



<https://doi.org/10.29326/2304-196X-2026-15-1-87-94>
УДК 619:578.831.11:578.832.1:598.2:616-079.4



Тест-система для дифференциации вирусов гриппа птиц и ньюкаслской болезни в органах больных и павших кур

Е. Ю. Шустова¹, А. С. Гамбарян¹, Е. Ю. Боравлева¹, А. А. Трещалина¹, А. А. Сейтаблаев¹, С. И. Березовский²

¹ ФГАНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М. П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита) [ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М. П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита)], пос. Института полиомиелита, домовладение 8, корп. 1, г. Москва, 108819, Россия

² ООО «ВЕТ ФАКТОР», ул. Промышленная, 2, г. Троицк, 108840, г. Москва, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. Грипп птиц и ньюкаслская болезнь представляют собой серьезную угрозу для здоровья птиц. Оба заболевания характеризуются высокой контагиозностью и в условиях быстрого распространения могут привести к серьезным убыткам. Признаки болезней часто схожи, что затрудняет быструю диагностику и принятие экстренных мер по изоляции больных особей. Оперативное распознавание заболеваний является критически важным для своевременного реагирования.

Цель исследования. Целью работы является разработка простой тест-системы для детекции вируса гриппа птиц и парамиксовирусов в органах больных и павших птиц при возникновении вспышек заболеваний в птицеводческих хозяйствах.

Материалы и методы. Для дифференциации вирусов гриппа птиц и парамиксовирусов в патологическом материале, полученном от больной и павшей птицы, применяли 96-луночные планшеты, покрытые раствором фетуина и анти-ВНБ IgY в соответствующих лунках. Полученные данные сопоставляли с результатами, полученными методами полимеразной цепной реакции и титрования на куриных эмбрионах.

Результаты. Разработанный метод выявления возбудителей основан на разных принципах связывания вирусов. Вирус гриппа связывается с рецепторным аналогом, а парамиксовирусы – с антителами к вирусу ньюкаслской болезни. Ранее на примере сотен штаммов было показано, что вирус гриппа А разных субтипов связывается с сialogликозильными остатками сывороточного белка эмбриона коровы – фетуина. В то же время ни один из исследованных при проведении работы изолятов парамиксовирусов не связывался с данным сialogликопротеином. Для связывания парамиксовирусов использовали иммуноглобулины, выделенные из яичного желтка кур, иммунизированных против ньюкаслской болезни. Связывание проводили на 96-луночных планшетах в системе, аналогичной иммуноферментному анализу.

Заключение. Разработанный способ выявления вирусов в гомогенатах тканей органов инфицированных кур позволяет за несколько часов идентифицировать и дифференцировать вирусы гриппа птиц и ньюкаслской болезни, что является важным шагом в предотвращении распространения и ликвидации очагов опасных болезней.

Ключевые слова: вирус ньюкаслской болезни, вирус гриппа птиц, дифференциальная диагностика

Благодарности: Исследование профинансировано ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М. П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита). Постановку полимеразной цепной реакции осуществляли в ООО «ВЕТ ФАКТОР».

Для цитирования: Шустова Е. Ю., Гамбарян А. С., Боравлева Е. Ю., Трещалина А. А., Сейтаблаев А. А., Березовский С. И. Тест-система для дифференциации вирусов гриппа птиц и ньюкаслской болезни в органах больных и павших кур. *Ветеринария сегодня*. 2026; 15 (1): 87–94. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2026-15-1-87-94>

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Шустова Елена Юрьевна, канд. биол. наук, научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии вирусов ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М. П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита), поселение Московский, пос. Института полиомиелита, домовладение 8, корп. 1, г. Москва, 108819, Россия, shustova_eu@chumakovs.ru

Differentiation of avian influenza and Newcastle disease viruses in organ samples from sick and dead chickens using a rapid test kit

Elena Yu. Shustova¹, Aleksandra S. Gambaryan¹, Elizaveta Yu. Boravleva¹, Anastasiya A. Treshchalina¹, Artem A. Seitablaev¹, Stanislav I. Berezovsky²

¹ Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-Biological Products of Russian Academy of Sciences (Institute of Poliomyelitis), poselok Institute of Poliomyelitis, 8/1, Moscow 108819, Russia

² VET FAKTOR LLC, ul. Promyshlennaya, 2, Troitsk 108840, Moscow, Russia

ABSTRACT

Introduction. Avian influenza virus (AIV) and Newcastle disease virus (NDV) pose serious threats to poultry health. Both pathogens are highly contagious and, due to their rapid spread, can lead to significant economic losses. Overlapping clinical signs complicate field differentiation of these diseases and delay response measures to isolate affected poultry. Rapid disease detection is critical for ensuring a timely response.

Objective. To develop a user-friendly test kit for detection of AIV and paramyxoviruses in organ samples from sick and dead chickens during disease outbreaks in commercial poultry operations.

Materials and methods. To differentiate AIV and paramyxoviruses in pathological samples collected from sick and dead birds, 96-well plates coated with fetuin and anti-NDV IgY in designated wells were used. The results obtained were compared with those from polymerase chain reaction (PCR) and virus titration in chicken embryos.

Results. The developed method for pathogen detection is based on distinct virus-binding principles: influenza virus binds to a receptor analog, while paramyxoviruses bind to NDV specific antibodies. Previous studies using hundreds of strains have demonstrated that influenza A virus of various subtypes binds to the sialoglycosyl

© Шустова Е. Ю., Гамбарян А. С., Боравлева Е. Ю., Трещалина А. А., Сейтаблаев А. А., Березовский С. И., 2026

residues of bovine fetal serum protein – fetuin. In contrast, none of the paramyxovirus isolates tested bound to this sialoglycoprotein. For paramyxovirus capture, immunoglobulins isolated from the egg yolks of chickens immunized against NDV were utilized. Binding was performed in 96-well plates using a test-kit analogous to enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

Conclusion. The developed method enables the identification and differentiation of AIV and NDV in organ tissue homogenates from infected chickens within a few hours, representing a significant step toward preventing the spread and facilitating the eradication of dangerous disease outbreaks.

Keywords: Newcastle disease virus (NDV), avian influenza virus (AIV), differential diagnosis

Acknowledgements: Study funded by Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-Biological Products of Russian Academy of Sciences (Institute of Poliomyelitis). The polymerase chain reaction was performed with assistance of VET FACTOR LLC.

For citation: Shustova E. Yu., Gambaryan A. S., Boravleva E. Yu., Treshchalina A. A., Seitablaev A. A., Berezovsky S. I. Differentiation of avian influenza and Newcastle disease viruses in organ samples from sick and dead chickens using a rapid test kit. *Veterinary Science Today*. 2026; 15 (1): 87–94. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2026-15-1-87-94>

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

For correspondence: Elena Yu. Shustova, Cand. Sci. (Biology), Researcher, Laboratory for Molecular Biology of Viruses, Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-Biological Products of RAS (Institute of Poliomyelitis), poselenie Moskovskii, poselok Institute of Poliomyelitis, 8/1, Moscow 108819, Russia, shustova_eu@chumakovs.ru

ВВЕДЕНИЕ

Ньюкаслская болезнь (НБ) является одной из самых распространенных инфекционных болезней птиц и встречается на всех континентах, за исключением Антарктиды. Вирус ньюкаслской болезни (ВНБ) оболочечный, с несегментированной однонитчатой (–)РНК относится к семейству *Paramyxoviridae* [1]. По патогенности для цыплят штаммы ВНБ подразделяются на апатогенные, лентогенные, мезогенные и велоогенные. Велоогенный вирус вызывает нейротропную или висцеротропную инфекцию в зависимости от локализации. У инфицированной птицы повышается температура, пропадает аппетит, птица выглядит вялой, малоактивной, много спит, возникает поражение дыхательной системы с признаками удушья. В случае висцеротропной инфекции главным образом поражается желудочно-кишечный тракт. Наблюдается некроз тканей селезенки и печени, появление кровотокающих язв в кишечнике. Помет жидкий, зеленого цвета. Из клюва выделяется тягучая серая слизь, птица чихает и совершает глотательные движения. Могут возникать массовые конъюнктивиты. Перед смертью при нейротропной инфекции часто наблюдаются тремор мышц, искривление шеи, опистотонус. Наиболее характерной клинической картиной при заражении ВНБ, в отличие от инфицирования другими высокопатогенными вирусами птиц, является обширное поражение лимфоидной ткани. Смертность может достигать 100% [2, 3]. ВНБ относится к виду *Orthoavulavirus javaense* (OAVJ, ранее известный как AOAV-1) рода *Orthoavulavirus* и филогенетически делится более чем на два десятка генотипов. С момента открытия вируса в 30-х гг. XX в. зафиксировано 4 панзоотии, последняя из которых, вызванная генотипами V, VI, VII, VIII, продолжается в настоящее время. В последние годы в Африке и Евразии наблюдались многочисленные вспышки НБ, вызываемые вирусом VII генотипа (субгенотип VII.1.1) [4]. В России зарегистрированы десятки вспышек, при этом, по всей вероятности, большое их количество осталось незарегистрировано [5]. Вирусы заносятся на птичьи дворы дикими птицами, которые в сельской местности свободно кормятся вместе с курами [6]. Методами борьбы с НБ являются вакцинация и карантинные меры.

Высокопатогенный грипп птиц не только наносит громадный экономический ущерб птицеводству, но и представляет угрозу здоровью животных и человека [7]. В Америке вирус гриппа птиц (ВГП) субтипа Н5 вызывал многократные вспышки среди млекопитающих (лис, тюленей, енотов и других). Более того, ВГП стал поражать дойных коров с выделе-

нием большого количества инфекционного агента в молоко. Риск межвидовой передачи возбудителя и его адаптации к человеку при этом возрос многократно [8].

Подтипы Н5 и Н7 ВГП являются причиной многочисленных вспышек заболеваний среди диких и домашних птиц и гибели не менее 422 млн домашних птиц с 2005 г. Они вызвали 2634 случая заболевания людей по всему миру, включая более 1000 случаев смерти [9]. ВГП распространяется перелетными дикими птицами, он стал причиной трех волн вспышек гриппа на нескольких континентах. Третья волна, начавшаяся в 2020 г., продолжается.

Своевременная регистрация вспышек НБ и гриппа птиц – необходимое условие предотвращения распространения вирусов. В последние годы разработано много методов экспресс-диагностики этих болезней. Для обнаружения ВГП и ВНБ была разработана методика иммунохроматографического анализа (ИХА) с использованием меченных золотом антител. Данный метод обладает высокой чувствительностью, а результат реакции учитывается визуально [10, 11]. Разработан тест с коллоидной золотой полоской (CGS) для обнаружения ВГП/Н5, который может применяться в полевых условиях [12]. Также были разработаны ИХА-методики для детекции ВГП субтипа Н9 [13]; для быстрого обнаружения возбудителя подтипа Н7 с использованием моноклональных антител против вируса гриппа А/Н7N9 [14, 15] и для выявления представителей подтипа Н6 [16]. Все методы, основанные на использовании стрипов, удобны при контроле за конкретной вспышкой – недорогие, быстрые и чувствительные. Однако, поскольку в их основе лежит использование моноклональных антител, они нацелены на конкретный патоген, и при внезапной вспышке заболевания неизвестной природы, скорее всего, окажутся непригодными.

Ранее мы описали метод детекции и дифференциации вируса гриппа птиц и парамиксовирусов птиц на 96-луночных панелях [17]. Детекция вирусов проводилась в аллантоисной жидкости после культивирования их в куриных эмбрионах. Однако для экспресс-диагностики в небольших птицеводческих хозяйствах востребованы методы, не требующие предварительного наращивания вируса.

Цель работы – разработка методики выявления на одном планшете разных субтипов вируса гриппа птиц и парамиксовируса в органах больных и павших птиц.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Реагенты и растворы. В работе использовались: МусоKill АВ (PAA Laboratories GmbH, Австрия); пероксидаза

хрена (#P8375, Sigma-Aldrich, США); антитела против иммуноглобулинов мыши и курицы, конъюгированные с пероксидазой хрена (Sigma, США); фетуин (#F3004, Sigma-Aldrich, США).

Растворы:

- фосфатно-солевой буфер – 0,02 М, pH 7,2 (PBS);
- PBS с добавлением 0,1 мг/мл канамицина, 0,4 мг/мл гентамицина, 0,01 мг/мл нистатина и 2%-го раствора МусоKill АВ;
- промывочный раствор – 0,01%-й твин-80 в PBS;
- блокирующий раствор – 0,1%-й раствор бычьего сывроточного альбумина (БСА; 1 мг/мл) в PBS;
- реакционный буфер – 0,02%-й твин-80 и 0,1%-й БСА в PBS;
- субстратный раствор – 1 мг 3,3',5,5'-тетраметилбензидина (ТМБ) и 10 мкл 30%-й перекиси водорода в 10 мл 0,05 М буфера ацетата натрия, pH 5,5;
- стоп-раствор – 3%-й водный раствор серной кислоты;
- растворы для синтеза препаратов, меченных пероксидазой хрена (HRP);
- свежеприготовленный 0,2 М раствор NaIO_4 в воде;
- 1 М и 0,1 М буферы карбоната натрия, pH 9,3;
- свежеприготовленный раствор NaNH_4 в воде (5 мг/мл);
- 1 М Трис-буфер, pH 6,0;
- 0,1 М Трис-буфер, pH 7,2.

Животные. Куриные эмбрионы (КЭ) поступили с птицефабрики «Птичное» (г. Москва), куры – с птицефабрики «Томилинская» (Московская область). Работа с живыми вирусами проводилась в помещении биологической безопасности 3-го уровня. Все испытания осуществлялись в соответствии со стандартом, регулирующим содержание и уход за лабораторными животными ГОСТ 33215-2014¹.

Вирусы. Апатогенные штаммы ВГП и парамиксовирусы выделяли из фекалий уток в ходе многолетнего мониторинга гриппа птиц в популяции кряквы. Свежие фекалии, собранные на берегах прудов г. Москвы [18], суспендировали в двойном объеме PBS с добавлением антибиотиков: 0,4 мг/мл гентамицина, 0,1 мг/мл канамицина, 0,01 мг/мл нистатина и 2%-го раствора МусоKill АВ. После центрифугирования в течение 10 мин при 4000 об/мин супернатантом заражали 10-суточные КЭ. Через 48 ч собирали вирусосодержащую аллантоисную жидкость (ВАЖ) и отбирали пробы, положительные в реакции гемагглютинации (РГА), которые проходили трехкратное пассирование.

Высокопатогенный штамм ВНБ NDV/Chicken/Moscow/6081/2022 (ch6081) был выделен из почек погибших кур [18]. Для этого ткань растирали с мелкодисперсным стеклом, добавляли PBS с 0,1 мг/мл канамицина, 0,4 мг/мл гентамицина, 0,01 мг/мл нистатина и 2%-м раствором МусоKill АВ, центрифугировали и заражали КЭ. Дважды в сутки контролировали гибель эмбрионов. У погибших КЭ отбирали ВАЖ. Полученный вирус клонировали и секвенировали [19].

Высоковирулентные штаммы ВГП A/chicken Kurgan/3/2005 (H5N1) и A/FPV/Rostock/34 (H7N1) были любезно предоставлены доктором биологических наук С. С. Ямниковой (Институт вирусологии им. Д. И. Ивановского, г. Москва).

Получение яиц, содержащих иммуноглобулины к ВНБ. Несушек заражали непатогенным штаммом NDV/Duck/Moscow/3639/2008 (d3639), добавляя в поилку 10^8 ЭИД₅₀ вируса на курицу. Через 2 нед. кур инфицировали высокопатогенным штаммом NDV/chicken/Moscow/6081/2022 (ch6081). Через 2 нед. собирали яйца иммунизированных кур [20].

Приготовление иммуноглобулинов яичного желтка (IgY). Желтки 4 яиц отделяли от белков, тщательно удаляли халазы, дважды промывали в холодной дистиллированной воде и переносили в пластиковый контейнер с 40 мл PBS с pH 7,4. Тщательно перемешивали, добавляли H_2O до объема 250 мл, доводили pH до 4,2 с помощью 1 М раствора соляной кис-

лоты и замораживали при -30°C . Через 20 ч суспензию размораживали и центрифугировали в течение 30 мин при 10 000 г. Добавляли 1 г порошка активированного угля в супернатант, перемешивали в течение 30 мин и фильтровали через бумажный фильтр [20]. Добавляли в фильтрат сульфат аммония до 25% и выдерживали в течение 2 ч при $+4^\circ\text{C}$. Центрифугировали 30 мин при 10 000 г, растворяли осадки в 10 мл PBS, аликвотировали и хранили при -20°C .

Получение антител к ВГП и ВНБ на мышах. Мышей инфицировали интраназально 50 мкл ВАЖ, содержащей 10^7 ЭИД₅₀ ВГП или ВНБ, дважды с интервалом в 2 нед. Через 2 нед. осуществляли тотальный забор крови у мышей и получали сыворотку.

Выявление вируса гриппа в ВАЖ. 96-луночные планшеты покрывали раствором фетуина 5 мкг/мл, промывали водой и блокировали. В лунки добавляли двукратные разведения ВАЖ начиная с разведения 1:1 и инкубировали 2 ч при $+4^\circ\text{C}$. После промывки добавляли раствор фетуина, меченного HRP (Fet-HRP), в реакционном буфере и инкубировали планшеты 1 ч при $+4^\circ\text{C}$. Отмывали и проводили цветную реакцию с ТМБ. Результаты учитывали с использованием спектрофотометра Multiskan FC (Thermo Fisher Scientific, США) при длине волны 450 нм.

Выявление вирусов на плашках, сенсibilизированных для дифференциальной диагностики. Для выявления ВГП и ВНБ 96-луночную плашку сенсibilизировали следующим образом. Ряды 1 и 12 не сенсibilизировали – они служили отрицательным контролем. Ряды 2–4 сенсibilизировали фетуином, а ряды 5 и 6 – анти-ВНБ IgY, который для ВГП служил вторым отрицательным контролем. Ряды 9–11 сенсibilизировали анти-ВНБ IgY, а ряды 7 и 8 – фетуином, который служил вторым отрицательным контролем для ВНБ. Панель, сенсibilизированную, как описано выше, блокировали раствором БСА. Затем в каждый ряд плашки вносили по 100 мкл вирусосодержащего раствора в одинаковой концентрации (один и тот же раствор в 12 лунках). Таким образом, на панели можно было анализировать 8 разных образцов. После инкубации в течение 2 ч при $+4^\circ\text{C}$ планшет промывали и добавляли в ряды 1–6 конъюгат Fet-HRP, а в ряды 7–12 – анти-ВНБ IgY-HRP в реакционном буфере и инкубировали в течение 1 ч при $+4^\circ\text{C}$. Отмывали и проводили цветную реакцию с ТМБ. Результаты учитывали на спектрофотометре Multiskan FC (Thermo Fisher Scientific, США) при длине волны 450 нм. В рядах 1–6 выявляли ВГП, а в рядах 7–12 – ВНБ.

Выявление вирусов в тканях кур. В эксперименте использовали 45 гол. кур породы леггорн, стандартизированных по возрасту и массе. Животные были разделены на равные группы: по 10 гол. в экспериментальных и по 5 гол. – в контрольных. Две группы были инфицированы ВГП (штаммы A/chicken/Kurgan/3/2005 H5N1 и A/FPV/Rostock/34 H7N1 соответственно), а одна группа – ВНБ (штамм NDV/Chicken/Moscow/6081/2022). Каждой экспериментальной группе соответствовала контрольная группа. Птицы содержались в отдельных клетках в разных помещениях в зависимости от группы. Всего использовали по 10 кур на точку. Для анализа патогенности вируса сначала птиц лишали воды на ночь. На следующий день в поилки добавляли 10 мл воды, содержащей 10^8 ЭИД₅₀ тестируемых вирусов, и ставили в клетку с птицами. Контрольная группа получала обычную воду.

У погибших или подвергнутых эвтаназии кур извлекали органы (почки, легкие, кишечник), гомогенизировали в двойном объеме PBS и центрифугировали 10 мин при 5000 об/мин. Супернатант использовали для дальнейшего анализа. Органы птиц контрольных групп обрабатывали идентично. Аликвоты супернатантов сохраняли для типирования вируса методом полимеразной цепной

¹ <https://docs.cntd.ru/document/1200127789>

Покрытие	Фетуин											
Выявление	Fet-HRP											
Разведение	H3N6	H3N6	H3N6	H3N8	H4N6	H4N6	ВНБ	ВНБ	АРМВ-4	АРМВ-4	АРМВ-4	АРМВ-4
ВАЖ	5163	519	5172	5908	4781	4771	3639	3604	4096	3575	5268	4696
1:1	0,99	0,95	0,98	1,14	0,95	0,93	0,09	0,09	0,10	0,11	0,20	0,15
1:2	0,97	0,97	0,91	1,12	0,92	0,91	0,09	0,09	0,09	0,09	0,15	0,12
1:4	0,90	0,93	0,93	1,02	0,88	0,75	0,08	0,09	0,09	0,10	0,12	0,10
1:8	0,86	0,83	0,87	1,02	0,80	0,68	0,07	0,09	0,08	0,08	0,10	0,09
1:16	0,68	0,71	0,77	0,93	0,67	0,51	0,08	0,08	0,09	0,08	0,08	0,09
1:32	0,51	0,59	0,62	0,82	0,50	0,35	0,09	0,09	0,08	0,08	0,08	0,08
1:64	0,38	0,45	0,49	0,71	0,34	0,27	0,07	0,08	0,09	0,08	0,08	0,08
1:128	0,24	0,30	0,38	0,50	0,22	0,15	0,09	0,09	0,09	0,08	0,08	0,08

Рис. 1. Репрезентативный результат связывания положительных в реакции гемагглютинации образцов ВАЖ с меченым фетуином. Указана оптическая плотность при 450 нм

Fig. 1. Representative results showing the binding of HA-positive allantoic fluid samples to conjugated fetuin. Optical density was measured at 450 nm

Покрытие	Фетуин											
Выявление	Сыворотки мышей											
Разведение сывороток	анти-Н1N1	анти-Н3N2	анти-Н3N8	анти-Н4N6	анти-Н5N2	анти-Н5N3	анти-Н6N2	анти-Н7N1	анти-Н11N6	анти-Н11N9	анти-Н14N6	Нормальная сыворотка
Контроль 1:2	0,34	0,35	0,35	0,43	0,38	0,41	0,23	0,17	0,24	0,44	0,22	0,24
1:2	0,70	1,48	1,64	0,72	0,76	0,98	1,06	0,6	0,55	0,73	0,62	0,44
1:4	0,55	1,51	1,57	0,63	0,77	0,94	1,18	0,55	0,49	0,62	0,53	0,36
1:8	0,46	1,42	1,51	0,55	0,59	0,82	0,97	0,51	0,37	0,59	0,48	0,27
1:16	0,38	1,31	1,44	0,59	0,42	0,69	0,84	0,46	0,41	0,55	0,31	0,22
1:32	0,36	1,26	1,47	0,35	0,37	0,61	0,59	0,34	0,38	0,48	0,34	0,20
1:64	0,29	1,18	1,42	0,25	0,42	0,41	0,35	0,36	0,29	0,43	0,22	0,15
1:128	0,28	1,08	1,37	0,27	0,36	0,34	0,25	0,32	0,22	0,37	0,19	0,11

Рис. 2. Репрезентативный результат связывания ВАЖ, содержащей вирус A/duck/Moscow/5908/2021, с сывороткой крови мышей, иммунизированных вирусом группа разных субтипов. Указана оптическая плотность при 450 нм

Fig. 2. Representative results showing the binding of A/duck/Moscow/5908/2021-containing allantoic fluid to sera from mice immunized with different influenza virus subtypes. Optical density was measured at 450 nm

реакции (ПЦР) и титрования в КЭ, а остальной материал вносили в 12 лунок панели, подготовленной, как описано выше.

Выявление ВНБ с помощью анти-ВНБ IgY и их конъюгата с HRP. 96-луночный планшет покрывали раствором очищенного анти-ВНБ IgY 5 мкг/мл, промывали водой и блокировали в течение 1 ч раствором БСА. Затем в лунки добавляли испытуемые супернатанты гомогенизированных образцов в объеме 100 мкл и инкубировали 2 ч при +4 °С. Планшет промывали, добавляли конъюгат анти-ВНБ IgY-HRP в реакционном буфере и инкубировали 1 ч при +4 °С. После отмывки проводили цветную реакцию с ТМБ. Результаты учитывали на спектрофотометре Multiskan FC (Thermo Fisher Scientific, США) при длине волны 450 нм.

Синтез препаратов, меченных пероксидазой хрена. Синтез Fet-HRP детально описан M. N. Matrosovich and A. S. Gambaryan [21]. Конъюгация HRP с анти-ВНБ IgY проводилась в соответствии с предложенной методикой. Свежеприготовленный 0,2 М раствор NaIO₄ в воде добавляли к HRP в бидистиллированной воде и инкубировали в течение 20 мин в темноте при комнатной температуре. Реакционную смесь обессоливали на колонке с сефадексом G25, добавляли растворы фетуина или иммунного IgY

в карбонатном буфере с pH 9,3 и инкубировали в течение 4 ч в темноте. Добавляли свежеприготовленный 5 мг/мл раствор NaBH₄ в воде и инкубировали в течение 30 мин на льду. Доводили pH до нейтрального с помощью 1 М Трис-буфера с pH 6,0 на льду. Проводили хроматографию на Sepharyl S-200, собирали фракции, содержащие HRP, смешивали и хранили аликвоты при -20 °С.

Выявление вирусов методом ПЦР. Наличие РНК ВГП и ВНБ в образцах определяли методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) с флуоресцентной детекцией в режиме реального времени в присутствии внутреннего контроля. Экстракцию РНК из биологического материала проводили с помощью коммерческого набора реагентов для выделения нуклеиновых кислот на магнитных частицах на основе сорбционного метода «ДНК/РНК-М-FLEX-ФАКТОР» (ООО «ВЕТ ФАКТОР», Россия). В работе для выявления наличия РНК ВГП и ВНБ использовали коммерческие наборы «ПЦР-ГРИПП-А-ФАКТОР» и «ПЦР-НЬЮКАСЛА-ФАКТОР» (ООО «ВЕТ ФАКТОР», Россия) соответственно. Матрицей для проведения ОТ-ПЦР служили пробы РНК, экстрагированные из исследуемого материала (образцы помета, фрагменты органов и тканей).

Покрытие	анти-ВНБ IgY												
	анти-ВНБ IgY-HRP												
Выявление	Разведение ВАЖ	H3N1 3554	H6N2 4031	H11N9 6454	ВНБ 6081	ВНБ 3639	ВНБ 3604	ВНБ LaSota	APMV-4 5268	APMV-4 4572	APMV-4 4096	APMV-4 3579	Контроль без вируса
	1:1	0,22	0,21	0,19	1,22	1,35	1,11	1,03	0,19	0,16	0,16	0,15	0,14
	1:2	0,19	0,16	0,16	1,11	1,23	1,06	0,89	0,15	0,15	0,15	0,15	0,14
	1:4	0,17	0,15	0,15	1,02	1,10	0,97	0,83	0,15	0,15	0,16	0,14	0,15
	1:8	0,17	0,15	0,15	0,56	1,00	0,82	0,70	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
	1:16	0,18	0,15	0,16	0,36	0,74	0,61	0,53	0,15	0,15	0,15	0,14	0,15
	1:32	0,17	0,15	0,15	0,28	0,53	0,44	0,44	0,14	0,15	0,15	0,16	0,15
	1:64	0,16	0,15	0,14	0,22	0,38	0,31	0,37	0,13	0,14	0,15	0,15	0,14
	1:128	0,17	0,16	0,16	0,18	0,27	0,19	0,30	0,12	0,13	0,13	0,14	0,15

Рис. 3. Выявление ВНБ на планшете, сенсibilизированном анти-ВНБ IgY и обработанном анти-ВНБ IgY-HRP. Указана оптическая плотность при 450 нм

Fig. 3. Detection of NDV on a plate coated with anti-NDV IgY, and treated with anti-NDV IgY-HRP. Optical density was measured at 450 nm

Этический статус. Исследования с участием животных проводили в соответствии с Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (г. Страсбург, 18.03.1986). Дизайн исследования одобрен этическим комитетом ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М. П. Чумакова РАН» (разрешение № 4 от 02.12.2014). Принимались все меры для облегчения страданий животных.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В ходе мониторинга от перелетных птиц нами были изолированы десятки штаммов ВГП и парамиксовирусов [22]. Кроме того, при изучении вспышки заболеваний от кур в Московской области был выделен ВНБ [18]. Окончательная идентификация вирусов проводилась на основе полного или частичного секвенирования генома, но на первом этапе ВГП дифференцировали от ВНБ и APMV-4 (парамиксовирус птиц серотипа 4) с помощью твердофазного анализа (ТФА), технически аналогичного иммуноферментному анализу (ИФА). Представленные материалы описывают протоколы выявления и идентификации вирусов этим способом.

Дифференциация ВГП от парамиксовирусов. Выявление ВГП было основано на связывании вируса с сиалогликозильными остатками сывороточного белка эмбриона коровы (фетуином) [21]. ВАЖ инкубировали в лунках планшетов, сенсibilизированных фетуином. После сорбции и отмывки планшет инкубировали с раствором Fet-HRP и визуализировали с помощью цветной реакции. Окончательную идентификацию проводили путем частичного или полного секвенирования вируса. Все образцы ВГП были положительными в этом тесте, в то время как все парамиксовирусы были отрицательными (рис. 1).

Все вирусы были выделены из фекалий уток в Москве. Для ВГП указан субтип, для парамиксовирусов – класс. Во второй строке приводятся штаммы, которые обозначены лабораторным номером. В восьми лунках каждого ряда – двукратные разведения ВАЖ.

Субтипирование вируса гриппа в комбинированном тесте с фетуином и сыворотками крови мышей против ВГП разных подтипов. Сочетание связывания вируса с универсальным рецептором фетуина и детекции с использованием специфических антител упрощает определение подтипов тестируемых образцов ВГП. Пример подтипирования вируса штамма A/duck/Moscow/5908/2021 представлен на рисунке 2. Подтип вируса гриппа (H3N8) впоследствии был подтвержден секвенированием.

В лунки рядов планшетов В–Н, сенсibilизированных фетуином, внесли аллантоисную жидкость, содержащую

вирус A/duck/Moscow/5908/2021. Ряд А выступает в качестве контроля и не содержит вирус. Затем в каждый столбец добавляли двукратные разведения иммунных сывороток крови мышей. В последнем столбце титровали нормальную сыворотку крови мыши. На следующем этапе инкубировали планшеты с антителами к иммуноглобулинам мыши, конъюгированными с HRP. После промывки проводили цветную реакцию, которая визуализирует связывание антител.

Детекция парамиксовирусов с помощью твердофазного анализа. После двукратной иммунизации кур апатогенным штаммом ВНБ первого генотипа NDV/duck/Moscow/3639/2008 (d3639) и последующим заражением вельогенным штаммом NDV/chicken/Moscow/6081/2022 (ch6081) субгенотипа VII.1.1 собирали их яйца и получали IgY против ВНБ. IgY были сконцентрированы и очищены путем осаждения 25%-м сульфатом аммония и использованы для покрытия 96-луночных планшетов. Получили анти-ВНБ IgY, конъюгированные с HRP. В тесте с этими антителами все ВАЖ с ВНБ были положительными, в то время как все ВАЖ с ВГП и с APMV-4 были отрицательными (рис. 3).

Для вирусов гриппа указан субтип, для парамиксовирусов – класс. Во второй строке приводятся штаммы, которые обозначены номером. В восьми лунках каждого ряда – двукратные разведения ВАЖ.

Детекция вирусов в тканях органов больных кур. В трех вышеприведенных тестах регистрировали наличие ВГП или ВНБ в аллантоисной жидкости после их наработки в КЭ. Однако культивировать и проводить выделение вирусов в мелких птицеводческих хозяйствах невозможно, особенно в частных подворьях. Поэтому была изучена возможность выявления вирусов в экстрактах, полученных из тканей органов инфицированных кур. Экстракты вносили в 12 лунок 96-луночной панели, подготовленной, как описано в разделе «Выявление вирусов на плашках, сенсibilизированных для дифференциальной диагностики» раздела «Материалы и методы».

На рисунке 4 представлены результаты проведенного исследования.

Образцы, содержащие ВГП (ВАЖ A/chicken/Kurgan/3/2005 и экстракты почек цыплят, инфицированных A/chicken/Kurgan/3/2005 и A/FPV/Rostock/34), дают положительный сигнал в лунках, сенсibilизированных фетуином и выявленных Fet-HRP. Все прочие варианты сенсibilизации или выявления не дают достоверного сигнала с ВГП. Образцы, содержащие ВНБ (ВАЖ NDV/Duck/Moscow/3639/2008, фекалии цыплят, инфицированных NDV/Chicken/Moscow/6081/2022, и экстракты почек цыплят, инфицированных NDV/Chicken/Moscow/6081/2022), дают положительный сигнал

Покрытие	---	Фетуин			анти-ВНБ IgY		Фетуин		анти-ВНБ IgY			---
Выявление	Fet-HRP						анти-ВНБ IgY-HRP					
ВАЖ ВГП H5N1	0,19	1,11	1,26	1,21	0,37	0,29	0,15	0,15	0,14	0,15	0,15	0,12
ВАЖ ВНБ 3639	0,12	0,12	0,17	0,20	0,22	0,20	0,45	0,44	1,30	1,38	1,35	0,13
Фекалии ВНБ 6081	0,15	0,22	0,24	0,23	0,25	0,27	0,19	0,21	0,58	0,63	0,55	0,14
Почки (контроль)	0,14	0,16	0,20	0,19	0,17	0,13	0,16	0,16	0,18	0,17	0,15	0,15
Почки ВГП H5N1	0,12	0,92	0,97	1,00	0,22	0,20	0,25	0,28	0,19	0,21	0,23	0,12
Почки ВГП H5N1	0,14	0,62	0,71	0,68	0,17	0,13	0,16	0,16	0,18	0,17	0,18	0,15
Почки ВНБ 6081	0,17	0,22	0,19	0,21	0,40	0,37	0,24	0,26	1,10	1,00	1,02	0,14
Почки ВНБ 6081	0,18	0,23	0,18	0,22	0,33	0,39	0,29	0,26	0,98	1,04	1,00	0,17

Рис. 4. Тестирование на наличие ВГП и ВНБ препаратов: ВАЖ ВГП A/chicken/Kurgan/3/2005 (H5N1); ВАЖ NDV/Duck/Moscow/3639/2008; экстракт фекалий цыплят, инфицированных NDV/Chicken/Moscow/6081/2022; экстракт почек неинфицированного цыпленка; экстракт почек цыпленка, инфицированного A/chicken/Kurgan/3/2005; экстракт почек цыпленка, инфицированного A/FPV/Rostock/34 (H7N1); экстракты почек цыплят, инфицированных NDV/Chicken/Moscow/6081/2022

Fig. 4. Testing of preparations for AIV and NDV: A/chicken/Kurgan/3/2005 (H5N1) infectious allantoic fluid; NDV/Duck/Moscow/3639/2008 infectious allantoic fluid; faecal extract of chicks infected with NDV/Chicken/Moscow/6081/2022; kidney extract of uninfected chick; kidney extract of a chick infected with A/chicken/Kurgan/3/2005; kidney extract of a chick infected with A/FPV/Rostock/34 (H7N1); and kidney extracts of chicks infected with NDV/Chicken/Moscow/6081/2022

Таблица

Выявление ВНБ и ВГП в фекалиях и органах больных кур методами твердофазного анализа, полимеразной цепной реакции и титрования в куриных эмбрионах

Table

Detection of NDV and AIV from feces and organs of sick chickens using solid-phase analysis, PCR and titration in chicken embryos

Метод выявления	ВНБ						ВГП	
	ВАЖ	Фекалии			Почки	Легкие	Кишечник	Почки
		3-й день	5-й день	7-й день				
ТФА	6/6	5/10	0/4	0/8	10/10	2/2	4/6	5/5
ПЦР	6/6	10/10	4/4	6/8	4/4	5/5	6/6	5/5
Титрование	6/6	7/7	2/2	1/1	4/4*	1/1	2/2	3/3*

* Титр инфекционности вируса составлял 10^9 ЭИД₅₀/мл (the virus infectivity titer was 10^9 EID₅₀/mL).

в лунках, сенсibilизированных анти-ВНБ IgY и выявленных анти-ВНБ IgY-HRP. Все прочие варианты сенсibilизации или выявления не дают достоверного сигнала с ВНБ. Таким образом, одновременно можно дифференцировать высокопатогенные варианты вируса гриппа (H5N1 и H7N1) от вируса ньюкаслской болезни у больных кур.

Сопоставление твердофазного анализа с полимеразной цепной реакцией и с определением инфекционности на куриных эмбрионах. Сравнение описанного твердофазного метода выявления вирусов с ПЦР и с титрованием в КЭ показывает, что два последних намного чувствительнее (табл.). С помощью данных методов ВНБ регистрировали практически во всех тестируемых образцах начиная с 3-го по 7-й день после заражения NDV/Chicken/Moscow/6081/2022, а ТФА позволяла выявлять вирус в фекалиях только на пике заболевания.

В образцах фекалий на 5-й и 7-й день эксперимента ВНБ и ВГП методом ТФА обнаружены не были, но предложенный тест показал 100%-ю выявляемость патогенов в образцах тканей органов птиц. Во всех образцах почек погибших либо подвергнутых этаназии на финальной стадии заболевания цыплят на панелях был выявлен вирус. Высокопатогенные ВГП и ВНБ накапливаются в почках инфицированных кур в очень высокой концентрации; при титровании в КЭ гомогенатов количество вирусов составило 10^9 ЭИД₅₀/мл, что дает

возможность выявлять их в ТФА (то есть чувствительность равна 10^9 ЭИД₅₀/мл). Чувствительность разрабатываемого метода довольно низкая при исследовании образцов фекалий и на данном этапе не подходит для постановки предварительного диагноза. Однако падеж птицы в хозяйствах при инфицировании вышеупомянутыми патогенами наступает быстро, с разработанным тестом возможно безотлагательно и с высокой степенью достоверности установить причину заболевания и принять своевременные меры.

ОБСУЖДЕНИЕ

В последнее время грипп птиц и ньюкаслская болезнь приводят к значительным убыткам в птицеводческой промышленности по всему миру. За последние десятилетия ВГП субтипа H5 распространился из Юго-Восточной Азии по всем континентам, включая Америку, что подтверждает необходимость эффективного мониторинга и диагностики заболеваний, вызванных этим опасным патогеном. Из Африки распространился ВНБ VII генотипа, вспышки заболевания фиксируются от Японии до Северо-Западной Европы [23]. Поскольку уничтожение всех домашних птиц в районе вспышек является основным методом сдерживания данных заболеваний, своевременное обнаружение очагов гриппа птиц и ньюкаслской болезни становится важным этапом [24].

Разработанный метод ТФА позволяет одновременно выявить и дифференцировать ВНБ и ВГП, что является важным шагом для своевременного принятия мер по контролю и профилактике заболеваний. Поскольку ВГП регистрируется с помощью универсального рецепторного аналога, а для обнаружения ВНБ использованы поликлональные антитела, полученные путем иммунизации кур ВНБ двух генотипов, можно предположить, что метод позволит выявлять различные штаммы ВГП и ВНБ, вызывающие гибель птицы, и проводить предварительную диагностику на месте. Тест-системы для обнаружения вируса гриппа, представленные на рынке, направлены на идентификацию ВГП только определенного субтипа, в то время как разработанный нами метод способен выявлять в фекалиях и патологическом материале одновременно разные субтипы, что существенно сокращает время проведения диагностических исследований и позволяет вовремя купировать распространение возбудителя заболевания в птицеводческом хозяйстве.

Разработка тест-системы для дифференциальной диагностики гриппа птиц и ньюкаслской болезни представляет собой важный шаг к совершенствованию контроля за оздоровлением птицеводства.

Дальнейшим этапом работы будет проведение валидации предложенного метода и тестирование его на практике в подсобных хозяйствах, а также сравнение с разработанными и утвержденными методиками идентификации ВГП и ВНБ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Циркуляция возбудителя ВГП подтипа H5N1 по всему миру и многочисленные вспышки ВНБ в Африке, Азии и Европе обусловили создание простого и быстрого метода обнаружения возбудителей в органах больной и павшей птицы. Разработанный метод позволяет выявлять и дифференцировать ВНБ и разные субтипы ВГП в фекалиях и тканях органов заболевших и павших кур.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

- ICTV. Virus Taxonomy: 2024 Release. <https://ictv.global/taxonomy>
- Miller P. J., Dimitrov K. M., Williams-Coplin D., Peterson M. P., Pantin-Jackwood M. J., Swayne D. E., et al. International biological engagement programs facilitate Newcastle disease epidemiological studies. *Frontiers in Public Health*. 2015; (3):235. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2015.00235>
- Ross C. S., Mahmood S., Skinner P., Mayers J., Reid S. M., Hansen R. D. E., Banyard A. C. JMM Profile: Avian paramyxovirus type-1 and Newcastle disease: a highly infectious vaccine-preventable viral disease of poultry with low zoonotic potential. *Journal of Medical Microbiology*. 2022; 71 (8):001489. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.001489>
- Ganar K., Das M., Sinha S., Kumar S. Newcastle disease virus: current status and our understanding. *Virus Research*. 2014; 184: 71–81. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2014.02.016>
- Guseva N. A., Kolosov S. N., Zinyakov N. G., Kozlov A. A., Shcherbakova L. O., Chvala I. A., et al. Subgenotype VII.1.1 Newcastle disease virus evolution and spread in the Russian Federation in 2019–2023. *Viruses*. 2025; 17 (10):1319. <https://doi.org/10.3390/v17101319>
- Rtishchev A., Treshchalina A., Shustova E., Boravleva E., Gambaryan A. An outbreak of Newcastle disease virus in the Moscow Region in the summer of 2022. *Veterinary Science*. 2023; 10 (6):404. <https://doi.org/10.3390/vetsci10060404>
- Yoon S.-W., Webby R. J., Webster R. G. Evolution and ecology of influenza A viruses. In: *Influenza Pathogenesis and Control. Vol. 1. Current Topics in Microbiology and Immunology. Eds. R. Compans, M. Oldstone*. 2014; 385: 359–375. https://doi.org/10.1007/82_2014_396
- Mena A., von Fricken M. E., Anderson B. D. The impact of highly pathogenic avian influenza H5N1 in the United States: a scoping review of past detections and present outbreaks. *Viruses*. 2025; 17 (3):307. <https://doi.org/10.3390/v17030307>
- Verhagen J. H., Fouchier R. A. M., Lewis N. Highly pathogenic avian influenza viruses at the wild-domestic bird interface in Europe: future directions for research and surveillance. *Viruses*. 2021; 13 (2):212. <https://doi.org/10.3390/v13020212>
- Li J., Zou M., Chen Y., Xue Q., Zhang F., Li B., et al. Gold immunochromatographic strips for enhanced detection of avian influenza and Newcastle disease viruses. *Analytica Chimica Acta*. 2013; 782: 54–58. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2013.04.022>
- Li Q., Wang L., Sun Y., Liu J., Ma F., Yang J., et al. Evaluation of an immunochromatographic strip for detection of avian avulavirus 1 (Newcastle disease virus). *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 2019; 31 (3): 475–480. <https://doi.org/10.1177/1040638719837320>
- Cui S., Tong G. A chromatographic strip test for rapid detection of one lineage of the H5 subtype of highly pathogenic avian influenza. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 2008; 20 (5): 567–571. <https://doi.org/10.1177/104063870802000505>
- Peng F., Wang Z., Zhang S., Wu R., Hu S., Li Z., et al. Development of an immunochromatographic strip for rapid detection of H9 subtype avian influenza viruses. *Clinical and Vaccine Immunology*. 2008; 15 (3): 569–574. <https://doi.org/10.1128/cvi.00273-07>
- Yang F., Xiao Y., Chen B., Wang L., Liu F., Yao H., et al. Development of a colloidal gold-based immunochromatographic strip test using two monoclonal antibodies to detect H7N9 avian influenza virus. *Virus Genes*. 2020; 56 (3): 396–400. <https://doi.org/10.1007/s11262-020-01742-8>
- Sun Z., Shi B., Meng F., Ma R., Hu Q., Qin T., et al. Development of a colloidal gold-based immunochromatographic strip for rapid detection of H7N9 influenza viruses. *Frontiers in Microbiology*. 2018; 9:2069. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02069>
- Yang F., Xiao Y., Xu L., Liu F., Yao H., Wu N., Wu H. Development of an antigen-capture enzyme-linked immunosorbent assay and immunochromatographic strip based on monoclonal antibodies for detection of H6 avian influenza viruses. *Archives of Virology*. 2020; 165 (5): 1129–1139. <https://doi.org/10.1007/s00705-020-04602-w>
- Boravleva E. Yu., Treshchalina A. A., Gordeeva D. R., Gambaryan A. S. Development of an inexpensive and simple test system for the differential detection of avian influenza viruses and avian paramyxoviruses in environmental monitoring. *Journal of Research in Veterinary Sciences*. 2024; 4 (3): 58–69. <https://doi.org/10.5455/JRVS.20240529123341>
- Трещалина А. А., Ртищев А. А., Шустова Е. Ю., Белякова А. В., Гамбарян А. С., Боравлева Е. Ю. Молекулярная идентификация вируса ньюкаслской болезни, выделенного в домашнем птицеводстве Подмосковья летом 2022 года. *Ветеринария сегодня*. 2023; 12 (2): 147–153. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2023-12-2-147-153>
- Treshchalina A. A., Rtishchev A. A., Shustova E. Yu., Belyakova A. V., Gambaryan A. S., Boravleva E. Yu. Molecular identification of Newcastle disease virus isolated on the poultry farm of the Moscow Oblast in summer of 2022. *Veterinary Science Today*. 2023; 12 (2): 147–153. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2023-12-2-147-153>
- Boravleva E., Treshchalina A., Gordeeva D., Gambaryan A., Belyakova A., Gafarova I., et al. Genotype I Newcastle disease virus, isolated from wild duck, can protect chickens against Newcastle disease caused by genotype VII. *Pathogens*. 2025; 14 (4):380. <https://doi.org/10.3390/pathogens14040380>
- Sajid S., Rahman S. U., Mohin M., Sindhu Z. U. D. Development of egg yolk-based polyclonal antibodies and immunoprophylactic potential of antigen-antibody complex against infectious bursal disease. *Veterinary and Animal Science*. 2023; 23:100326. <https://doi.org/10.1016/j.vas.2023.100326>
- Matrosovich M. N., Gambaryan A. S. Solid-phase assays of receptor-binding specificity. *Methods in Molecular Biology*. 2012; 865: 71–94. https://doi.org/10.1007/978-1-61779-621-0_5
- Treshchalina A., Postnikova Y., Gambaryan A., Ishmukhametov A., Prilipov A., Sadykova G., et al. Monitoring of avian influenza viruses and paramyxoviruses in ponds of Moscow and the Moscow Region. *Viruses*. 2022; 14 (12):2624. <https://doi.org/10.3390/v14122624>
- Steensels M., Van Borm S., Mertens I., Houdart P., Rauw F., Roupie V., et al. Molecular and virological characterization of the first poultry outbreaks of genotype VII.2 velogenic avian orthoavulavirus type 1 (NDV) in North-West Europe, BeNeLux, 2018. *Transboundary and Emerging Diseases*. 2021; 68 (4): 2147–2160. <https://doi.org/10.1111/tbed.13863>
- Shi J., Zeng X., Cui P., Yan C., Chen H. Alarming situation of emerging H5 and H7 avian influenza and effective control strategies. *Emerging Microbes & Infections*. 2023; 12 (1):2155072. <https://doi.org/10.1080/22221751.2022.2155072>

Поступила в редакцию / Received 02.10.2025

Поступила после рецензирования / Revised 09.12.2025

Принята к публикации / Accepted 26.01.2026

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Шустова Елена Юрьевна, канд. биол. наук, научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии вирусов ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М. П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита), г. Москва, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-1314-0152>, shustova_eu@chumakovs.su

Elena Yu. Shustova, Cand. Sci. (Biology), Researcher, Laboratory of Molecular Biology of Viruses, Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-Biological Products of RAS (Institute of Poliomyelitis), Moscow, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-1314-0152>, shustova_eu@chumakovs.su

Гамбарян Александра Сергеевна, д-р биол. наук, ведущий вирусолог ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М. П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита), г. Москва, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-1892-0548>, al.gambaryan@gmail.com

Aleksandra S. Gambaryan, Dr. Sci. (Biology), Leading Researcher, Laboratory of Molecular Biology of Viruses, Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-Biological Products of RAS (Institute of Poliomyelitis), Moscow, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-1892-0548>, al.gambaryan@gmail.com

Боравлева Елизавета Юрьевна, канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии вирусов ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М. П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита), г. Москва, Россия; <https://orcid.org/0000-0001-8491-4640>, elisavetbor@gmail.com

Elizaveta Yu. Boravleva, Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Molecular Biology of Viruses, Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-Biological Products of RAS (Institute of Poliomyelitis), Moscow, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-8491-4640>, elisavetbor@gmail.com

Трещалина Анастасия Андреевна, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии вирусов ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М. П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита), г. Москва, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-3801-2413>, treshchalinaA@gmail.com

Anastasiya A. Treshchalina, Junior Researcher, Laboratory of Molecular Biology of Viruses, Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-Biological Products of RAS (Institute of Poliomyelitis), Moscow, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-3801-2413>, treshchalinaA@gmail.com

Сейтаблаев Артем Александрович, лаборант-исследователь лаборатории молекулярной биологии вирусов ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М. П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита), г. Москва, Россия; <https://orcid.org/0009-0003-8248-1257>, seytabulaev_aa@chumakovs.su

Artem A. Seitablaev, Laboratory Researcher, Laboratory of Molecular Biology of Viruses, Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-Biological Products of RAS (Institute of Poliomyelitis), Moscow, Russia; <https://orcid.org/0009-0003-8248-1257>, seytabulaev_aa@chumakovs.su

Березовский Станислав Игоревич, генеральный директор ООО «ВЕТ ФАКТОР», г. Москва, Россия; <https://orcid.org/0009-0004-1030-5761>, Stanislav@vetfaktor.ru

Stanislav I. Berezovsky, General Director, VET FAKTOR LLC, Moscow, Russia; <https://orcid.org/0009-0004-1030-5761>, Stanislav@vetfaktor.ru

Вклад авторов: Шустова Е. Ю. – поиск научной литературы, анализ и интерпретация данных, редактирование текста, работа со списком литературы; Гамбарян А. С. – разработка тест-системы, мониторинг/проверка информации, подготовка текста, работа со списком литературы; Боравлева Е. Ю. – участие в разработке тест-системы, редактирование материала; Трещалина А. А. – участие в разработке тест-системы, редактирование материала; Сейтаблаев А. А. – организация отбора материалов для исследования; Березовский С. И. – постановка ПЦР.

Contribution of the authors: Shustova E. Yu. – literature search, data analysis and interpretation, text review and editing, bibliography compilation; Gambaryan A. S. – test kit development, information monitoring/verification, original draft preparation, bibliography compilation; Boravleva E. Yu. – test kit development, text review and editing; Treshchalina A. A. – test kit development, text review and editing; Seitablaev A. A. – sample collection; Berezovsky S. I. – PCR testing.