

DOI: 10.29326/2304-196X-2023-12-4-315-321
УДК 619:616.98:578.833.3:578.5.001

Изучение и идентификация изолятов вируса вирусной диареи крупного рогатого скота, выделенных на территории России с 2019 по 2022 г.

Р. И. Бубякин, С. В. Кононова, И. Н. Шумилова, О. П. Бьядовская, А. О. Кротова, А. В. Кононов
ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»), г. Владимир, Россия

РЕЗЮМЕ

Изучение возбудителей вирусной диареи крупного рогатого скота является важной задачей в связи с высокой вероятностью заноса новых изолятов на территорию Российской Федерации, а также необходимостью учитывать генотиповую и субгенотиповую принадлежность циркулирующего в стаде вируса при разработке вакцин и средств диагностики инфекции. В ходе проделанной работы было получено и идентифицировано 6 изолятов возбудителя вирусной диареи крупного рогатого скота. При выделении данных изолятов в субкультуре клеток тестикул ягненка установили, что изоляты Bashkiria/2019, Kirov/2020 и Samara/2020 относятся к нецитопатогенным биотипам вируса вирусной диареи крупного рогатого скота, изолят Chelyabinsk/2021 проявлял характерное цитопатическое действие в монослое и был отнесен к цитопатогенному варианту вируса, а изоляты Belgorod/2021 и Udmurtiya/2020 не удалось адаптировать к данной клеточной системе. Также при проведении исследования была определена видовая принадлежность полученных изолятов. При анализе нуклеотидной последовательности фрагмента 5'-нетранслируемой области (5'-UTR) генома данные изоляты отнесены к трем генотипам вируса. Филогенетический анализ показал, что изоляты Chelyabinsk/2021 и Udmurtiya/2020 принадлежат к генотипу 2 и имеют соответственно 98%-ю и 99%-ю гомологию с референтным штаммом 890 возбудителя вирусной диареи крупного рогатого скота. Выделенные изоляты Bashkiria/2019, Samara/2020, Kirov/2020 были отнесены к субтипам 1i, 1f и 1b генотипа 1, а изолят Belgorod/2021 является представителем генотипа 3 вируса. Данные исследования подтверждают присутствие всех трех генотипов вируса вирусной диареи крупного рогатого скота на территории Российской Федерации и необходимость разработки средств специфической профилактики и диагностики против данного заболевания.

Ключевые слова: вирусная диарея крупного рогатого скота, пестивирусы, генотип 2, изолят, полимеразная цепная реакция, секвенирование

Благодарности: Работа выполнена в рамках государственного задания по теме «Выявление возбудителей трансграничных заболеваний животных, изучение их биологических свойств, особенностей заноса и распространения болезней, вызываемых данными возбудителями, возможных факторов передачи». Авторы выражают благодарность Н. Г. Зинякову, А. А. Козлову, А. В. Спрыгину за консультативную и техническую поддержку при проведении секвенирования и составлении филогенетического дерева.

Для цитирования: Бубякин Р. И., Кононова С. В., Шумилова И. Н., Бьядовская О. П., Кротова А. О., Кононов А. В. Изучение и идентификация изолятов вируса вирусной диареи крупного рогатого скота, выделенных на территории России с 2019 по 2022 г. *Ветеринария сегодня*. 2023; 12 (4): 315–321. DOI: 10.29326/2304-196X-2023-12-4-315-321.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Бубякин Роман Игоревич, аспирант, ведущий биолог лаборатории биотехнологий и конструирования вирусных препаратов ФГБУ «ВНИИЗЖ», 600901, Россия, г. Владимир, мкр. Юрьевец, e-mail: bubyakin@arriah.ru.

Testing and identification of bovine viral diarrhoea virus isolates recovered in Russia between 2019 and 2022

R. I. Bubyakin, S. V. Kononova, I. N. Shumilova, O. P. Byadovskaya, A. O. Krotova, A. V. Kononov
FGBI "Federal Centre for Animal Health" (FGBI "ARRIAH"), Vladimir, Russia

SUMMARY

Studying the agents of bovine viral diarrhoea (BVD) is an important task given the high probability of new isolate introduction into the Russian Federation, as well as the need to take into account the genotype and subgenotype of the virus circulating in a herd when developing vaccines and diagnostic kits for the infection. During the work performed, 6 BVD virus isolates were recovered and identified. The recovery of these isolates in the lamb testicle cell subculture revealed that Bashkiria/2019, Kirov/2020 and Samara/2020 isolates belong to non-cytopathic bovine viral diarrhoea virus biotypes, Chelyabinsk/2021 isolate demonstrated the characteristic cytopathic effect in the monolayer and was classified as a cytopathic variant of the virus, the adaptation of Belgorod/2021 and Udmurtiya/2020 isolates to this cell system was not possible. The study also identified the species of the recovered isolates. Based on the analysis of the nucleotide sequence of genome 5'-untranslated region (5'-UTR) fragment, these isolates were classified as belonging to three genotypes of the virus. The phylogenetic analysis showed that Chelyabinsk/2021 and Udmurtiya/2020 isolates belong to genotype 2 and demonstrate, respectively, 98% and 99% homology with reference 890 strain of BVD virus. The recovered Bashkiria/2019, Samara/2020, Kirov/2020 isolates were classified as belonging to subtypes 1i, 1f and 1b of genotype 1, and Belgorod/2021

© Бубякин Р. И., Кононова С. В., Шумилова И. Н., Бьядовская О. П., Кротова А. О., Кононов А. В., 2023

isolate represents genotype 3 of the virus. The findings from the study confirm the presence of all three genotypes of bovine viral diarrhea virus in the Russian Federation and reiterate the need for the development of specific prevention and diagnosis tools for the disease.

Keywords: bovine viral diarrhea, pestiviruses, genotype 2, isolate, polymerase chain reaction, sequencing

Acknowledgements: The study was conducted under the governmental programme "Detection of transboundary animal disease agents, studies of their biological properties, introduction and spread patterns of diseases caused by these agents, potential transmission factors". The authors are grateful to N. G. Zinyakov, A. A. Kozlov, A. V. Sprygin for advisory and technical support during sequencing and phylogenetic tree construction.

For citation: Bubyakin R. I., Kononova S. V., Shumilova I. N., Byadovskaya O. P., Krotova A. O., Kononov A. V. Testing and identification of bovine viral diarrhea virus isolates recovered in Russia between 2019 and 2022. *Veterinary Science Today*. 2023; 12 (4): 315–321. DOI: 10.29326/2304-196X-2023-12-4-315-321.

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

For correspondence: Roman I. Bubyakin, Postgraduate Student, Leading Biologist, Laboratory for Biotechnologies and Viral Product Construction, FGBI "ARRIAH", 600901, Russia, Vladimir, Yur'evets, e-mail: bubyakin@arriah.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Вирус вирусной диареи крупного рогатого скота (ВД КРС) принадлежит к роду *Pestivirus*, семейству *Flaviviridae* и представлен различными генотипами: генотипом 1 (пестивирус А, *Pestivirus bovis*, ВД-1), генотипом 2 (пестивирус В, *Pestivirus tauri*, ВД-2), генотипом 3 (пестивирус Н, НоВи-подобный пестивирус, *Pestivirus brazilense*, ВД-3), а также двумя фенотипами – цитопатогенным (ЦП) и нецитопатогенным (НЦП). Одновременно генотипы подразделяются на субтипы: известно о 21 субтипе генотипа 1 (1а–1и), шести субтипах генотипа 2 (2а–2ф) и четырех – генотипа 3 [1, 2].

Вирус вызывает многообразные клинические формы заболевания, приводя к значительным экономическим потерям в мясном и молочном животноводстве во всем мире. Инфекция сопровождается патологией воспроизводства, болезнями респираторного тракта, дисфункцией иммунной системы, эрозивно-язвенным воспалением слизистых оболочек пищеварительного тракта, хроническими заболеваниями с предрасположенностью к развитию вторичной бактериальной и другой вирусной инфекции. Отличительной особенностью вируса является его способность преодолевать плацентарный барьер и, в зависимости от сроков стельности коровы, инфицировать плод, что приводит к развитию персистентной инфекции [3]. В результате рождаются иммунотолерантные телята, которые служат постоянными источниками патогена для неиммунных животных.

Главной особенностью вируса ВД КРС является генотипическое и фенотипическое разнообразие, лежащее в основе полиморфизма клинического проявления болезни и изменения вирулентности и антигенности вируса. Его геном представлен однонитевой РНК положительной полярности размером около 12,3 тыс. нуклеотидов. Имеет одну открытую рамку считывания (ORF) длиной около 4000 кодонов, кодирующую 12 структурных и неструктурных белков (Npro-C-Erns-E1-E2-p7-NS2/NS3-NS4A-NS4B-NS5A-NS5B), фланкированную с 5'- и 3'-концов нетранслируемыми областями (5'-UTR и 3'-UTR), р80-125, и основной белок gp53, ответственный за выработку вируснейтрализующих антител [4].

Особенность вируса, заключающаяся в антигенной изменчивости и различиях в вирулентности и показа-

телях репродукции, может быть связана с геномными реорганизациями, мутациями или рекомбинациями.

Распространение видов и субтипов вируса имеет региональные особенности и зависит от характера ведения животноводства, плотности размещения животных, их продуктивности, частоты ввода новых особей и других факторов. Вирус генотипа 1 распространен повсеместно, но чаще очаги возникают в странах Европы. Наибольшее количество субтипов (до 21) выявлено у КРС в Италии и Китае. О выделении пестивируса генотипа 2 от КРС сообщали в США, Канаде, Бразилии, Уругвае, Германии, Словакии, Италии, Южной Корее, Японии, Монголии и России [5].

Болезнь слизистых оболочек как одна из форм проявления многообразной клинической картины заболевания является продолжением персистентного инфицирования, сопровождается гибелью животного в возрасте от 6 мес. до 2 лет. Она возникает, когда животное, персистентно инфицированное НЦП вирусом, суперинфицируется гомологичным ЦП вариантом вируса [6]. Также могут происходить вспышки, вызванные НЦП вирусом генотипа 2 без сопровождения ЦП вируса [6, 7].

Изоляты возбудителя ВД КРС генотипа 2 встречаются реже, чем изоляты вируса генотипа 1, они вызывают острое и сверхострое течение болезни с высокой смертностью, тромбоцитопенией и геморагиями [8, 9, 10, 11]. Изучение возбудителей ВД КРС является важным в связи с высокой вероятностью заноса новых изолятов на территорию Российской Федерации. Также необходимо учитывать генотиповую и субгенотиповую принадлежность циркулирующего вируса в стаде при разработке средств специфической профилактики и диагностики данной инфекции [6, 7].

Специфический иммунитет играет важную роль в борьбе с ВД КРС. Ликвидация инфекции без вакцинопрофилактики – труднодостижимая и даже невозможная задача из-за широкой инфицированности, длительного латентного носительства и выделения вируса, высокой численности и плотности поголовья в хозяйствах. Иммунизация должна защитить животных от виремии и распространения вируса, предотвратить заражение клеток-мишеней репродуктивной и лимфатической систем с целью недопущения инфицирования плода и развития

иммуносупрессии. Несколько десятилетий назад большинство вакцин содержали штаммы вируса генотипа 1. Однако в связи с антигенной вариабельностью возбудителя ВД КРС началось внедрение и производство как аттенуированных, так и инактивированных препаратов, изготовленных на основе штаммов двух генотипов вируса. В США насчитывается более 180 лицензированных вакцин против ВД КРС [9]. В России зарегистрированных иммунологических препаратов, содержащих в своем составе вирус ВД КРС генотипа 2, нет.

Цель данной работы – провести исследование выделенного от КРС с респираторной и репродуктивной патологиями материала, отобранного на территории хозяйств Российской Федерации в 2019–2022 гг., а также дать филогенетическую характеристику выделенных изолятов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Пробы биоматериала поступали в референтную лабораторию болезней КРС с целью проведения исследований на наличие РНК вируса ВД КРС. Подготовку проб перед выделением проводили в условиях лаборатории. Для исследования использовали стабилизированную кровь, назальные смывы и/или 5–10%-ю суспензию патологического материала. Для получения суспензии образец материала гомогенизировали до кашцеобразного состояния с использованием стерильной фарфоровой ступки и пестика. Затем в ступку добавляли воду, свободную от нуклеаз, для получения 10%-й

суспензии и перемешивали с гомогенатом. Суммарную РНК выделяли из 0,1 мл исследуемого биологического материала с помощью набора реагентов «РИБО-сорб» (ФБУН «ЦНИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора, Россия), или набора Viral RNA kit (QIAGEN, Германия), или аналогов согласно инструкции производителя.

Для выявления генома возбудителя ВД КРС генотипа 2 применяли олигонуклеотидные праймеры: BD1 5'-GTAGTCGTCAGTGGTTCG-3' (позиции 188–205 н. по штамму NADL), BD4 5'-GCCATGTACAGCAGAGAT-3' (позиции 383–366 н. по штамму NADL), BD2 5'-CGACACTC-CATTAGTTGAGG-3' (позиции 204–223 н. по штамму 890), BD3 5'-GTCCATAACGCCACGAATAG-3' (позиции 320–301 н. по штамму 890), фланкирующие консервативный регион вирусного генома размером 261 пара оснований, и методику выявления и штаммовой дифференциации возбудителя по участку 5'-UTR генома [12] в программируемом амплификаторе Rotor-Gene™ 6000 (Corbett Research Pty Ltd., Австралия).

Секвенирование образцов осуществляли на автоматическом секвенаторе ABI Prism® 3100 (Applied Biosystems, США) согласно инструкции изготовителя.

Нуклеотидные последовательности синтезируемых фрагментов анализировали методами выравнивания с последовательностями ВД-1, ВД-2 и ВД-3, полученными из международной базы данных GenBank и базы генетических данных ФГБУ «ВНИИЗЖ».

Полученные нуклеотидные последовательности анализировали при помощи пакета программы

Таблица 1
ПЦР-исследования проб патологического материала в 2019–2022 гг.

Table 1
PCR tests of pathological material samples, 2019–2022

Регион	Количество исследуемых хозяйств	Количество проб	Результаты исследования (ПЦР)	
			положительные	отрицательные
Курская область	1	6	0	6
Ивановская область	1	10	0	10
Республика Башкортостан	1	11	5	6
Краснодарский край	2	10	0	10
Тамбовская область	1	33	0	33
Белгородская область	2	24	3	21
Ставропольский край	1	9	0	9
Республика Мордовия	1	17	0	17
Республика Марий Эл	1	2	0	2
Новосибирская область	1	10	0	10
Кировская область	3	40	5	35
Удмуртская Республика	1	12	3	9
Камчатский край	1	4	0	4
Вологодская область	1	7	0	7
Костромская область	1	10	0	10
Челябинская область	1	6	1	5
Красноярский край	1	10	0	10
Самарская область	1	40	1	39
Ростовская область	1	2	0	2
Итого	23	263	18	245

Таблица 2

Результаты исследований методом ОТ-ПЦР проб культуральной жидкости, отобранных при культивировании изолятов вируса ВД КРС в культуре клеток тестикул ягненка

Table 2

Results of RT-PCR tests of culture fluid samples collected during cultivation of BVD virus isolates in lamb testicle cell culture

Изолят вируса ВД КРС	Значение Ct		Наличие ЦПД
	2-й пассаж	5-й пассаж	
Bashkiria/2019	25,75	21,93	–
Kirov/2020	26,56	19,63	–
Samara/2020	25,64	18,25	–
Belgorod/2021	30,86	33,22	–
Udmurtiya/2020	29,59	34,51	–
Chelyabinsk/2021	25,26	17,02	+

BioEdit 7.0. Филогенетическую дендрограмму строили в программе Mega 11, используя метод максимальной вероятности. Топология ветвей подтверждалась бутстреп-анализом.

Для выделения вируса в культуре клеток использовали пробы, при исследовании которых методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) был получен положительный результат на наличие РНК вируса ВД КРС. Исключая контаминацию НЦП вирусом ВД КРС, процесс выделения вируса осуществляли в субкультурируемых клеточных линиях тестикул ягненка (ТЯ). Инфицированный монослой культивировали при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$. Поддерживающей была среда ПСП, приготовленная по прописи ФГБУ «ВНИИЗЖ», без сыворотки, с добавлением 10%-го раствора Байтрила. Идентификацию изолятов проводили после 5 последовательных пассажей в культуре клеток ТЯ, исследуя культуральную жидкость в ПЦР с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В период с 2019 по 2022 г. методом ПЦР было исследовано 263 пробы смывов с носовых входов, соскобов с эрозий пораженных губ, патологического материала, поступивших в лабораторию из 23 хозяйств 19 субъектов РФ.

Все пробы были исследованы в ОТ-ПЦР на наличие генома вируса ВД КРС. Для 18 образцов был получен положительный результат, что составило 6,8% от общего числа исследуемых проб.

Положительными оказались пробы носовых истечений, отобранные от телят месячного возраста с респираторной дисфункцией в одном из хозяйств Челябинской области. Также геном вируса ВД КРС был выявлен в образцах эмбриональной сыворотки КРС (Белгородская область), слизистых оболочек кишечника телят с клинической картиной, характерной для ВД КРС с воспалением слизистых (Республика Башкортостан, Самарская и Кировская области), абортированного плода первотелки, недавно завезенной на территорию России (Удмуртская Республика). Наблюдаемые различия в клинической картине течения заболевания у животных подтверждает информацию о полиморфизме клинического проявления болезни.

Для получения изолятов вируса ВД КРС проводили серию последовательных пассажей в субкультуре клеток ТЯ. Репродукцию вируса оценивали по характерной картине цитопатического действия (ЦПД), а также при исследовании проб культуральной жидкости в ОТ-ПЦР, исходя из того, что самые высокие значения порогового цикла (Ct) соответствуют минимальному уровню накопления вируса ВД КРС. Всего было выделено 6 изолятов возбудителя ВД КРС, которые в дальнейшем были использованы в работе (табл. 2).

Изоляты Bashkiria/2019, Kirov/2020 и Samara/2020 после 5 последовательных пассажей в культуре клеток ТЯ не проявили ЦПД, однако существенное снижение значений Ct свидетельствовало о положительной динамике активности вируса.

Проанализировав значения Ct для изолятов Belgorod/2021 и Udmurtiya/2020, был сделан вывод, что использование культуры клеток ТЯ для накопления вируса неэффективно, поэтому необходимо проводить поиск более чувствительных клеточных систем.

При выделении изолята Chelyabinsk/2021 на 1-м и 2-м пассажах видимых изменений в монослое клеток не наблюдали. На 3-м пассаже отмечали отслаивание отдельных клеток с измененной морфологией от поверхности монослоя. Также ЦПД характеризовалось появлением округлившись клеток, которые постепенно собирались в отдельные скопления. Низкие значения Ct в ОТ-ПЦР для изолята Chelyabinsk/2021 к 5-му пассажиру указывали на накопление возбудителя в культуре клеток ТЯ [13].

Видовую принадлежность полученных изолятов определяли секвенированием ПЦР-продуктов. Были определены нуклеотидные последовательности фрагментов 5'-UTR и проведен их сравнительный анализ с последовательностями, представленными в международной базе данных GenBank и базе генетических данных ФГБУ «ВНИИЗЖ». Полученное филогенетическое древо показано на рисунке.

Как видно из дендрограммы, выделенные изоляты вируса относятся к различным генотипам возбудителя ВД КРС, гомология между генотипами составляет 70%.

Из 6 исследуемых изолятов к генотипу 2 были отнесены два. При секвенировании генома изолята Chelyabinsk/2021 установили его 98%-ю идентичность с референтным штаммом 890 вируса ВД КРС генотипа 2 (последовательность U18059.1). Впервые данный штамм был выделен в 1990-х гг. при вспышке инфекции на территории США [7]. Изолят Udmurtiya/2020 был на 99% гомологичен референтному штамму 890 возбудителя ВД КРС генотипа 2 (последовательность FJ795044.1), выделенному из пробы эмбриональной сыворотки КРС [14].

Вирус ВД КРС генотипа 1 отличается высокой распространенностью как в России, так и во всем мире. В результате исследования установлено, что изолят Kirov/2020 идентичен референтному штамму Osloss вируса ВД КРС субтипа 1b; изолят Samara/2020 оказался на 98% гомологичным изоляту вируса ВД КРС субтипа 1f. Изолят Bashkiria/2019 продемонстрировал 98%-ю идентичность со штаммом 23-13, отнесенным к субтипу 1i возбудителя ВД КРС (последовательность FJ493484.1) [15].

Проведенный генетический анализ изолята Belgorod/2021 показал его близкое родство с двумя изолятами вируса ВД КРС генотипа 3 (последовательности

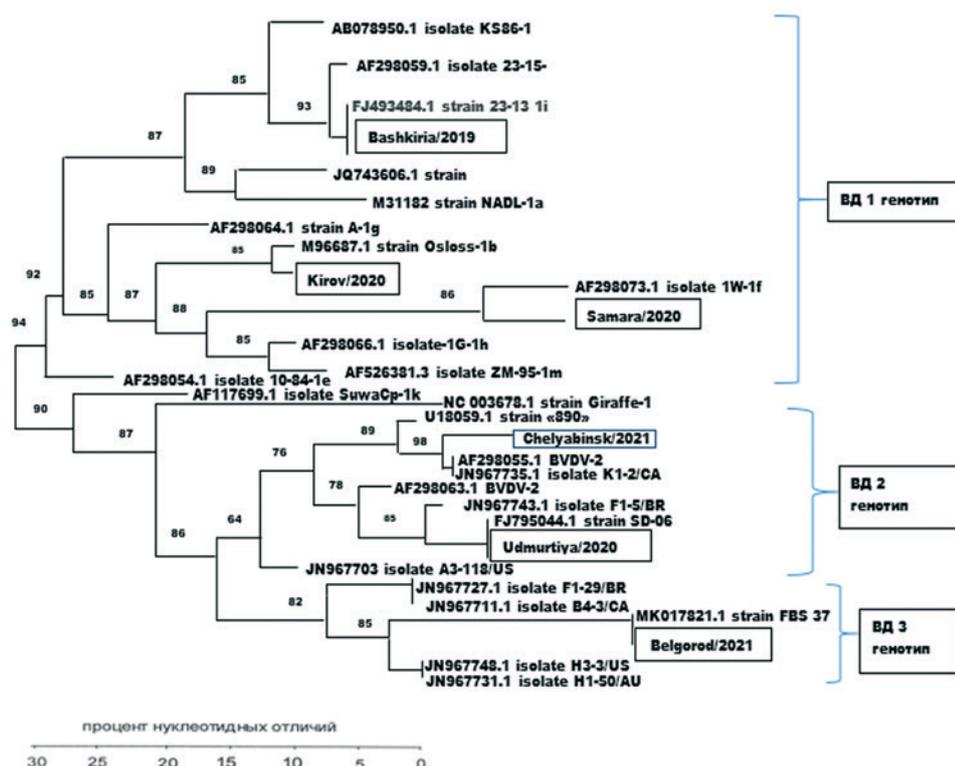


Рис. Дендрограмма, построенная по результатам секвенирования участка 5'-нетранслируемой области (5'-UTR) генома вируса вирусной диареи КРС. Полученные изоляты обведены в прямоугольники

Fig. Dendrogram constructed based on BVDV genome 5'-untranslated (5'-UTR) region fragment sequencing results. The recovered isolates are shown in squares

JN967748.1 и JN967731.1) и штаммом FBS 37 (последовательность МК017821.1), ранее выделенными из проб фекальных сывороток КРС [16].

Таким образом, результаты исследования подтверждают информацию о том, что вирус ВД КРС генотипа 1 является преобладающим на территории России и распространён не только в центральной части страны, но и в Приволжье (субтипы 1b, 1f и 1i).

За последние 15 лет на отдельных территориях РФ зарегистрированы вспышки ВД КРС, спровоцированные вирусом генотипа 2. Нарушения респираторного характера, вызванные возбудителем данного генотипа, выявлены у телят на Урале и в Сибири [1, 4]. Котеневой С. В. и соавт. [17] вирус генотипа 2 был обнаружен в пробах внутренних органов абортированного плода и мертворожденного теленка местной породы (Новосибирская и Тюменская области). В Сибири у животных импортного и отечественного происхождения исследователями выявлены 3 субтипа ВД-2: 2a, 2b и 2c. Из проведенных ранее исследований было установлено, что субтип 2a признан одним из основных этиологических агентов, вызывающих патологии воспроизводства у коров [17, 18, 19, 20]. В данном исследовании возбудитель генотипа 2 зафиксирован в европейской части России (Удмуртская Республика и районы Челябинской области, расположенные на территории Европы). В соответствии с международной классификацией (ICTV) пестивирусов, оба изолята (Udmurtiya/2020 и Chelyabinsk/2021) являются представителями субтипа 2a вируса ВД КРС.

Вирус генотипа 3 ранее был обнаружен в животноводческих хозяйствах на территории России [1, 3, 21, 22]. В данном исследовании сообщается

о выявлении вируса ВД КРС генотипа 3 на территории Центрального федерального округа страны.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При исследовании поступившего в референтную лабораторию болезней КРС из животноводческих хозяйств биоматериала методом ОТ-ПЦР в 6,1% проб выявлен геном вируса ВД КРС. В ходе проделанной работы в клеточной системе выделено и идентифицировано 6 вирусных изолятов. Была установлена их принадлежность к различным биотипам возбудителя ВД КРС: изоляты Bashkiria/2019, Kirov/2020 и Samara/2020 отнесены к нецитопатогенным фенотипам, изолят Chelyabinsk/2021 проявлял характерное цитопатическое действие в монослое культуры ТЯ и был отнесен к цитопатогенному варианту вируса, а изоляты Belgorod/2021 и Udmurtiya/2020 не удалось адаптировать к данной клеточной системе.

Также была проведена генетическая идентификация вируса ВД КРС по консервативному участку 5'-UTR. Проведенный филогенетический анализ показал, что изоляты Chelyabinsk/2021 и Udmurtiya/2020 принадлежат к генотипу 2 и имеют 98%-ю и 99%-ю гомологию соответственно с референтным штаммом 890 вируса ВД КРС субтипа 2a. Полученные изоляты Bashkiria/2019, Samara/2020 и Kirov/2020 были отнесены соответственно к субтипам 1i, 1f и 1b. Изолят Belgorod/2021 является представителем генотипа 3 вируса ВД КРС.

Результаты исследования подтверждают присутствие трех генотипов возбудителя ВД КРС на территории России.

Полученный изолят Chelyabinsk/2021 будет использован для дальнейшего изучения культуральных свойств вируса второго генотипа.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Глотов А. Г., Глотова Т. И., Котенева С. В., Нефедченко А. В., Семенова О. В. Вспышка заболевания крупного рогатого скота, вызванная вирусом диареи второго вида. *Ветеринария*. 2019; 3: 3–8. DOI: 10.30896/0042-4846.2019.22.3.03-08.
2. Walz P. H., Chamorro M. F., Falkenberg M. S., Passler T., van der Meer F., Woolums A. R. Bovine viral diarrhoea virus: An updated American College of Veterinary Internal Medicine consensus statement with focus on virus biology, hosts, immunosuppression, and vaccination. *J. Vet. Intern. Med.* 2020; 34 (5): 1690–1706. DOI: 10.1111/jvim.15816.
3. Глотов А. Г., Глотова Т. И., Нефедченко А. В., Котенева С. В. Генетический полиморфизм и распространение пестивирусов (*Flaviviridae: Pestivirus*) крупного рогатого скота в мире и в Российской Федерации. *Вопросы вирусологии*. 2022; 67 (1): 18–26. DOI: 10.36233/0507-4088-96.
4. Глотов А. Г., Глотова Т. И. Атипичные пестивирусы крупного рогатого скота (обзор). *Сельскохозяйственная биология*. 2015; 50 (4): 399–408. DOI: 10.15389/agrobiology.2015.4.399rus.
5. Бубякин Р. И., Кононова С. В., Бьядовская О. П., Бирюченков Д. А., Кононов А. В. Вирусная диарея крупного рогатого скота: распространение, характеристика, профилактика, диагностика и меры борьбы с заболеванием. *Труды Федерального центра охраны здоровья животных*. 2022; 18: 99–121. DOI: 10.29326/9785907612136_2022_18_99.
6. Гулюкин М. И., Юров К. П., Глотов А. Г., Донченко Н. А. Стратегия борьбы с вирусной диареей – болезнью слизистых крупного рогатого скота в животноводческих хозяйствах Российской Федерации. *Вопросы вирусологии*. 2013; 58 (6): 13–18. EDN: RPBQUP.
7. De Oliveira P. S. B., Silva Junior J. V. J., Weiblen R., Flores E. F. Subtyping bovine viral diarrhoea virus (BVDV): Which viral gene to choose? *Infect. Genet. Evol.* 2021; 92: 104891. DOI: 10.1016/j.meegid.2021.104891.
8. Семенова О. В., Глотова Т. И., Глотов А. Г., Нефедченко А. В. Частота выявления посредством ОТ-ПЦР и выделения в культуре клеток вируса диареи крупного рогатого скота в Сибири. *Российский ветеринарный журнал*. 2017; 1: 24–27. EDN: XXYQWB.
9. Верховская А. Е., Сергеев В. А., Алипер Т. И., Иванов Е. В. Особенности диагностики и профилактики вирусной диареи крупного рогатого скота. *Ветеринария*. 2009; 8: 3–7. EDN: KWZEEJ.
10. Урываев Л. В., Ионова К. С., Дедова А. В., Дедова Л. В., Селиванова Т. К., Парасюк Н. А. и др. Анализ контаминации клеточных культур пестивирусом BVDV и микоплазмами. *Вопросы вирусологии*. 2012; 57 (5): 15–21. EDN: PUIXHV.
11. Xia H., Liu L., Wahlberg N., Baule C., Belák S. Molecular phylogenetic analysis of bovine viral diarrhoea virus: a Bayesian approach. *Virus Res.* 2007; 130 (1–2): 53–62. DOI: 10.1016/j.virusres.2007.05.017.
12. Шульпин М. И., Мищенко В. А., Аянот П. К. Методика выявления и штаммовая дифференциация вируса диареи КРС с помощью амплификации и секвенирования фрагмента 5'-нетранслируемой области генома. Владимир: ФГУ «ВНИИЗЖ»; 2004. 10 с.
13. Бубякин Р. И., Кононова С. В. Получение изолята вируса диареи крупного рогатого скота второго генотипа в чувствительных клеточных культурах. *Prospects and Key Tendencies of Science in Contemporary World: Proceedings of the XXI International Multidisciplinary Conference (Madrid, Spain, 25 July 2022 г.)*. М: ООО «Интернаука»; 2022; 18–24. DOI: 10.32743/SpainConf.2022.7.21.343928.
14. Глотов А. Г., Глотова Т. И., Котенева С. В. О контаминации импортируемой фетальной сыворотки крови крупного рогатого скота пестивирусом как факторе распространения вирусной диареи в условиях глобализации: мини-обзор. *Сельскохозяйственная биология*. 2018; 53 (2): 248–257. DOI: 10.15389/agrobiology.2018.2.248rus.
15. Zhu L., Lu H., Cao Y., Gai X., Guo C., Liu Y., et al. Molecular characterization of a novel bovine viral diarrhoea virus isolate SD-15. *PLoS One*. 2016; 11 (10): e0165044. DOI: 10.1371/journal.pone.0165044.
16. Merten O.-W. Virus contaminations of cell cultures – A biotechnological view. *Cytotechnology*. 2002; 39 (2): 91–116. DOI: 10.1023/A:1022969101804.
17. Котенева С. В., Нефедченко А. В., Глотова Т. И., Глотов А. Г. Генетический полиморфизм возбудителя вирусной диареи (болезни слизистых оболочек) крупного рогатого скота на молочных комплексах Сибири. *Сельскохозяйственная биология*. 2018; 53 (6): 1238–1246. DOI: 10.15389/agrobiology.2018.6.1238rus.
18. Ridpath J. F. Bovine viral diarrhoea virus: global status. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 2010; 26 (1): 105–121. DOI: 10.1016/j.cvfa.2009.10.007.
19. Muñoz-Zanzi C. A., Thurmond M. C., Hietala S. K. Effect of bovine viral diarrhoea virus infection on fertility of dairy heifers. *Theriogenology*. 2004; 61 (6): 1085–1099. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2003.06.003.
20. Черных О. Ю., Мищенко А. В., Мищенко В. А., Шевкоплас В. Н., Джаилиди Г. А., Лысенко А. А. Экологические особенности возбудителя вирусной диареи крупного рогатого скота 1 и 2 генотипов. *Труды Кубанского государственного аграрного университета*. 2016; 61: 149–156. DOI: 10.21515/1999-1703-61-149-154.
21. Акимова О. А., Южаков А. Г., Корицкая М. А., Иванов Е. В., Джавадова Г. А., Глотов А. Г. и др. Выделение и идентификация вируса вирусной диареи крупного рогатого скота 3-го типа в животноводческом хозяйстве Российской Федерации. *Ветеринария*. 2021; 7: 17–22. DOI: 10.30896/0042-4846.2021.24.7.17-22.
22. Глотов А. Г., Нефедченко А. В., Котенева С. В., Глотова Т. И. Инфекция крупного рогатого скота, вызванная пестивирусом Н в молочных хозяйствах. *Ветеринария*. 2021; 8: 17–23. DOI: 10.30896/0042-4846.2021.24.8.17-23.

REFERENCES

1. Glotov A. G., Glotova T. I., Koteneva S. V., Nefedchenko A. V., Semenova O. V. An outbreak of disease caused by BVDV2 in cattle on the big dairy farm. *Veterinariya*. 2019; 3: 3–8. DOI: 10.30896/0042-4846.2019.22.3.03-08. (in Russ.)
2. Walz P. H., Chamorro M. F., Falkenberg M. S., Passler T., van der Meer F., Woolums A. R. Bovine viral diarrhoea virus: An updated American College of Veterinary Internal Medicine consensus statement with focus on virus biology, hosts, immunosuppression, and vaccination. *J. Vet. Intern. Med.* 2020; 34 (5): 1690–1706. DOI: 10.1111/jvim.15816.
3. Glotov A. G., Glotova T. I., Nefedchenko A. V., Koteneva S. V. Genetic diversity and distribution of bovine pestiviruses (*Flaviviridae: Pestivirus*) in the world and in the Russian Federation. *Problems of Virology*. 2022; 67 (1): 18–26. DOI: 10.36233/0507-4088-96. (in Russ.)
4. Glotov A. G., Glotova T. I. Atypical bovine pestiviruses (review). *Agricultural Biology*. 2015; 50 (4): 399–408. DOI: 10.15389/agrobiology.2015.4.399eng.
5. Bubyakin R. I., Kononova S. V., Byadovskaya O. P., Biryuchenkov D. A., Kononov A. V. Bovine viral diarrhoea: spread, features, prevention, diagnosis and control. *Proceedings of the Federal Centre for Animal Health*. 2022; 18: 99–121. DOI: 10.29326/9785907612136_2022_18_99. (in Russ.)
6. Gulyukin M. I., Yurov K. P., Glotov A. G., Donchenko N. A. Bovine viral diarrhoea control in Russian Federation. *Problems of Virology*. 2013; 58 (6): 13–18. EDN: RPBQUP. (in Russ.)
7. De Oliveira P. S. B., Silva Junior J. V. J., Weiblen R., Flores E. F. Subtyping bovine viral diarrhoea virus (BVDV): Which viral gene to choose? *Infect. Genet. Evol.* 2021; 92: 104891. DOI: 10.1016/j.meegid.2021.104891.
8. Semenova O. V., Glotova T. I., Glotov A. G., Nefedchenko A. V. Frequency detection by RT-PCR and BVDV isolation in cell culture in Siberia. *Russian veterinary journal*. 2017; 1: 24–27. EDN: XXYQWB. (in Russ.)
9. Verkhovskaya A. E., Sergeev V. A., Aliper T. I., Ivanov E. V. Osobennosti diagnostiki i profilaktiki virusnoi diarei krupnogo rogatogo skota = Specific features of bovine viral diarrhoea diagnosis and prevention. *Veterinariya*. 2009; 8: 3–7. EDN: KWZEEJ. (in Russ.)
10. Uryvaev L. V., Ionova K. S., Dedova A. V., Dedova L. V., Selivanova T. K., Parasjuk N. A., et al. Analysis of the cell tissue culture contamination with the bovine viral diarrhoea virus and mycoplasmas. *Problems of Virology*. 2012; 57 (5): 15–21. EDN: PUIXHV. (in Russ.)
11. Xia H., Liu L., Wahlberg N., Baule C., Belák S. Molecular phylogenetic analysis of bovine viral diarrhoea virus: a Bayesian approach. *Virus Res.* 2007; 130 (1–2): 53–62. DOI: 10.1016/j.virusres.2007.05.017.
12. Shulpin M. I., Mischenko V. A., Ayanot P. K. Bovine viral diarrhoea virus detection method and strain differentiation by genome 5'-untranslated region fragment amplification and sequencing. Vladimir: FGI "ARRIAH"; 2004. 10 p. (in Russ.)
13. Bubyakin R. V., Kononova S. V. Isolation of bovine viral diarrhoea virus type two in sensitive cell cultures. *Prospects and Key Tendencies of Science in Contemporary World: Proceedings of the XXI International Multidisciplinary Conference (Madrid, Spain, 25 July 2022)*. Madrid: Bubok Publishing S. L.; 2022; 18–24. DOI: 10.32743/SpainConf.2022.7.21.343928. (in Russ.)
14. Glotov A. G., Glotova T. I., Koteneva S. V. Pestiviruses, which contaminate imported fetal bovine serum, may be a cause of the global spreading of viral diarrhoea in cattle – a mini review. *Agricultural Biology*. 2018; 53 (2): 248–257. DOI: 10.15389/agrobiology.2018.2.248eng.
15. Zhu L., Lu H., Cao Y., Gai X., Guo C., Liu Y., et al. Molecular characterization of a novel bovine viral diarrhoea virus isolate SD-15. *PLoS One*. 2016; 11 (10): e0165044. DOI: 10.1371/journal.pone.0165044.
16. Merten O.-W. Virus contaminations of cell cultures – A biotechnological view. *Cytotechnology*. 2002; 39 (2): 91–116. DOI: 10.1023/A:1022969101804.
17. Koteneva S. V., Nefedchenko A. V., Glotova T. I., Glotov A. G. Genetic polymorphism of the bovine viral diarrhoea viruses in big dairy farms in Siberia. *Agricultural Biology*. 2018; 53 (6): 1238–1246. DOI: 10.15389/agrobiology.2018.6.1238eng.
18. Ridpath J. F. Bovine viral diarrhoea virus: global status. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 2010; 26 (1): 105–121. DOI: 10.1016/j.cvfa.2009.10.007.
19. Muñoz-Zanzi C. A., Thurmond M. C., Hietala S. K. Effect of bovine viral diarrhoea virus infection on fertility of dairy heifers. *The-riogenology*. 2004; 61 (6): 1085–1099. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2003.06.003.
20. Chernykh O. Yu., Mishchenko A. V., Mishchenko V. A., Shevko-plas V. N., Dzhailidi G. A., Lysenko A. A. Ecological features of the agent of bovine viral diarrhoea virus infection on fertility of dairy heifers. *The-riogenology*. 2004; 61 (6): 1085–1099. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2003.06.003.
21. Akimova O. A., Yuzhakov A. G., Koritskaya M. A., Ivanov E. V., Dzavadvadova G. A., Glotov A. G. et al. Isolation and identification of the virus of bovine viral diarrhoea of the 3rd type in a livestock farm in the Russian Federation. *Veterinariya*. 2021; 7: 17–22. DOI: 10.30896/0042-4846.2021.24.7.17-22.
22. Glotov A. G., Nefedchenko A. V., Koteneva S. V., Glotova T. I. Infection of large ruminants, caused by pestivirus N in dairy farms. *Veterinariya*. 2021; 8: 17–23. DOI: 10.30896/0042-4846.2021.24.8.17-23.

riogenology. 2004; 61 (6): 1085–1099. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2003.06.003.

20. Chernykh O. Yu., Mishchenko A. V., Mishchenko V. A., Shevkoplyas V. N., Dzhalidiy G. A., Lysenko A. A. Ecological characteristics of bovine viral diarrhoea agent of 1 and 2 genotypes. *Proceedings of the Kuban State Agrarian University*. 2016; 61: 149–156. DOI: 10.21515/1999-1703-61-149-154. (in Russ.)

21. Akimova O. A., Yuzhakov A. G., Koritskaya M. A., Ivanov E. V., Dzhadavoda G. A., Glotov A. G., et al. Isolation and identification of bovine viral

diarrhoea virus type 3 at a farm in Russian Federation. *Veterinariya*. 2021; 7: 17–22. DOI: 10.30896/0042-4846.2021.24.7.17-22. (in Russ.)

22. Glotov A. G., Nefedchenko A. V., Koteneva S. V., Glotova T. I. An infection caused by pestivirus H in dairy farms. *Veterinariya*. 2021; 8: 17–23. DOI: 10.30896/0042-4846.2021.24.8.17-23. (in Russ.)

Поступила в редакцию / Received 10.10.2023

Поступила после рецензирования / Revised 30.10.2023

Принята к публикации / Accepted 23.11.2023

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Бубякин Роман Игоревич, аспирант, ведущий биолог лаборатории биотехнологий и конструирования вирусных препаратов ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-5178-9465>, e-mail: bubyakin@arriah.ru.

Кононова Светлана Владимировна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник референтной лаборатории болезней крупного рогатого скота ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-3932-2416>, e-mail: kononova@arriah.ru.

Шумилова Ирина Николаевна, кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник референтной лаборатории болезней крупного рогатого скота ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0001-6132-5771>, e-mail: shumilova@arriah.ru.

Бядовская Ольга Петровна, кандидат биологических наук, заведующий референтной лаборатории болезней крупного рогатого скота ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-8326-7151>, e-mail: bjadovskaya@arriah.ru.

Кротова Алена Олеговна, аспирант, ведущий биолог референтной лаборатории болезней крупного рогатого скота ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-8311-4681>, e-mail: krotova@arriah.ru.

Кононов Александр Владимирович, доктор ветеринарных наук, заведующий лабораторией биотехнологий и конструирования вирусных препаратов ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-5523-3261>, e-mail: kononov@arriah.ru.

Roman I. Bubyakin, Postgraduate Student, Leading Biologist, Laboratory for Biotechnologies and Viral Product Construction, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-5178-9465>, e-mail: bubyakin@arriah.ru.

Svetlana V. Kononova, Candidate of Science (Biology), Leading Researcher, Reference Laboratory for Bovine Diseases, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-3932-2416>, e-mail: kononova@arriah.ru.

Irina N. Shumilova, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Senior Researcher, Reference Laboratory for Bovine Diseases, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-6132-5771>, e-mail: shumilova@arriah.ru.

Olga P. Byadovskaya, Candidate of Science (Biology), Head of Reference Laboratory for Bovine Diseases, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-8326-7151>, e-mail: bjadovskaya@arriah.ru.

Alena O. Krotova, Postgraduate Student, Leading Biologist, Reference Laboratory for Bovine Diseases, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-8311-4681>, e-mail: krotova@arriah.ru.

Aleksandr V. Kononov, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Head of Laboratory for Biotechnologies and Viral Product Construction, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-5523-3261>, e-mail: kononov@arriah.ru.