называют ксенофагией. В недавнем исследовании было установлено, что рецептор аутофагии SQSTM1 напрямую связывается с дцРНК IBDV через аминокислотные сайты R139 и K141 и вызывает аутофагическое разрушение вирусной РНК, тем самым подавляя репликацию IBDV [53]. Эти данные свидетельствуют о том, что селективная аутофагия вирусного генома хозяином (ксенофагия) играет решающую роль в контроле инфекции, вызванной IBDV.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на то что для профилактики и борьбы с болезнями кур во всем мире реализуется программа вакцинации, до сих пор возникают спорадические вспышки IBD. Это указывает на то, что данная инфекция все еще представляет реальную угрозу для промышленного птицеводства. Таким образом, необходимо срочно разработать более эффективные и безопасные вакцины для контроля заболевания. Как показывают результаты некоторых исследований [54], цитокины chIL-2 и chIL-7 являются эффективными биологическими адъювантами, повышающими иммуногенность ДНК-вакцины против IBD, поэтому поиск новых адъювантов представляется актуальным направлением. При взаимодействии IBDV с хозяином некоторые клеточные белки играют противовирусную роль, обеспечивая защиту организма

посредством различных механизмов. Например, eIF4AII, NF45, Сура и TRIM25 подавляют репликацию IBDV, взаимодействуя с вирусными белками или репликационным комплексом, в то время как HSP90AA1, p62 и SQSTM1 ингибируют размножение IBDV, взаимодействуя с вирусными белками или геномами, для инициации аутофагии хозяина, что впоследствии индуцирует их репликацию. Необходимо и настоятельно рекомендуется проводить дальнейшие работы по изучению факторов рестрикции хозяина и их молекулярных механизмов во время инфицирования IBDV. Врожденный иммунитет играет важную роль в защите организма от IBDV и прямо или косвенно регулирует адаптивный иммунный ответ при IBD, что может служить ценным ориентиром для разработки противовирусных терапевтических средств для воздействия на клеточном уровне. Взаимодействие организма и IBDV все еще вызывает много вопросов, которые необходимо решить. Полное понимание молекулярного механизма ответа организма на вызванную IBDV инфекцию могло бы оказать большую помощь в разработке противовирусных стратегий.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

- Mahgoub H. A. An overview of infectious bursal disease. *Arch. Virol.* 2012; 157 (11): 2047–2057. DOI: 10.1007/s00705-012-1377-9.
- Ingrao F., Rauw F., Lambrecht B., van den Berg T. Infectious bursal disease: a complex host-pathogen interaction. *Dev. Comp. Immunol.* 2013; 41 (3): 429–438. DOI: 10.1016/j.dci.2013.03.017.
- Wang W., He X., Zhang Y., Qiao Y., Shi J., Chen R., et al. Analysis of the global origin, evolution and transmission dynamics of the emerging novel variant IBDV (A2dB1b): the accumulation of critical aa-residue mutations and commercial trade contributes to the emergence and transmission of novel variants. *Transbound. Emerg. Dis.* 2022; 69 (5): e2832–e2851. DOI: 10.1111/tbed.14634.
- Islam M. R., Nooruzzaman M., Rahman T., Mumu T. T., Rahman M. M., Chowdhury E. H., et al. A unified genotypic classification of infectious bursal disease virus based on both genome segments. *Avian Pathol.* 2021; 50 (2): 190–206. DOI: 10.1080/03079457.2021.1873245.
- Nooruzzaman M., Hossain I., Rahman M. M., Uddin A. J., Mustari A., Parvin R., et al. Comparative pathogenicity of infectious bursal disease viruses of three different genotypes. *Microb. Pathog.* 2022; 169:105641. DOI: 10.1016/j.micpath.2022.105641.
- Fan L., Wu T., Wang Y., Hussain A., Jiang N., Gao L., et al. Novel variants of infectious bursal disease virus can severely damage the bursa of Fabricius of immunized chickens. *Vet. Microbiol.* 2020; 240:108507. DOI: 10.1016/j.vetmic.2019.108507.
- Shirokov D. A., Dubovoi A. S., Manuvera V. A., Samuseva G. N., Dmitrieva M. E., Lazarev V. N. Complete genome sequence of a novel very virulent strain of infectious bursal disease virus circulating in Russia. *Microbiol. Resour. Announc.* 2018; 7 (20):e01084-18. DOI: 10.1128/MRA.01084-18.
- Takeuchi O., Akira S. Innate immunity to virus infection. *Immunol. Rev.* 2009; 227 (1): 75–86. DOI: 10.1111/j.1600-065X.2008.00737.x.
- Medzhitov R. Recognition of microorganisms and activation of the immune response. *Nature.* 2007; 449 (7164): 819–826. DOI: 10.1038/nature06246.
- Lombardo E., Maraver A., Espinosa I., Fernández-Arias A., Rodríguez J. F. VP5, the nonstructural polypeptide of infectious bursal disease virus, accumulates within the host plasma membrane and induces cell lysis. *Virology.* 2000; 277 (2): 345–357. DOI: 10.1006/viro.2000.0595.
- Irigoyen N., Castón J. R., Rodríguez J. F. Host proteolytic activity is necessary for infectious bursal disease virus capsid protein assembly. *J. Biol. Chem.* 2012; 287 (29): 24473–24482. DOI: 10.1074/jbc.M112.356113.
- Irigoyen N., Garriga D., Navarro A., Verdager N., Rodríguez J. F., Castón J. R. Autoproteolytic activity derived from the infectious bursal disease virus capsid protein. *J. Biol. Chem.* 2009; 284 (12): 8064–8072. DOI: 10.1074/jbc.M808942200.
- Qin Y., Xu Z., Wang Y., Li X., Cao H., Zheng S. J. VP2 of infectious bursal disease virus induces apoptosis via triggering oral cancer overexpressed 1 (ORAOV1) protein degradation. *Front. Microbiol.* 2017; 8:1351. DOI: 10.3389/fmicb.2017.01351.
- Li Z., Wang Y., Xue Y., Li X., Cao H., Zheng S. J. Critical role for voltage-dependent anion channel 2 in infectious bursal disease virus-induced apoptosis in host cells via interaction with VP5. *J. Virol.* 2012; 86 (3): 1328–1338. DOI: 10.1128/JVI.06104-11.
- Lin W., Zhang Z., Xu Z., Wang B., Li X., Cao H., et al. The association of receptor of activated protein kinase C 1 (RACK1) with infectious bursal disease virus viral protein VP5 and voltage-dependent anion channel 2 (VDAC2) inhibits apoptosis and enhances viral replication. *J. Biol. Chem.* 2015; 290 (13): 8500–8510. DOI: 10.1074/jbc.M114.585687.
- Maraver A., Oña A., Abaitua F., González D., Clemente R., Ruiz-Díaz J. A., et al. The oligomerization domain of VP3, the scaffolding protein of infectious bursal disease virus, plays a critical role in capsid assembly. *J. Virol.* 2003; 77 (11): 6438–6449. DOI: 10.1128/jvi.77.11.6438-6449.2003.
- Kochan G., Gonzalez D., Rodriguez J. F. Characterization of the RNA-binding activity of VP3, a major structural protein of infectious bursal disease virus. *Arch. Virol.* 2003; 148 (4): 723–744. DOI: 10.1007/s00705-002-0949-5.
- Deng T., Hu B., Wang X., Yan Y., Zhou J., Lin L., et al. DeSUMOylation of apoptosis inhibitor 5 by *Aviornavirus* VP3 supports virus replication. *mBio.* 2021; 12 (4):e0198521. DOI: 10.1128/mBio.01985-21.
- Shirokov D. A., Manuvera V. A., Miroshina O. A., Dubovoi A. S., Samuseva G. N., Dmitrieva M. E., Lazarev V. N. Generation of recombinant VP3 protein of infectious bursal disease virus in three different expression systems, antigenic analysis of the obtained polypeptides and development of an ELISA test. *Arch. Virol.* 2020; 165 (7): 1611–1620. DOI: 10.1007/s00705-020-04650-2.
- Li Z., Wang Y., Li X., Li X., Cao H., Zheng S. J. Critical roles of glucocorticoid-induced leucine zipper in infectious bursal disease virus (IBDV)-induced suppression of type I interferon expression and enhancement of IBDV growth in host cells via interaction with VP4. *J. Virol.* 2013; 87 (2): 1221–1231. DOI: 10.1128/JVI.02421-12.
- He Z., Chen X., Fu M., Tang J., Li X., Cao H., et al. Infectious bursal disease virus protein VP4 suppresses type I interferon expression via inhibiting K48-linked ubiquitylation of glucocorticoid-induced leucine zipper (GILZ). *Immunobiology.* 2018; 223 (4–5): 374–382. DOI: 10.1016/j.imbio.2017.10.048.
- Dulwich K. L., Asfor A., Gray A., Giotis E. S., Skinner M. A., Broadbent A. J. The stronger downregulation of *in vitro* and *in vivo* innate antiviral responses by a very virulent strain of infectious bursal disease virus (IBDV), compared to a classical strain, is mediated, in part, by the VP4 protein. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2020; 10:315. DOI: 10.3389/fcimb.2020.00315.
- Nouén C. L., Toquin D., Müller H., Raue R., Kean K. M., Langlois P., et al. Different domains of the RNA polymerase of infectious bursal disease virus contribute to virulence. *PLoS One.* 2012; 7 (1):e28064. DOI: 10.1371/journal.pone.0028064.
- Palmquist J. M., Khatir M., Cha R. M., Goddeeris B. M., Walcheck B., Sharma J. M. *In vivo* activation of chicken macrophages by infectious bursal disease virus. *Viral Immunol.* 2006; 19 (2): 305–315. DOI: 10.1089/vim.2006.19.305.
- Eldaghayes I., Rothwell L., Williams A., Withers D., Balu S., Davison F., Kaiser P. Infectious bursal disease virus: strains that differ in virulence differentially modulate the innate immune response to infection in the chicken bursa. *Viral Immunol.* 2006; 19 (1): 83–91. DOI: 10.1089/vim.2006.19.83.
- Rasoli M., Yeap S. K., Tan S. W., Roohani K., Kristeen-Teo Y. W., Alitheen N. B., et al. Differential modulation of immune response and cytokine profiles in the bursa and spleen of chickens infected with very virulent infectious bursal disease virus. *BMC Vet. Res.* 2015; 11:75. DOI: 10.1186/s12917-015-0377-x.
- Liu A., Li H., Qi X., Wang Q., Yang B., Wu T., et al. Macrophage migration inhibitory factor triggers inflammatory responses during very virulent infectious bursal disease virus infection. *Front. Microbiol.* 2019; 10:2225. DOI: 10.3389/fmicb.2019.02225.
- Asfor A. S., Nazki S., Reddy V. R. A. P., Campbell E., Dulwich K. L., Giotis E. S., et al. Transcriptomic analysis of inbred chicken lines reveals infectious bursal disease severity is associated with greater bursal inflammation *in vivo* and more rapid induction of pro-inflammatory responses in primary bursal cells stimulated *ex vivo*. *Viruses.* 2021; 13 (5):933. DOI: 10.3390/v13050933.
- He Z., Ma Y., Wu D., Feng W., Xiao J. Protective effects of the NLRP3 inflammasome against infectious bursal disease virus replication in DF-1 cells. *Arch. Virol.* 2021; 166 (7): 1943–1950. DOI: 10.1007/s00705-021-05099-7.
- Xu Z. Y., Yu Y., Liu Y., Ou C. B., Zhang Y. H., Liu T. Y., et al. Differential expression of pro-inflammatory and anti-inflammatory genes of layer chicken bursa after experimental infection with infectious bursal disease virus. *Poult. Sci.* 2019; 98 (11): 5307–5314. DOI: 10.3382/ps/pez312.
- Broto L., Romero N., Méndez F., Diaz-Beneitez E., Candelas-Rivera O., Fuentes D., et al. Type I interferon acts as a major barrier to the establishment of infectious bursal disease virus (IBDV) persistent infections. *J. Virol.* 2021; 95 (5): e02017-20. DOI: 10.1128/JVI.02017-20.
- Lee C. C., Wu C. C., Lin T. L. Chicken melanoma differentiation-associated gene 5 (MDA5) recognizes infectious bursal disease virus infection and triggers MDA5-related innate immunity. *Arch. Virol.* 2014; 159 (7): 1671–1686. DOI: 10.1007/s00705-014-1983-9.

33. Chen R., Chen J., Xiang Y., Chen Y., Shen W., Wang W., et al. Differential modulation of innate antiviral profiles in the intestinal lamina propria cells of chickens infected with infectious bursal disease viruses of different virulence. *Viruses*. 2022; 14 (2):393. DOI: 10.3390/v14020393.
34. Quan R., Zhu S., Wei L., Wang J., Yan X., Li Z., Liu J. Transcriptional profiles in bursal B-lymphoid DT40 cells infected with very virulent infectious bursal disease virus. *Viol. J.* 2017; 14 (1):7. DOI: 10.1186/s12985-016-0668-2.
35. He X., Chen Y., Kang S., Chen G., Wei P. Differential regulation of chTLR3 by infectious bursal disease viruses with different virulence *in vitro* and *in vivo*. *Viral. Immunol.* 2017; 30 (7): 490–499. DOI: 10.1089/vim.2016.0134.
36. Rauf A., Khatri M., Murgja M. V., Jung K., Saif Y. M. Differential modulation of cytokine, chemokine and Toll like receptor expression in chickens infected with classical and variant infectious bursal disease virus. *Vet. Res.* 2011; 42:85. DOI: 10.1186/1297-9716-42-85.
37. Lee C. C., Wu C. C., Lin T. L. Role of chicken melanoma differentiation-associated gene 5 in induction and activation of innate and adaptive immune responses to infectious bursal disease virus in cultured macrophages. *Arch. Virol.* 2015; 160 (12): 3021–3035. DOI: 10.1007/s00705-015-2612-y.
38. Smith J., Sadeyen J. R., Butter C., Kaiser P., Burt D. W. Analysis of the early immune response to infection by infectious bursal disease virus in chickens differing in their resistance to the disease. *J. Virol.* 2015; 89 (5): 2469–2482. DOI: 10.1128/JVI.02828-14.
39. Gao X., Ding J., Liao C., Xu J., Liu X., Lu W. Defensins: the natural peptide antibiotic. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2021; 179:114008. DOI: 10.1016/j.addr.2021.114008.
40. Zhang H. H., Yang X. M., Xie Q. M., Ma J. Y., Luo Y. N., Cao Y. C., et al. The potent adjuvant effects of chicken beta-defensin-1 when genetically fused with infectious bursal disease virus VP2 gene. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2010; 136 (1–2): 92–97. DOI: 10.1016/j.vetimm.2010.02.018.
41. Vasconcelos A. C., Lam K. M. Apoptosis induced by infectious bursal disease virus. *J. Gen. Virol.* 1994; 75 (Pt 7): 1803–1806. DOI: 10.1099/0022-1317-75-7-1803.
42. Huang X., Liu W., Zhang J., Liu Z., Wang M., Wang L., et al. Very virulent infectious bursal disease virus-induced immune injury is involved in inflammation, apoptosis, and inflammatory cytokines imbalance in the bursa of fabricius. *Dev. Comp. Immunol.* 2021; 114:103839. DOI: 10.1016/j.dci.2020.103839.
43. Shah A. U., Li Y., Ouyang W., Wang Z., Zuo J., Shi S., et al. From nasal to basal: single-cell sequencing of the bursa of Fabricius highlights the IBDV infection mechanism in chickens. *Cell Biosci.* 2021; 11 (1):212. DOI: 10.1186/s13578-021-00728-9.
44. Aliyu H. B., Hamisu T. M., Hair Bejo M., Omar A. R., Ideris A. Comparative pathogenicity of Malaysian variant and very virulent infectious bursal disease viruses in chickens. *Avian Pathol.* 2022; 51 (1): 76–86. DOI: 10.1080/03079457.2021.2006604.
45. Kim I. J., You S. K., Kim H., Yeh H. Y., Sharma J. M. Characteristics of bursal T lymphocytes induced by infectious bursal disease virus. *J. Virol.* 2000; 74 (19): 8884–8892. DOI: 10.1128/jvi.74.19.8884-8892.2000.
46. Liu H., Zhang M., Han H., Yuan J., Li Z. Comparison of the expression of cytokine genes in the bursal tissues of the chickens following challenge with infectious bursal disease viruses of varying virulence. *Viol. J.* 2010; 7:364. DOI: 10.1186/1743-422X-7-364.
47. Rautenschlein S., Yeh H. Y., Njenga M. K., Sharma J. M. Role of intra-bursal T cells in infectious bursal disease virus (IBDV) infection: T cells promote viral clearance but delay follicular recovery. *Arch. Virol.* 2002; 147 (2): 285–304. DOI: 10.1007/s705-002-8320-2.
48. Viswanathan K., Früh K. Viral proteomics: global evaluation of viruses and their interaction with the host. *Expert Rev. Proteomics.* 2007; 4 (6): 815–829. DOI: 10.1586/14789450.4.6.815.
49. Абгарян С. Р., Никитина Н. В., Семина А. Н. Молекулярно-биологическая диагностика респираторных болезней птиц. *Международный вестник ветеринарии.* 2019; (3): 11–15. DOI: 10.17238/issn2072-2419.2019.3.11.
- Abgarian S. R., Nikitina N. I., Semina A. N. Molecular-biological diagnostics of respiratory diseases in birds. *International Journal of Veterinary Medicine.* 2019; (3): 11–15. DOI: 10.17238/issn2072-2419.2019.3.11. (in Russ.)
50. Gao L., Li K., Zhong L., Zhang L., Qi X., Wang Y., et al. Eukaryotic translational initiation factor 4AII reduces the replication of infectious bursal disease virus by inhibiting VP1 polymerase activity. *Antiviral Res.* 2017; 139: 102–111. DOI: 10.1016/j.antiviral.2016.11.022.
51. Wang S., Yu M., Liu A., Bao Y., Qi X., Gao L., et al. TRIM25 inhibits infectious bursal disease virus replication by targeting VP3 for ubiquitination and degradation. *PLoS Pathog.* 2021; 17 (9):e1009900. DOI: 10.1371/journal.ppat.1009900.
52. Hu B., Zhang Y., Jia L., Wu H., Fan C., Sun Y., et al. Binding of the pathogen receptor HSP90AA1 to avibirnavirus VP2 induces autophagy by inactivating the AKT-MTOR pathway. *Autophagy.* 2015; 11 (3): 503–515. DOI: 10.1080/15548627.2015.1017184.
53. Li Y., Hu B., Ji G., Zhang Y., Xu C., Lei J., et al. Cytoplasmic cargo receptor p62 inhibits avibirnavirus replication by mediating autophagic degradation of viral protein VP2. *J. Virol.* 2020; 94 (24):e01255-20. DOI: 10.1128/JVI.01255-20.
54. Huo S., Zhang J., Fan J., Wang X., Wu F., Zuo Y., Zhong F. Co-expression of chicken IL-2 and IL-7 enhances the immunogenicity and protective efficacy of a VP2-expressing DNA vaccine against IBDV in chickens. *Viruses.* 2019; 11 (5): 476. DOI: 10.3390/v11050476.

Поступила в редакцию / Receive 24.04.2023

Поступила после рецензирования / Revised 28.06.2023

Принята к публикации / Accepted 05.07.2023

## ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРЕ / INFORMATION ABOUT THE AUTHOR

**Семина Анна Николаевна**, кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник, заведующий отделом диагностики и эпизоотологического анализа ВНИВИП, г. Санкт-Петербург, Россия; <https://orcid.org/0000-0001-7641-9105>, e-mail: [anna14.05@mail.ru](mailto:anna14.05@mail.ru).

**Anna N. Semina**, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Leading Researcher, Head of Department of Diagnostics and Epizootological Analysis, ARRVIPS, Saint Petersburg, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-7641-9105>, e-mail: [anna14.05@mail.ru](mailto:anna14.05@mail.ru).