

DOI: 10.29326/2304-196X-2021-10-4-323-328
 УДК 57.085.23:57.082.26:578.821.4



Сравнительная характеристика репродукции вирусов рода *Leporipoxvirus* в перевиваемой культуре клеток

О. Г. Лаптева¹, С. Г. Юрков², И. П. Синдрякова³, А. В. Луницин⁴

ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр вирусологии и микробиологии» (ФГБНУ ФИЦВиМ), пос. Вольгинский, Владимирская обл., Россия

¹ <https://orcid.org/0000-0002-4435-8368>, e-mail: oksana-lapteva@rambler.ru

² <https://orcid.org/0000-0002-6801-9424>, e-mail: patronn13@rambler.ru

³ <https://orcid.org/0000-0002-5947-9402>, e-mail: isindryakova@ficvim.ru

⁴ <https://orcid.org/0000-0002-5043-446X>, e-mail: lunicyn@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Изучение характера взаимодействия вируса с клеткой имеет как научное, так и практическое значение. Целью настоящих исследований явилась сравнительная оценка проявления ряда биологических свойств вирусов миксомы и фибромы Шоупа кроликов при репродукции в клональной перевиваемой линии клеток почки кролика RK-13/2-03. Показано, что развитие инфекции и длительность проявления цитопатического действия в культуре клеток RK-13/2-03 изучаемых вирусов различны. Видимые поражения клеточного монослоя при одинаковой множественности заражения и температуре культивирования для вируса миксомы наблюдали на 2-е сут, для вируса фибромы – на 3-и сут, максимальное поражение клеток с выраженной дегенерацией отмечали на 3-и и 6-е сут культивирования соответственно. Вирус миксомы накапливался в титре 6,25–6,50 lg TCID₅₀/0,2 см³, а вирус фибромы Шоупа – в титре 5,50–5,75 lg TCID₅₀/0,2 см³. Данную инфекционную активность регистрировали у вируса фибромы Шоупа на протяжении трех, а вируса миксомы – двадцати пассажных уровней. Молекулярно-генетический анализ подтвердил, что полученные культуральные материалы идентифицируются как вирусы миксомы кроликов и фибромы Шоупа. При определении антигенного родства было установлено, что антитела, полученные к вирусу миксомы, способны нейтрализовать и вирус фибромы Шоупа. Титр антител в реакции нейтрализации обоих вирусов был идентичен и составил 1:8. Установлен высокий уровень перmissивности культуры клеток RK-13/2-03 к вирусу фибромы Шоупа, изолированному от больного кролика и не являющемуся аттенуированным вариантом вируса.

Ключевые слова: перевиваемая культура клеток, вирус миксомы, вирус фибромы Шоупа, цитопатическое действие вируса

Благодарности: Работа выполнена в рамках государственного задания.

Для цитирования: Лаптева О. Г., Юрков С. Г., Синдрякова И. П., Луницин А. В. Сравнительная характеристика репродукции вирусов рода *Leporipoxvirus* в перевиваемой культуре клеток. *Ветеринария сегодня*. 2021; 10 (4): 323–328. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-10-4-323-328.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Лаптева Оксана Георгиевна, кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник лаборатории «Лекарственные средства для животных» ФГБНУ ФИЦВиМ, 601125, Россия, Владимирская обл., Петушинский р-н, пос. Вольгинский, ул. Академика Бакулова, стр. 1, e-mail: oksana-lapteva@rambler.ru.

Comparative characterization of *Leporipoxvirus* members' reproduction in continuous cell culture

O. G. Lapteva¹, S. G. Yurkov², I. P. Sindryakova³, A. V. Lunitsin⁴

Federal Research Center for Virology and Microbiology (FRCVM), Volginsky, Vladimir Oblast, Russia

¹ <https://orcid.org/0000-0002-4435-8368>, e-mail: oksana-lapteva@rambler.ru

² <https://orcid.org/0000-0002-6801-9424>, e-mail: patronn13@rambler.ru

³ <https://orcid.org/0000-0002-5947-9402>, e-mail: isindryakova@ficvim.ru

⁴ <https://orcid.org/0000-0002-5043-446X>, e-mail: lunicyn@mail.ru

SUMMARY

Examination of the virus-cell interactions is of both scientific and practical importance. Our study was aimed at comparative characterization of rabbit myxoma virus and Shope fibroma virus biological properties that manifested during the virus reproduction in RK-13/2-03 clonal continuous rabbit kidney cell culture. It was demonstrated that the viruses varied in infection development and cytopathic effect duration in RK-13/2-03 cell culture. Apparent lesions in cell monolayers infected by myxoma virus and fibroma virus at similar multiplicity of infection and cultivation temperature were observed on day 2 and day 3 of cultivation, respectively, as well as maximum cell lesions with evident degeneration were observed on day 3 and day 6 of cultivation, respectively. Myxoma virus was accumulated at titre of 6.25–6.50 lg TCID₅₀/0,2 cm³, and Shope fibroma virus was accumulated at titre of 5.50–5.75 lg TCID₅₀/0.2 cm³. Shope fibroma virus demonstrated such

infectivity during three passages and myxoma virus demonstrated such infectivity during twenty passages. Prepared cultures were identified as myxoma virus and Shope fibroma virus with molecular genetic analysis. Tests of the viruses for their antigenic relatedness showed that antibodies against myxoma virus were able to neutralize Shope fibroma virus also. NT titres of antibodies against both viruses were similar (1:8). RK-13/2-03 cell culture was found to be highly permissive to Shope fibroma virus that had been isolated from the diseased rabbit and not been an attenuated variant.

Keywords: continuous cell culture, myxoma virus, Shope fibroma virus, virus-specific cytopathic effect

Acknowledgements: The studies were performed in the framework of governmental programme.

For citation: Lapteva O. G., Yurkov S. G., Sindryakova I. P., Lunitsin A. V. Comparative characterization of *Leporipoxvirus* members' reproduction in continuous cell culture. *Veterinary Science Today*. 2021; 10 (4): 323–328. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-10-4-323-328.

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

For correspondence: Oksana G. Lapteva, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Senior Researcher, Laboratory for Veterinary Medicinal Products, FRCVM, 601125, Russia, Vladimir Oblast, Petushinsky Raion, Voljinsky, ul. Academician Bakoulov, bld. 1, e-mail: oksana-lapteva@rambler.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Использование в качестве клеточного субстрата перевиваемых линий клеток (ПЛК) для накопления вирусного и антигенного сырья при разработке ветеринарных противовирусных вакцин с значительно повысило эффективность и стабильность биотехнологических процессов. Применение ПЛК позволило значительно снизить связанные с возможной эндогенной контаминацией риски, которые могут иметь место при использовании первичных культур клеток, решить ряд этических проблем, возникающих при отборе донорской ткани млекопитающих, и в целом повысить биобезопасность целевого продукта.

Возможность использования ПЛК для культивирования определяется прежде всего перmissивностью выбранной клеточной системы к вирусу.

В связи с этим изучение характера взаимодействия вируса с клеткой и последующая оптимизация условий и параметров культивирования имеет как научное, так и практическое значение.

Вирусы семейства *Poxviridae* инфицируют многие виды млекопитающих, репродуцируются в цитоплазме клеток-мишеней, поражая как кожные покровы, так и внутренние органы, и способны вызывать эпизоотии, наносящие значительный экономический ущерб [1, 2]. Семейство подразделяют на 2 подсемейства: *Chordopoxvirinae* и *Entomopoxvirinae* [3]. В первое входит 11 родов вирусов, которые вызывают заболевания как у животных (оспа коров, оспа обезьян [4], оспа буйволов [5], оспа овец и оспа коз [6], заразный узелковый дерматит крупного рогатого скота [7], оспа птиц [8], миксоматоз и фиброматоз кроликов [9, 10], оспа белок [11] и т. д.), так и у человека (натуральная оспа). Второе подсемейство включает 3 рода вирусов, циркулирующих среди насекомых. Среди представителей *Chordopoxvirinae* есть рода, которые имеют ограниченный круг хозяев. Такими являются вирусы рода *Leporipoxvirus*, вызывающие заболевания только у кроликов, зайцев и белок.

Фиброматоз кроликов (фиброма Шоупа) – вирусная болезнь домашних и диких кроликов, основным патогномичным признаком которой является появле-

ние под кожей и слизистой оболочкой ограниченных узлов или диффузных разрастаний соединительной ткани (фибром).

Миксоматоз кроликов – инфекционная, остро протекающая высококонтагиозная вирусная болезнь, характеризующаяся серозно-гнойным конъюнктивитом, отечно-студенистой инфильтрацией клетчатки в области головы и наружных половых органов, образованием опухолевых узелков на коже.

То и другое заболевание вызывает ДНК-содержащий вирус. По морфологическим характеристикам эти возбудители существенно не отличаются от вируса осповакцины крупного рогатого скота. Зрелый вирус миксомы имеет размер 250–370 нм, а вирус фибромы Шоупа – 125–240 нм. Вирионы вируса миксомы имеют кирпичевидную форму с закругленными углами; внешняя оболочка ворсинчатая; нуклеотид гантелевидной формы, ДНК – двунитчатая [12].

Зрелая форма вириона вируса фибромы Шоупа кирпичеобразная с округленными краями. По антигенным и иммуногенным свойствам вирусы фибромы и миксомы родственны, поэтому кролики, переболевшие фиброматозом, устойчивы к возбудителю миксоматоза [13].

Оба вируса размножаются в куриных эмбрионах, но характер вызываемых поражений различен. При культивировании вируса миксомы на хорионаллантоисной оболочке образуются характерные фокусы (оспины), и в дальнейшем эмбрион погибает, при том как вирус фибромы приводит к слабовыраженным изменениям, и эмбрион не погибает. Вирус миксомы в первичных и перевиваемых культурах клеток почек крольчат вызывает яркие цитопатические изменения, характеризующиеся округлением клеток и дегенерацией клеточного пласта. При репродукции вируса фибромы как в первичной, так и в перевиваемой культуре клеток цитопатический эффект слабо выражен [12].

Особенностью репродукции поксвирусов в культуре клеток является размножение в цитоплазме и выход зрелых вирионов из клетки путем ее разрушения либо без разрыва клеточной оболочки (экзоцитоз). Сам цитопатический эффект характеризуется пикнозом, смор-

щиванием и деструкцией клетки. Однако представители этого семейства вирусов имеют свои особенности проявления при взаимодействии с клеткой *in vitro*. Хинце и Уокер при культивировании вируса фибромы Шоупа в клетках почки кролика выявляли слабый цитотоксический эффект [14].

В отечественной литературе информация о культивировании вирусов рода *Leporipoxvirus* немногочисленна.

В связи с вышеизложенным целью настоящих исследований являлась сравнительная оценка проявления ряда биологических свойств вирусов миксомы и фибромы Шоупа кроликов при репродукции в клональной перевиваемой линии клеток почки кролика RK-13/2-03 как основы совершенствования технологии производства вакцинных препаратов против болезней, вызываемых этими патогенами.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали: клон сублинии перевиваемых клеток почки кролика RK-13/2-03 (кат. № 36.2) коллекции клеточных культур ФГБНУ ФИЦВиМ [15]; патогенный для кроликов вирус фибромы Шоупа, выделенный из патматериала, с инфекционной активностью на кроликах на уровне 5-го пассажа $4,11 \lg \text{ID}_{50}/\text{мл}$; вирус миксомы кроликов (вакцинный штамм В-82) с инфекционной активностью $6,5 \lg \text{TCID}_{50}/\text{см}^3$. Используемые штаммы вирусов получали из «Государственной коллекции микроорганизмов, вызывающих опасные, особо опасные, в том числе зооантропонозные и не встречающиеся на территории страны болезни животных» (реестровый номер ЦКП – 441429, <http://skp-rf.ru/skp/441429/>).

Специфическая сыворотка крови кролика к вирусу миксомы с титром в реакции нейтрализации – 1:8.

Питательные среды: Игла DMEM жидкая с аланил-глутамином и глюкозой 4,5 г/л и раствор Дюльбекко (НПП «ПанЭко», Россия); Игла MEM (Sigma, США); фетальная сыворотка крови КРС (Biological Ind., Израиль).

Культуру клеток почки кролика RK-13/2-03 выращивали в культуральных флаконах с ростовой площадью 25 см² и 96-луночных планшетах (Corning, США).

Клонирование сублинии клеток RK-13 с целью повышения уровня ее генетической однородности проводили методом предельных разведений в 96-луночных пластиковых планшетах [16]. Полученные клоны клеток культивировали в среде Игла MEM с 20%-м содержанием фетальной сыворотки крови КРС и 50%-м содержанием кондиционированной среды с антибиотиком пемфоксацином (20 мкг/мл) в течение 10–14 сут. На основании оценки ростовых и вирусрепродуцирующих свойств из 42 клонов линии для дальнейшего культивирования отобран наиболее перспективный клон RK-13/2-03. По результатам кариологического анализа на уровне 18-го пассажа модальному числу соответствовали клетки с 56 хромосомами, а его величина составила 22%. Цитоморфологические исследования показали, что монослой клональной культуры представлен эпителиоподобными клетками полигональной формы. При посадочной концентрации 100 тыс. кл./мл монослой формировался через 48–72 ч. Полученная клональная сублиния клеток RK-13/2-03 сохраняла исходные ростовые свойства и морфологические характеристики в течение 50 пассажей (срок наблюдения).

Вирусы фибромы Шоупа и миксомы кроликов штамма В-82 культивировали в двухсуточной культуре клеток RK-13/2-03, выращенной в среде DMEM с 10% фетальной сыворотки крови КРС. Перед заражением из флаконов удаляли ростовую среду, монослой клеток дважды отмывали раствором Дюльбекко для удаления остатков сыворотки и вносили вирусы с множественностью заражения 0,002–0,003 ТЦД₅₀/кл. Адсорбцию вируса проводили при температуре (33,0 ± 0,5) °С в течение 60 мин. Затем во флаконы вносили поддерживающую среду Игла DMEM с 2% фетальной сыворотки крови КРС. Зараженную культуру клеток инкубировали при температуре (33,0 ± 0,5) °С до полного проявления цитопатического действия (ЦПД) вирусов. Состояние клеток для выявления поражения его вирусами оценивали при просмотре культуральных флаконов под инвертированным микроскопом Olympus (Olympus, Япония).

Инфекционную активность вирусов фибромы Шоупа и миксомы определяли общепринятым методом путем титрования в культуре клеток RK-13/2-03. Для этого клетки RK-13/2-03 рассевали в 96-луночные планшеты с концентрацией 150 тыс. кл./см³. После формирования через 2 сут конфлюэнтного монослоя клетки заражали 10-кратными разведениями (10⁻¹–10⁻⁷) вирусов фибромы Шоупа и миксомы кролика и инкубировали при температуре (33,0 ± 0,5) °С в атмосфере с повышенным до 5% содержанием CO₂ и 95%-й относительной влажности. Длительность наблюдения составляла 10 сут. Результаты титрования оценивали по ЦПД вирусов, титр рассчитывали по Риду и Менчу и выражали в $\lg \text{TCID}_{50}/0,2 \text{ см}^3$.

Выделение ДНК вирусов проводили с использованием набора QIAamp DNA Mini kit (Qiagen, Германия) согласно инструкции производителя.

Для выявления генома вирусов фибромы Шоупа и миксомы кроликов использовали праймеры, предложенные Y. Li et al. [17] и S. Albin et al. [18].

Очистка продуктов полимеразной цепной реакции (ПЦР) была произведена с использованием набора Cleanup Standard kit (ЗАО «Евроген», Россия) с последующим прямым секвенированием по методу Сэнгера на приборе Applied Biosystem 3130 XL DNA Analyser (Applied Biosystems, США) с реагентами BigDye™ Terminator v3.1 Cycle Sequencing kit (Applied Biosystems, США).

Антигенное родство между вирусами миксомы и фибромы Шоупа устанавливали в реакции нейтрализации, постановку которой проводили общепринятым методом. В 96-луночные планшеты вносили суспензию клеток RK-13/02-03 с концентрацией 100 тыс. кл./см³ и инкубировали при температуре (37,0 ± 0,5) °С в атмосфере с повышенным до 5% содержанием CO₂ и 95%-й относительной влажности в течение 48 ч. Нормальную и специфическую к вирусу миксомы сыворотку крови кроликов раститровывали с двукратным шагом (1:2–1:64) в двух планшетах, затем в первый вносили 1000 доз вируса миксомы, во второй – 1000 доз вируса фибромы Шоупа. Смесь сыворотки и вируса выдерживали при температуре (33,0 ± 0,5) °С в атмосфере с повышенным до 5% содержанием CO₂ и 95%-й относительной влажности, переносили ее в планшеты с культурой клеток и инкубировали при вышеуказанном режиме в течение 10 сут. Начиная с 3-х сут проводили учет результатов.

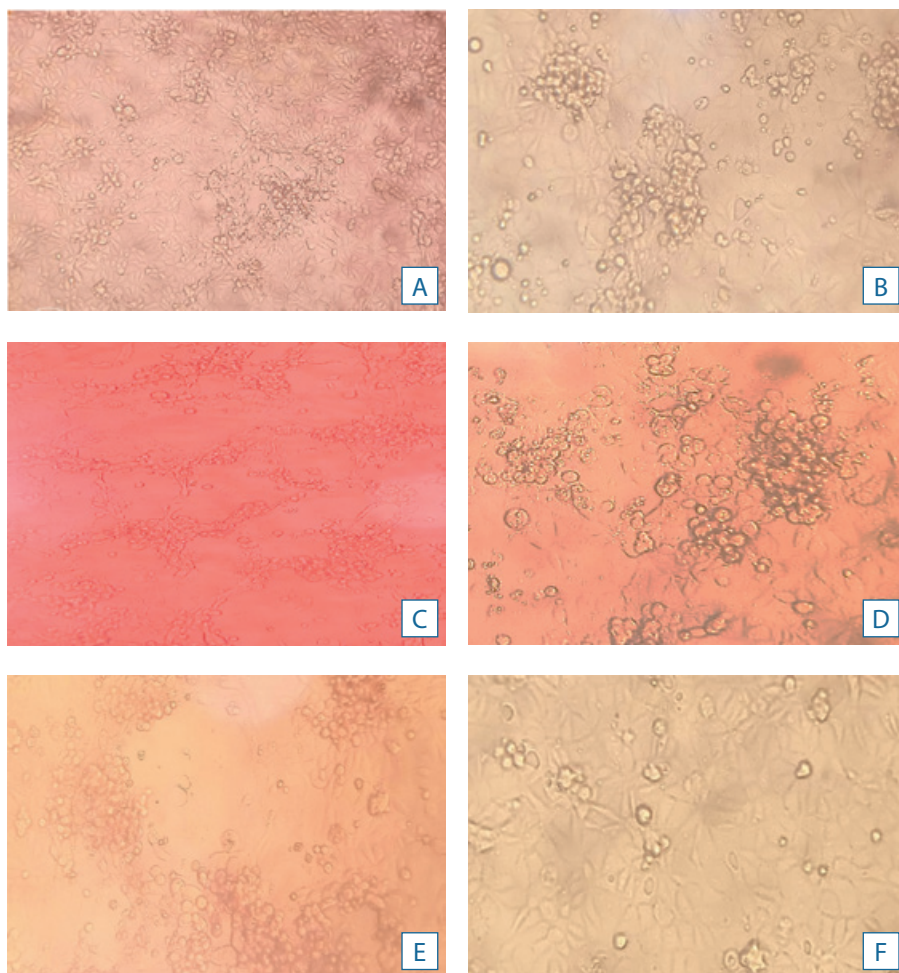


Рис. Динамика и характер ЦПД вирусов миксомы и фибромы Шоупа в культуре клеток RK-13/2-03 (увеличение $\times 100$). Проявление вируса миксомы на 2-е сут (A), проявление вируса фибромы на 3-и сут (B), поражение вирусом миксомы на 3-и сут (C), поражение вирусом фибромы на 4-е сут (D), поражение вирусом фибромы на 5-е сут (E), интактная культура клеток RK-13/2-03 (F)

Fig. Dynamics and nature of CPE caused by myxoma viruses and Shope fibroma virus in RK-13/2-03 cell culture (magnification 100 \times). Myxoma virus manifestations on day 2 (A), Shope fibroma virus manifestations on day 3 (B), myxoma virus-associated lesions on day 3 (C), fibroma virus-associated lesions on day 4 (D), fibroma virus-associated lesions on day 5 (E), intact RK-13/2-03 cell (F)

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При культивировании вирусов миксомы (штамм В-82) и фибромы Шоупа в культуре клеток RK-13/2-03 видимое проявление репродукции вирусов отмечали на 2-е (рис. А) и 3-и сут (рис. В) инкубирования соответственно. Поражение культуры вирусами в начале развития инфекции характеризовалось скоплением округлых клеток и формированием из них небольших гроздей-стяжек. В инфицированной вирусом миксомы культуре наблюдали характерное появление небольших разрывов клеточного пласта. На 3-и сут выращивания данного вируса отмечали нарастание степени выраженности изменений инфицированного монослоя, проявляющихся в виде деструкции клеточного пласта с образованием «сетки» из вытянутых клеточных элементов, по краям которой находились округлые клетки с резко контурированными уплотненными стенками (рис. С).

Развитие деструктивных процессов в монослое клеток, инфицированных вирусом фибромы, отмечали на 4-е сут инкубирования (рис. D), максимальное

поражение клеток с выраженной дегенерацией – на 5–6-е сут культивирования (рис. E). В интактной культуре (контроль) RK-13/2-03 подобных изменений не отмечено (рис. F).

Таким образом, динамика проявления ЦПД в культуре клеток RK-13/2-03 для вирусов миксомы кролика и фибромы Шоупа различна и составила 3 и 6 сут соответственно. Характер поражения монослоя клеток на протяжении всего цикла культивирования был идентичен.

При оценке накопления вируса в процессе культивирования наблюдали некоторые различия. Инфекционная активность вируса миксомы за период культивирования (3 сут) достигала значений 6,25–6,50 lg ТЦД₅₀/0,2 см³, в то время как титр вируса фибромы Шоупа (6 сут) составил 5,50–5,75 lg ТЦД₅₀/0,2 см³. Данную инфекционную активность регистрировали у вируса фибромы Шоупа на протяжении трех, а вируса миксомы – двадцати пассажных уровней.

В результате проведенной ПЦР были наработаны ампликоны поксвирусов, для определения их при-

надлежасти провели нуклеотидное секвенирование. Полученные последовательности сравнивали с опубликованными последовательностями генов, представленными в базе данных GenBank, при помощи программы Blast (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Молекулярно-генетический анализ подтвердил, что полученные вирусодержащие материалы идентифицируются как вирус миксомы кроликов и вирус фибромы Шоупа.

При определении в реакции нейтрализации антигенного родства было установлено, что антитела, полученные к вирусу миксомы, способны нейтрализовать и вирус фибромы Шоупа. Титры антител к вирусам миксомы и фибромы Шоупа были идентичны и составили 1:8. Таким образом, подтверждается антигенное родство между вирусами миксомы и фибромы Шоупа.

Установлено, что динамика развития ЦПД в культуре клеток RK-13/2-03 вирусами фибромы Шоупа и миксомы существенно различаются. Видимые проявления поражения клеточного монослоя при одинаковой множественности заражения и температуре культивирования наблюдаются на 2-е сут для вируса миксомы и на 3-и сут для вируса фибромы, что согласуется с данными, полученными при изучении репродукции этих вирусов в первичных культурах клеток [12].

Цитоморфологические исследования показали, что картина изменений в культуре клеток, вызванных исследуемыми вирусами, характерна для представителей семейства *Poxviridae*, при воздействии которых основным эффектом проявления ЦПД является образование округлых клеток и их скопления в виде оспинбляшек [19].

Подобный эффект отличается от ЦПД, наблюдаемого при репродукции штамма Микс-98 вируса миксомы и проявляющегося стягиванием округлых клеток к центру поражения в виде стяжек в форме «паучка» [20].

Инфекционная активность двух антигенно родственных вирусов, полученных при сходных параметрах культивирования, различна. Вирус миксомы кроликов накапливался в более высоких титрах, это связано с тем, что вакцинный штамм В-82 адаптирован к данной клеточной культуре. В то же время вирус фибромы Шоупа, выделенный из органного патологического материала, без предварительной адаптации к клеткам RK-13/2-03 также активно репродуцировался по сравнению с другими вирусами из семейства *Poxviridae*. Например, вирус заразного узелкового дерматита крупного рогатого скота требовал более длительного периода адаптации к перевиваемым культурам клеток. Характерное поражение монослоя клеток RK-13/2-03 исследователи регистрировали начиная с третьего пассажа, в первом пассаже видимых изменений не наблюдали, а во втором поражении были незначительные [21].

В процессе изучения двух вирусов, при отсутствии четко различимых особенностей культивирования, подтверждено их антигенное родство, а при секвенировании культуральных вирусодержащих материалов установлено соответствие таксономическому положению.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Сравнительный анализ репродукции вирусов миксомы и фибромы Шоупа в перевиваемой линии клеток почки кролика показал различия в динамике развития цитопатического эффекта. Вирусы вызывают идентич-

ные поражения культуры клеток RK-13/2-03, которые характеризуются округлением эпителиоподобных клеток монослоя с последующим их скоплением в виде оспин. Нарастание деструктивных процессов приводит к разрушению клеточного пласта, образованию структур в виде «сетки», края которой окаймлены округлыми клетками.

Показано, что инфекционная активность полученного вирусного материала была выше у вируса миксомы, который является культуральным вакцинным штаммом (В-82).

В реакции нейтрализации подтверждено антигенное родство вирусов миксомы и фибромы Шоупа, относящихся к роду *Leporipoxvirus*.

Установлен высокий уровень перmissивности культуры клеток RK-13/2-03 к вирулентному изоляту вируса фибромы Шоупа, выделенному от больного кролика.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Семкина В. П., Жильцова М. В., Саввин А. В., Акимова Т. П. Распространение заразного узелкового дерматита (нодулярного дерматита) крупного рогатого скота в мире. *Ветеринария сегодня*. 2017; 3: 13–23. Режим доступа: <https://veterinary.aria.ru/jour/article/view/314>.
2. Yune N., Abdela N. Epidemiology and economic importance of sheep and goat pox: a review on past and current aspects. *J. Vet. Sci. Technol.* 2017; 8 (2):1000430. DOI: 10.4262/2157-7579.1000430.
3. Family – Poxviridae. In: *Virus Taxonomy*. Ed. by A. M. Q. King, M. J. Adams, E. B. Carstens, E. J. Lefkowitz. Oxford: Elsevier; 2012; 291–309. DOI: 10.1016/B978-0-12-384684-6.00028-8.
4. Борисевич С. В., Логинова С. Я., Кротков В. Т., Терентьев А. И. Оспа обезьян. *Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение*. 2015; 1 (10): 59–65. Режим доступа: https://infect-dis-journal.ru/journals_infection/218.html?SR=100134654314fffff27c__07e50a0b0e0a0b-4930.
5. Борисевич С. В., Маренникова С. С., Стомба Л. Ф., Петров А. А., Кротков В. Т., Махлай А. А. Оспа буйволов. *Вопросы вирусологии*. 2016; 61 (5): 200–204. DOI: 10.18821/0507-4088-2016-61-5-200-204.
6. Spickler A. R. Sheep pox and Goat pox. August 2017. Режим доступа: https://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/sheep_and_goat_pox.pdf.
7. Закутский Н. И., Балышев В. М., Юрков С. Г., Гузалова А. Г., Луницин А. В. Нодулярный дерматит крупного рогатого скота: характеристика возбудителя болезни, распространение, диагностика и меры борьбы (обзор литературы). *Ветеринарный врач*. 2016; 4: 3–12. eLIBRARY ID: 26492763.
8. Tripathy D. N., Hanson L. E., Killinger A. H. Studies on differentiation of avian pox viruses. *Avian Dis.* 1973; 17 (2): 325–333. DOI: 10.2307/1589216.
9. Коломыцев А. А., Бурдинская О. Н. Миксоматоз кроликов. *Кролиководство и звероводство*. 2005; 6: 24–26. eLIBRARY ID: 20432927.
10. Леонтьев С. В., Дубницкий А. А., Гусев Б. А., Демина М. Ф. Болезни кроликов. М.: Колос; 1974. 239 с.
11. Борисевич С. В., Стомба Л. Ф., Павельев Д. И. Оспа белок (*Poxviridae*, *Chordopoxvirinae*, SQPV – Squirrel poxvirus). *Вопросы вирусологии*. 2018; 63 (2): 53–57. DOI: 10.18821/0507-4088-2018-63-2-53-57.
12. Сюрин В. Н., Самуйленко А. Я., Соловьев Б. В., Фомина Н. В. Вирусные болезни животных. М.: ВНИТИБП; 1998. 928 с.
13. Шевченко А. А., Черных О. Ю., Стрельников В. В., Шевченко Л. В. Биологические особенности и болезни нутрий, кроликов. Краснодар: КубГАУ; 2008. 534 с. Режим доступа: <https://kubsau.ru/upload/iblock/779/779734db5ff92deb15d15a987315239f.pdf>.
14. Феннер Ф., Мак-Ослен Б., Мимс С., Сэмбрук Дж., Уайт Д. Биология вирусов животных. Т. 1: пер. с англ. М.: Мир; 1977. 447 с. Режим доступа: <https://bookree.org/reader?file=474791>.
15. Юрков С. Г., Зуев В. В., Сидоров С. И., Кушнир С. Д., Смылова Н. Ю., Неверовская Н. С. и др. Каталог коллекции клеточных культур ВНИИВВиМ. Покров: ВНИИВВиМ; 2000. 78 с. eLIBRARY ID: 21632428.
16. Puck T. T., Marcus P. I., Cieciura S. J. Clonal growth of mammalian cells in vitro; growth characteristics of colonies from single HeLa cells with and without a feeder layer. *J. Exp. Med.* 1956; 103 (2): 273–284. DOI: 10.1084/jem.103.2.273.
17. Li Y., Meyer H., Zhao H., Damon I. K. GC content-based pan-pox universal PCR assays for poxvirus detection. *J. Clin. Microbiol.* 2010; 48 (1): 268–276. DOI: 10.1128/JCM.01697-09.
18. Albini S., Sigris B., Güttinger R., Schelling C., Hoop R. K., Vöggtlin A. Development and validation of a Myxoma virus real-time polymerase chain reaction assay. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2012; 24 (1): 135–137. DOI: 10.1177/1040638711425946.

19. Жданов В. М., Гайдамович С. Я. Частная вирусология. Т. 2. М.: Медицина; 1982. 520 с.

20. Власова Н. Н., Моргунов Ю. П., Цыбанов С. Ж., Колосова М. В., Кадетов В. В., Жестерев В. И. Атенуированный штамм Микс-89 вируса миксомы кроликов (семейство *Poxviridae*, род *Leporipoxvirus*, Мухома virus of rabbits). Патент № 2192465 Российская Федерация, МПК С12Н 7/00. ВНИИВВиМ. № 2001108408/13. Заявл. 30.03.2001. Опубликовано. 10.11.2002.

21. Балышева В. И., Живодеров С. П., Пивова Е. Ю., Бобровская Н. К., Живодерова А. В., Анисимова Л. И. и др. Перmissивность культур клеток различного происхождения при культивировании вируса нодулярно-го дерматита. *Сельскохозяйственная биология*. 2017; 52 (6): 1265–1272. DOI: 10.15389/agrobiology.2017.6.1265rus.

REFERENCES

1. Semakina V. P., Zhiltsova M. V., Savvin A. V., Akimova T. P. Occurrence of lumpy skin disease in cattle in the world. *Veterinary Science Today*. 2017; 3: 13–23. Available at: <https://veterinary.aria.ru/jour/article/view/314>.

2. Yune N., Abdela N. Epidemiology and economic importance of sheep and goat pox: a review on past and current aspects. *J. Vet. Sci. Technol*. 2017; 8 (2):1000430. DOI: 10.4262/2157-7579.1000430.

3. Family – Poxviridae. In: *Virus Taxonomy*. Ed. by A. M. Q. King, M. J. Adams, E. B. Carstens, E. J. Lefkowitz. Oxford: Elsevier; 2012; 291–309. DOI: 10.1016/B978-0-12-384684-6.00028-8.

4. Borisevich S. V., Loginova S. Ya., Krotkov V. T., Terent'ev A. I. Monkeypox. *Infectious Diseases: News, Opinions, Training*. 2015; 1 (10): 59–65. Available at: https://infect-dis-journal.ru/ru/jarticles_infection/218.html?SSr=100134654314ffffff27c_07e50a0b0e0a0b-4930. (in Russ.)

5. Borisevich S. V., Marennikova S. S., Stovba L. F., Petrov A. A., Krotkov V. T., Makhlai A. A. Buffalopox. *Problems of Virology*. 2016; 61 (5): 200–204. DOI: 10.18821/0507-4088-2016-61-5-200-204. (in Russ.)

6. Spickler A. R. Sheep pox and Goat pox. August 2017. Available at: https://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/sheep_and_goat_pox.pdf.

7. Zakutskiy N. I., Balyshev V. M., Jurkov S. G., Guzalova A. G., Lunitsin A. V. Lumpy skin disease: characteristics of the pathogen, its spread, detection, and control measures (literature review). *Veterinarian*. 2016; 4: 3–12. eLIBRARY ID: 26492763. (in Russ.)

8. Tripathy D. N., Hanson L. E., Killinger A. H. Studies on differentiation of avian pox viruses. *Avian Dis*. 1973; 17 (2): 325–333. DOI:10.2307/1589216.

9. Kolomytsev A. A., Burdinskaya O. N. Miksomatoz krolikov = Rabbit myxomatosis. *Krolikovodstvo i zverovodstvo*. 2005; 6: 24–26. eLIBRARY ID: 20432927. (in Russ.)

10. Leontyuk S. V., Dubnitskii A. A., Gusev B. A., Demina M. F. Bolezni krolikov = Rabbit diseases. Moscow: Kolos; 1974. 239 p. (in Russ.)

11. Borisevich S. V., Stovba L. F., Paveliev D. I. Poxvirus disease of squirrels (*Poxviridae*, *Chordopoxvirinae*, SQPV – Squirrel poxvirus). *Voprosy Virusologii*. 2018; 63 (2): 53–57. DOI: 10.18821/0507-4088-2018-63-2-53-57.

12. Syurin V. N., Samuilenko A. Ya., Solov'ev B. V., Fomina N. V. Virusnye bolezni zhivotnykh = Viral animal diseases. Moscow: VNITIBP; 1998. 928 p. (in Russ.)

13. Shevchenko A. A., Chernykh O. Yu., Strel'nikov V. V., Shevchenko L. V. Biologicheskie osobennosti i bolezni nutrii, krolikov = Biological features and diseases of nutrias and rabbits. Krasnodar: KubGAU; 2008. 534 p. Available at: <https://kubsau.ru/upload/iblock/779/779734db5ff92deb-15d15a987315239f.pdf>. (in Russ.)

14. Fenner F., McAuslan B. R., Mims S., Sambrook J., White D. O. The Biology of Animal Viruses. 2nd ed. Vol. 1. Academic Press; 1974. 850 p. Available at: <https://www.elsevier.com/books/the-biology-of-animal-viruses/fenner/978-0-12-253040-1>.

15. Yurkov S. G., Zuev V. V., Sidorov S. I., Kushnir S. D., Smyslova N. Yu., Neverovskaya N. S., et al. Katalog kollektzii kletochnykh kul'tur VNIIVViM = Catalogue of the VNIIVViM Collection of Cell Cultures. Pokrov: VNIIVViM; 2000. 78 p. eLIBRARY ID: 21632428. (in Russ.)

16. Puck T. T., Marcus P. I., Cieciura S. J. Clonal growth of mammalian cells in vitro; growth characteristics of colonies from single HeLa cells with and without a feeder layer. *J. Exp. Med*. 1956; 103 (2): 273–284. DOI: 10.1084/jem.103.2.273.

17. Li Y., Meyer H., Zhao H., Damon I. K. GC content-based pan-pox universal PCR assays for poxvirus detection. *J. Clin. Microbiol*. 2010; 48 (1): 268–276. DOI: 10.1128/JCM.01697-09.

18. Albini S., Sigrist B., Güttinger R., Schelling C., Hoop R. K., Vögtlin A. Development and validation of a Myxoma virus real-time polymerase chain reaction assay. *J. Vet. Diagn. Invest*. 2012; 24 (1): 135–137. DOI: 10.1177/1040638711425946.

19. Zhdanov V. M., Gaidamovich S. Ya. Chastnaya virusologiya = Specific Virology. Vol. 2. Moscow: Meditsina; 1982. 520 p. (in Russ.)

20. Vlasova N. N., Morgunov Yu. P., Tsybanov S. Zh., Kolosova M. V., Kadetov V. V., Zhesterev V. I. Attenuated strain Miks-98 (family *Poxviridae*, genus *Leporipoxvirus*, Myxoma virus of rabbits) of rabbit myxoma virus. Patent No. 2192465 Russian Federation, Int. C12N 7/00. VNIIVViM. No. 2001108408/13. Date of filing: 30.03.2001. Date of publication: 10.11.2002. (in Russ.)

21. Balysheva V. I., Zhivodeorov S. P., Pivova E. Yu., Bobrovskaya N. K., Zhivodeorova A. V., Anisimova L. I., et al. Permissivity of various cell cultures to lumpy skin disease virus. *Agricultural Biology*. 2017; 52 (6): 1265–1272. DOI: 10.15389/agrobiology.2017.6.1265rus. (in Russ.)

Поступила в редакцию / Received 14.07.2021

Поступила после рецензирования / Revised 03.08.2021

Принята к публикации / Accepted 12.10.2021

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Лаптева Оксана Георгиевна, кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник лаборатории «Лекарственные средства для животных» ФГБНУ ФИЦВиМ, пос. Вольгинский, Владимирская обл., Россия.

Юрков Сергей Григорьевич, доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории «Лекарственные средства для животных» ФГБНУ ФИЦВиМ, пос. Вольгинский, Владимирская обл., Россия.

Синдрякова Ирина Петровна, кандидат биологических наук, заведующий сектором лаборатории диагностики и мониторинга ФГБНУ ФИЦВиМ, пос. Вольгинский, Владимирская обл., Россия.

Луницин Андрей Владимирович, кандидат ветеринарных наук, главный научный сотрудник, заместитель директора по производству и качеству ФГБНУ ФИЦВиМ, пос. Вольгинский, Владимирская обл., Россия.

Oksana G. Lapteva, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Senior Researcher, Laboratory for Veterinary Medicinal Products, FRCVM, Volginsky, Vladimir Oblast, Russia.

Sergey G. Yurkov, Doctor of Science (Biology), Professor, Chief Researcher, Laboratory for Veterinary Medicinal Products, FRCVM, Volginsky, Vladimir Oblast, Russia.

Irina P. Sindryakova, Candidate of Science (Biology), Head of Sector, Laboratory for Diagnosis and Monitoring, FRCVM, Volginsky, Vladimir Oblast, Russia.

Andrey V. Lunitsin, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Chief Researcher, Deputy Director for Production and Quality, FRCVM, Volginsky, Vladimir Oblast, Russia.