

## Обзоры, проблемы

УДК 619:636.2:578.833.3

doi: 10.15389/agrobiologia.2015.4.399rus

АТИПИЧНЫЕ ПЕСТИВИРУСЫ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА  
(обзор)

А.Г. ГЛОТОВ, Т.И. ГЛОТОВА

Тревожной особенностью последних десятилетий, характеризовавшихся практически неограниченным расширением международных торговых контактов, стали участвовавшие вспышки атипичных вирусных инфекций, обнаружение новых вирусов, измененных изолятов и квазитипов с подтвержденной или потенциальной эмерджентностью. Для индустрии скотоводства они представляют реальную и серьезную угрозу в связи с тенденцией к широкому и быстрому распространению в условиях глобализации и применения унифицированных зоотехнических и ветеринарных протоколов. Семейство *Flaviviridae* объединяет несколько родов, из которых для сельскохозяйственных животных значение имеет род *Pestivirus*, включающий четыре вируса: вирусной диареи — болезни слизистых оболочек (ВД-БС) крупного рогатого скота (КРС) 1-го и 2-го типов, чумы свиней и пограничной болезни овец (<http://ictvonline.org/virusTaxonomy.asp>). В обзоре представлена характеристика новой группы вирусов рода *Pestivirus* семейства *Flaviviridae*, выделенных в период с 2000 по 2014 годы от буйволов и крупного рогатого скота, а также из эмбриональной сыворотки, используемой для культивирования культур клеток и производства вакцин, которая была заготовлена в Австралии, Канаде, Мексике, Бразилии и Соединенных Штатах Америки и расфасована в Европе (Н. Schirgmeier с соавт., 2004; А. Cortez с соавт., 2006; Е. Bianchi с соавт., 2011; В. Rodrigues с соавт., 2011; Н. Xia с соавт., 2011; Н. Xia с соавт., 2012; S. Peletto с соавт., 2012). Вирус также обнаружен в Таиланде, Бангладеш и Китае (L. Liu с соавт., 2009; L. Мао с соавт., 2012; N. Haider с соавт., 2014). Сообщения о выделении агента в других странах Европы, Северной Америки, России, Индии и Австралии отсутствуют (F.V. Vauegmann с соавт., 2013). Широкое использование контаминированных биологических препаратов может приводить к проникновению этих вирусов в различные регионы континента, обуславливая их потенциальную эмерджентность для крупного рогатого скота. Штаммы вирусов, представленные цитопатогенным и нецитопатогенным биотипами, официально не классифицированы и имеют в литературе различные названия: третий тип вируса вирусной диареи — болезни слизистых оболочек крупного рогатого скота (ВД-БС КРС), атипичный пестивирус (НоBi-like), пятый тип рода *Pestivirus* (N. Decaro с соавт., 2012). На основании филогенетического анализа выделяют две генетических подгруппы: бразильскую и таиландскую, отличающиеся от прототипного члена рода — вируса ВД-БС КРС, но имеющие большое сходство в проявлении клинических признаков, а также в способности инфицировать плод у КРС и буйволов (F.V. Vauegmann с соавт., 2013). Спонтанная и экспериментальная инфекция КРС, вызванная НоBi-подобными вирусами, имеет большое сходство с ВД-БС КРС и проявляется в виде диареи, аборт, респираторного синдрома, персистентной инфекции (F.V. Vauegmann с соавт., 2013). Подобно возбудителю ВД-БС КРС, эти вирусы способны формировать стационарно неблагоприятные очаги (M.N. Weber с соавт., 2014). Открытие указанной группы вирусов требует критической оценки имеющихся диагностических средств и вакцин против ВД-БС КРС. На сегодняшний день тестов для выявления всех пестивирусов жвачных животных или антител к ним не существует. Затруднения их разработки обусловлены высокой вариабельностью вирусов этой группы. При лабораторной диагностике не следует полагаться на использование одного теста. Лучшим диагностическим подходом будет серологическое обследование стада, выявление персистентно инфицированных животных с выделением вируса и последующей молекулярной диагностикой (F.V. Vauegmann с соавт., 2013). НоBi-подобные вирусы могут оставаться незамеченными и, как предполагают, компрометировать эффективность программ контроля или эрадикации вирусной диареи, реализующиеся в некоторых странах Европы и США (K. Stahl с соавт., 2004; J.F. Ridpath, 2010).

Ключевые слова: пестивирусы, вирусная диарея-болезнь слизистых оболочек, атипичные вирусы, сиквенс, генетические подгруппы, фетальная сыворотка, буйволы, крупный рогатый скот, диагностика, программы контроля.

Тревожной особенностью последних десятилетий, характеризовавшихся практически неограниченным расширением международных торговых связей, стали участвовавшие вспышки атипичных вирусных инфекций,

обнаружение новых вирусов, измененных изолятов и квазитипов с подтвержденной или потенциальной эмерджентностью для животных, в том числе крупного рогатого скота. Для индустрии скотоводства они представляют реальную и серьезную угрозу в связи с тенденцией к быстрому распространению по регионам и континентам в условиях глобализации и международных поставок крупных партий животных.

Кроме того, к расширению ареала вирусов, в том числе нетипичных, может приводить использование в зоотехнии и ветеринарии включенных в унифицированные протоколы контаминированных биологических препаратов.

В этой связи представляют интерес вирусы семейства *Flaviviridae*, обладающие широким спектром облигатных хозяев и (вследствие большой мутагенной активности) способные преодолевать межвидовые барьеры и инфицировать гетерологичные виды животных.

Семейство объединяет несколько родов, из которых для сельскохозяйственных животных значение имеет род *Pestivirus*, включающий четыре вируса: вирусной диареи — болезни слизистых оболочек (ВД-БС) крупного рогатого скота (КРС) 1-го и 2-го типов, чумы свиней и пограничной болезни овец (<http://ictvonline.org/virusTaxonomy.asp>).

В последнее время обнаружены несколько новых видов. Так, вирус жирафа Н138 выделен от жирафа в Кении, вирус вилорога (Pronghorn virus) — от слепой вилорогой антилопы в США, вирус Bungowannah — от свиней в Австралии при вспышке мертворождаемости; описан НоВи-подобный (НоВи-like) вирус (1-5). Последний представляет наибольший интерес для эпизоотологов и вирусологов в связи с потенциальной эмерджентностью и сходством с вирусом ВД-БС. Существующие к настоящему времени штаммы этого вируса, представленные цитопатогенным и нецитопатогенным биотипами, выделены в отдельный вид, имеющий в литературе различные названия: атипичный пестивирус, 3-й тип вируса ВД-БС КРС (ВДКРС 3; BVDV3; НоВи-like), 5-й тип рода *Pestivirus* (6-9). Международный комитет по таксономии вирусов (International Committee on Taxonomy of Viruses, ICTV) до сих пор не принял их официальной классификации.

Особенности проявления пестивирусных инфекций на примере ВД-БС КРС. Болезни, вызываемые пестивирусами жвачных животных, в 90 % случаев протекают в виде острых субклинических или персистентных форм инфекции. Основное свойство вирусов этой группы — формирование иммуносупрессии, сопровождающейся лейкопенией, снижением пролиферации лимфоцитов, истощением лимфоидной ткани, понижением хемотаксиса и фагоцитарной активности, повышением выработки простагландина  $E_2$  и нарушением продукции провоспалительных цитокинов, которая носит транзитный (2-3 нед) в случае острых форм инфекции или длительный характер у персистентно инфицированных (ПИ) животных (10-13). К редким клиническим проявлениям острых форм болезни относятся поражения желудочно-кишечного, респираторного и репродуктивного трактов: диарея, лихорадка, лейкопения, выделения из носа и глаз, аборт в всех стадиях стельности, рождение ПИ телят. У ПИ животных регистрируется болезнь слизистых оболочек (14).

Вирус ВД-БС КРС считается прототипным членом рода *Pestivirus*. Болезнь, вызываемая им, распространена во всем мире. Инфицированность КРС составляет 60-85 % и зависит от региональных особенностей (1, 2, 12, 13, 15). Присутствие ПИ животных в стаде повышает этот показатель до 90 % и более. Экономический ущерб оценивается в 88 долларов на 1 животное (16).

Геном пестивирусов представлен односторонней (+)РНК размером 12,3 тыс. нуклеотидов. Он имеет одну открытую рамку считывания (open reading frame — ORF) длиной около 4000 кодонов, кодирующую 12 структурных и неструктурных полипептидов (N<sub>pro</sub>-С-E<sub>gns</sub>-E<sub>1</sub>-E<sub>2</sub>-p7-NS2/NS3-NS4A-NS4B-NS5A-NS5B) и фланкированную с 5'- и 3'-концов нетранслируемыми областями (untranslated regions — UTR) (5'-UTR и 3'-UTR) (17).

Вирус подвержен мутациям, вызванным ошибками РНК-зависимой РНК-полимеразы и рекомбинациями (17-20). Из-за частых мутаций при репликации РНК вирус существует в виде различающихся, но близкородственных мутантов (квазитипов), подвергающихся непрерывному отбору. В связи с этим патогенность штаммов заметно варьирует (10, 20).

Для видовой и родовой идентификации пестивирусов в настоящее время самым надежным критерием служит нуклеотидный сиквенс геномной РНК. Чаще всего исследуют 5'-нетранслируемый регион (5'-UTR) — высококонсервативную область, подходящую для амплификации, и ген N-терминальной аутопротеазы (N<sup>pro</sup>). Для филогенетического анализа дополнительно изучают участки генов E<sub>2</sub> (наиболее варибельный) и E<sup>gns</sup>. Необходимость исследования нескольких фрагментов связана с рекомбинациями генома (20-23).

Заболевание у крупного рогатого скота вызывают два вируса — ВД КРС 1 и ВД КРС 2. В настоящее время выделяют как минимум 15 субтипов ВД КРС 1 (от 1a до 1o) и по меньшей мере пять субтипов ВД КРС 2 (от 2a до 2e) (4, 17). Оба типа возбудителя вызывают одинаковую патологию у животных, но штаммы второго типа более вирулентны и встречаются реже (15, 24-27). Оба вируса представлены цитопатогенным (ЦП) и нецитопатогенным (НЦП) биотипами, причем преобладают НЦП (26, 27).

НоВи-подобные вирусы (атипичные пестивирусы). Первый штамм вируса НоВи (D32/00\_НоВи), в дальнейшем принятый за прототипный, был выделен в Швейцарии из фетальной сыворотки КРС, импортированной из Бразилии (7). После этого получили еще несколько изолятов: два — из фетальной сыворотки в Южной Америке, СН-Кахо/cont — из культуры клеток, Brz buf — из проб биоматериала буйвола, два — из абортированных плодов в Бразилии, Th/04\_Khonkaen — из сыворотки крови теленка в Таиланде (28). В Италии в 2010 году вирус выделили от телят во время вспышки респираторной болезни, а также при персистентной форме инфекции (29, 30). В Бразилии в 2014 году описан первый случай болезни, напоминающей болезнь слизистых при ВД-БС КРС с выделением ЦП штамма вируса от телят (31).

Эти вирусы также были обнаружены в фетальной сыворотке, которая расфасовывалась в Европе, а заготавливалась в Австралии, Канаде, Мексике и США. По некоторым данным, более 30 % партий эмбриональной сыворотки КРС, поставляемых в Европу из Южной Америки, загрязнены вирусом НоВи (9, 32). Повышение спроса на фетальную сыворотку КРС способствует проникновению вируса в различные регионы.

Болезнь зарегистрирована в Бангладеш (33). Сообщения о выделении вируса этой группы в других странах Европы, Северной Америки, России, Индии и Австралии отсутствуют.

Происхождение НоВи-подобных вирусов неизвестно. В настоящее время предложены две гипотезы. Согласно первой, они появились или исторически существовали в Южной Америке и были завезены в другие страны и на континенты с биологическими продуктами (фетальная сыворотка и вакцины). Другое объяснение состоит в том, что эти вирусы перешли к КРС от буйволов и адаптировались в результате множественных

межвидовых передач. Эта гипотеза объясняет присутствие вирусов в регионах, где существуют значительные популяции буйволов, таких как Бразилия и Таиланд (9).

Согласно результатам филогенетического анализа, все изоляты НоВи-подобных вирусов, выявленные к настоящему времени, очень схожи и группируются вместе. Учитывая высокую степень генетической изменчивости пестивирусов, выдвигается предположение, что возникновение НоВи-подобных вирусов в Южной Америке и последующее их распространение в другие регионы — достаточно недавнее событие с точки зрения эволюции. В то же время отличие изолята Th/04\_KhonKaen из Юго-Восточной Азии от других НоВи-подобных вирусов может указывать на независимую эволюцию не менее чем двух генетических подгрупп НоВи-подобных вирусов (бразильская и таиландская), что было подтверждено филогенетическим анализом штаммов (9, 28, 34).

Открытие этой группы вирусов требует критической оценки имеющихся диагностических средств и вакцин против ВД-БС КРС и других вирусных болезней. Поскольку диагностика НоВи-вирусной инфекции в большинстве стран не проводится, а доступные диагностические тесты недостаточно специфичны, эти вирусы могут оставаться незамеченными и, предположительно, существовать и в других странах. Ситуация усугубляется тем, что они, подобно возбудителю ВД-БС КРС, способны индуцировать персистентную инфекцию и формирование стационарно неблагоприятных очагов (35).

В стадах Бразилии, Италии и Таиланда, где эти вирусы, возможно, уже распространены, они могут быть причиной экономических потерь, связанных с клиническим проявлением инфекции, снижением продуктивности и иммунитета (независимо от циркуляции вируса ВД-БС КРС либо одновременно с ней).

НоВи-положительный статус стран может стать проблемой в международной торговле животными и полученными от них биопродуктами (сперма, эмбриональная сыворотка, эмбрионы) со странами, свободными от этих вирусов.

Поскольку НоВи-подобные вирусы были изолированы на нескольких континентах от многих видов жвачных животных и имеют тенденцию к глобальному распространению, они представляют наибольшую угрозу для индустрии скотоводства из всех новых пестивирусов, выделенных в 2000–2014 годы (9, 36).

Клиническое проявление при инфицировании НоВи-подобным вирусом. Спонтанная и экспериментальная инфекция КРС, вызванная НоВи-подобным вирусом, имеет большое сходство с таковой в случае ВД-БС КРС и проявляется в виде диареи, аборт, респираторного синдрома, персистентной инфекции (9).

*Случаи естественного заражения.* Первое свидетельство естественной инфекции вирусом бразильских буйволов было получено в 1990 году. В 2006 году описаны НоВи-подобные вирусы, выделенные из проб биоматериала от двух абортированных плодов в Юго-Восточной Бразилии (34). В этой же стране в 2011 году выявили три изолята вируса и секвенировали их геном. Изолят SV713/09 получен из образца спермы быка-производителя, после использования которой в стадах многократно рождались слепые телята. Изоляты SV241/10 и SV311/10 выделены из лейкоцитов буйволов и КРС с репродуктивными нарушениями в южной части страны. В Средне-западном регионе Бразилии выявлен НоВи-подобный вирус из селезенки теленка при желудочно-кишечном заболевании (6, 35).

При вспышке респираторного заболевания на юге Италии в 2009-2010 годах у телят 6-7-месячного возраста отмечали лихорадку (39,4-40,1 °С), кашель, серозно-слизистые выделения из носа, лейкопению, учащение пульса и дыхания. На вскрытии трупов двух павших животных выявили трахеит и бронхопневмонию, затрагивающую апикальные доли легких. Вирус был обнаружен с помощью количественной ОТ-ПЦР (ПЦР с обратной транскрипцией) в образцах биоматериала из носовой полости от шести телят, в легких павших животных и выделен из легких в культуре клеток почки телят MDBK (штаммы Italy-1/10-1 и Italy-1/10-2) (29).

При массовых абортах у крупного рогатого скота удалось выявить РНК и антиген вируса в тканях абортированных плодов. Результаты молекулярных исследований, проведенных с целью выявления других возможных этиологических агентов патологии, были отрицательными. Обнаруженный вирус проявил близкое родство с итальянским, австралийским и южноамериканским штаммами, но отличался от тайского (29, 37, 38).

Тайский изолят по участку гена, кодирующего гликопротеин  $E_2$ , и региону 5'-UTR проявил 99 % сходства с итальянским штаммом Italy-1/10-1. Титры соответствующих вируснейтрализующих антител были значительно выше, чем к вирусу ВД-БС КРС 1-го и 2-го типов. Нецитопатогенный НоВи-подобный вирус выделен из проб биоматериала от двух абортированных плодов. Кроме того, в этом же стаде выявлен первый ЦП изолят вируса, полученный из легких телки, которая пала в результате респираторной болезни (39).

M.N. Weber с соавт. в 2014 году описали клинические признаки, сходные с болезнью слизистых оболочек, вызванные НоВи-подобным вирусом у КРС в Бразилии (31). Сиквенс и филогенетический анализ регионов 5'-UTR,  $N^{pro}$  и  $E_2$  показали наличие циркуляции четырех различных штаммов вируса в стаде. Основные клинические признаки и поражения отмечали в органах респираторного и желудочно-кишечного трактов. Кроме того, регистрировали поражения кожи и помутнение роговицы. У одного теленка выявили симптомы болезни слизистых оболочек и выделили ЦП изолят вируса. В этой работе впервые описан случай заболевания, сходного с болезнью слизистых оболочек, который был связан с естественным инфицированием НоВи-подобным пестивирусом (31).

*Экспериментальная инфекция.* При введении штамма НоВи\_D32/00 телятам и свиньям отмечали развитие у них сероконверсии к вирусу без проявления клинических признаков. Кроме того, у телят регистрировали незначительное повышение температуры тела и лейкопению. Вирус выявляли в лейкоцитах на 5-е сут, и регистрировали его выделение с 3-х по 5-е сут после заражения (34).

Итальянский штамм (Italy-1/10-1) у телят 1-месячного возраста вызывал умеренную гипертермию, серозно-слизистые выделения из носа и лимфоцитопению, у ягнят — только носовые выделения и незначительную лимфоцитопению. Поросята на введение вируса клинически не реагировали. Отмечается, что у всех животных выявили сероконверсию к вирусу на 21-е сут после инфицирования, но титры специфических антител были выше у телят (40).

Сравнительное изучение патогенности тайского изолята и высоковирулентного штамма ВД-БС КРС показало, что заболевание, вызванное вирусом НоВи, протекало легче и выражалось в виде двустороннего конъюнктивита, серозно-слизистых выделений из носа и глаз, кашля, тромбоцитопении на 7-е сут, лимфоцитопении на 2-5-е сут, проходящей в физиологическую норму на 14-е сут после заражения (41).

Диагностические подходы в обнаружении НоВи-подобных вирусов. *Тестирование фетальной сыворотки.* Фетальная сыворотка телят широко используется при культивировании клеточных линий и часто бывает контаминирована пестивирусами. Для ее производства используется сыворотка, полученная от многих плодов. Увеличение числа плодов в коммерческой партии способствует риску включения в ее состав персистентно инфицированного плода. Даже при низкой контаминации вирусом использование такой сыворотки может привести к инфицированию культуры клеток и размножению в ней нецитопатогенного штамма. Для исключения контаминации необходимо разрабатывать и использовать антигенсвязывающие варианты ИФА (иммуноферментный анализ, enzyme-linked immunosorbent assay — ELISA), качественную и количественную ПЦР. Для установления распространения вируса нужно исследовать все серии фетальной сыворотки, а не только полученные из регионов, где были зафиксированы случаи инфекции вирусами этой группы (42-44).

Требуется разработка надежных, высокочувствительных тест-систем для проверки животных и продуктов животного происхождения на наличие вируса. Это особенно важно при международной торговле. В настоящее время диагностических тестов для выявления всех пестивирусов жвачных животных или антител к ним не существует. Затруднения их разработки обусловлены высокой вариабельностью вирусов указанной группы, следовательно, при лабораторной диагностике не следует полагаться на использование одного теста (9).

Антиген НоВи-подобного вируса или его геном можно обнаружить в лейкоцитах, сыворотке крови, носовых выделениях персистентно инфицированных животных. Для выделения вируса в соответствии со стандартными протоколами могут быть пригодны свободные от контаминации посторонним пестивирусом первичнотрипсинизированные и перевиваемые линии культур клеток носовой перегородки (М-17) и MDBK. На заключительном этапе лабораторных исследований рекомендуется проведение филогенетического анализа штаммов вирусов (9, 21, 45, 46).

*Идентификация зараженных животных.* Коммерческие наборы ИФА для обнаружения антител к вирусу ВД-БС КРС дают ложноотрицательный результат при тестировании проб сыворотки крови от телят, инфицированных НоВи-подобными вирусами. При сравнительном изучении штаммов вирусов ВД-БС 1, ВД-БС 2 и НоВи при помощи коммерческого набора ИФА и реакции нейтрализации с иммунными сыворотками установили более высокую степень перекрестных реакций между эпитопами протеинов E<sup>ms</sup> и NS2/3, чем гликопротеина E<sub>2</sub>. Эти результаты дают основание полагать, что диагностические тесты для выявления всех трех вирусов следует разрабатывать на основе эпитопов E<sup>ms</sup> и NS2/3, а вариабельность гена E<sub>2</sub> использовать для их дифференциации (18, 47).

Дополнительную проблему составляет срок, необходимый для достижения обнаруживаемых титров антител у инфицированных животных. Кроме того, с использованием этих наборов невозможно дифференцировать антитела к обоим вирусам между собой, а также иммунный ответ на оба вируса. Перспективной может быть реакция нейтрализации с использованием ЦП штаммов двух вирусов. Несмотря на то, что реакция нейтрализации длительна в постановке и учете, требует квалифицированного персонала и оснащенность лаборатории культурами клеток, в настоящее время это наиболее подходящий способ для обнаружения и(или) дифференциации животных, подвергшихся заражению BVDV и(или) НоВи-по-

добными вирусами. Тем не менее, требуется валидация метода.

Лучшим диагностическим подходом будет серологическое обследование стада, выявление ПИ животных с выделением вируса и последующей молекулярной диагностикой (9).

Атипичные пестивирусы и эффективность программ контроля ВД-БС КРС. Программы контроля или искоренения ВД КРС, реализующиеся в ряде стран, основаны на трех принципах: выявлении и удалении ПИ животных из стада; предупреждении ввода инфицированных животных в стадо и мониторинге; вакцинации, применение которой зависит от степени распространения болезни в конкретном регионе (48-50). Для успешного выполнения таких программ и поддержания свободного от ВД-БС статуса стада необходимо использование надежных диагностических тестов, способных дифференцировать персистентно и транзитно инфицированных животных, выявлять все квазитипы вируса.

Факт существования НоВи-подобных вирусов требует особого внимания. Они были выделены из коммерческих пулов сыворотки крови, используемой для культур клеток и производства биопрепаратов, и представляют опасность из-за возможного распространения в новых регионах, снижения эффективности вакцин и диагностикумов и, как следствие, программ искоренения ВД-БС КРС. Угрозой могут стать и животные, предназначенные для продажи.

Таким образом, способность инфицировать телят, тяжесть течения болезни, развитие респираторного дистресса, перемежающаяся лихорадка, лейкопения, лимфоцитопения, вызванные штаммами НоВи-подобных вирусов, свидетельствуют о значительном сходстве с признаками, описанными при типичной вирусной диарее — болезни слизистых оболочек крупного рогатого скота (ВД-БС КРС). Учитывая то, что все имеющиеся к настоящему времени штаммы НоВи-подобных вирусов выделены от КРС или буйволов (при отсутствии адаптации к другим видам животных в случае экспериментального заражения) предполагает их в качестве облигатных хозяев вируса. Эти новые, до конца не охарактеризованные пестивирусы могут отрицательно влиять на эффективность программ контроля и эрадикации ВД-БС КРС и представлять опасность как эмерджентные возбудители для КРС во всем мире. Присутствие НоВи-подобных и других пестивирусов у жвачных животных, в продуктах животного происхождения и биологических препаратах необходимо учитывать и контролировать.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Harasawa R., Giangaspero M., Iбата G., Paton D.J. Giraffe strain of pestivirus: its taxonomic status based on the 50-untranslated region. *Microbiol. Immunol.*, 2000, 44: 915-921 (doi: 10.1111/j.1348-0421.2000.tb02583.x).
2. Vilcek S., Ridpath J.F., Van Campen H., Cavender J.L., Warg J. Characterization of a novel pestivirus originating from a pronghorn antelope. *Virus Res.*, 2005, 108: 187-193 (doi: 10.1016/j.virusres.2004.09.010).
3. Kirkland P.D., Frost M.J., Finlaison D.S., King K.R., Ridpath J.F., Gu X. Identification of a novel virus in pigs — Bungowannah virus: a possible new species of pestivirus. *Virus Res.*, 2007, 129: 26-34 (doi: 10.1016/j.virusres.2007.05.002).
4. Giangaspero M., Apicellab C., Harasawa R. Numerical taxonomy of the genus *Pestivirus*: New software for genotyping based on the palindromic nucleotide substitutions method. *J. Virol. Methods*, 2013, 192: 59-67 (doi: 10.1016/j.jviromet.2013.04.023).
5. MacLachlan N.J., Dubovi E.J. *Flaviviridae*. In: Fenner's veterinary virology. 4<sup>th</sup> edition /N.J. MacLachlan, E.J. Dubovi (eds.). Academic Press, UK, 2011: 467-481.
6. Rodrigues W.B., Otonel R.A., Fritzen J.T. Natural infection of calf with an atypical bovine pestivirus (BVDV-3). In: Proc. XXII National Meeting of Virology & VI Mercosur Meeting of Virology (Atibaia, Brazil). *Virus Rev. Res.*, 2011, 16 (Suppl. 1): 74.
7. Schirrmeier H., Strebelow G., Depner K., Hoffmann B., Beer M. Genetic

- and antigenic characterization of an atypical pestivirus isolate, a putative member of a novel pestivirus species. *J. Gen. Virol.*, 2004, 85: 3647-3652 (doi: 10.1099/vir.0.80238-0).
8. Avalos-Ramirez R., Orlich M., Thiel H.-J., Becher P. Evidence for the presence of two novel Pestivirus species. *Virology*, 2001, 286: 456-465 (doi: 10.1006/viro.2001.1001).
  9. Bauermann F.V., Ridpath J.F., Weiblen R., Flores E.F. HoBi-like viruses: an emerging group of pestiviruses. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 2013, 25(1): 6-15 (doi: 10.1177/1040638712473103).
  10. Baker J.C. The clinical manifestations of bovine viral diarrhea virus infection. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*, 1995, 11: 425-445.
  11. Kahn C.M. Bovine viral diarrhea and mucosal disease complex in intestinal diseases in ruminants. *The Merck Vet.*, 2005, 9: 220.
  12. Ridpath J.F. Bovine viral diarrhea virus: global status. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*, 2010, 26: 105-121 (doi: 10.1016/j.cvfa.2009.10.007).
  13. Глотов А.Г., Петрова О.Г., Глотова Т.И., Нефедченко А.В., Татарчук А.Т., Котенева С.В., Ветров Г.В., Сергеев А.Н. Распространение вирусных респираторных болезней крупного рогатого скота. *Ветеринария*, 2002, 3: 17-21.
  14. Глотов А.Г., Келлинг К.Л. Вирусная диарея — болезнь слизистых оболочек КРС и стратегия ее контроля. *Российский ветеринарный журнал*, 2007, 12: 19-22.
  15. 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, 6: 13-18.
  16. Houe H. Epidemiological features and economical importance of bovine virus diarrhoea virus (BVDV) infections. *Vet. Microbiol.*, 1999, 64: 89-107 (doi: 10.1016/S0378-1135(98)00262-4).
  17. Giangaspero M., Harasawa R. Characterization of genotypes among bovine viral diarrhea virus type1 strains according to palindromic nucleotide substitutions in the genomic 5'-untranslated region. *J. Virol. Methods*, 2014, 195: 34-53 (doi: 10.1016/j.jviromet.2013.10.003).
  18. Tamura K., Peterson D., Peterson N., Stecher G., Nei M., Kumar S. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Mol. Biol. Evol.*, 2011, 28: 2731-2739 (doi: 10.1093/molbev/msr121).
  19. Thiel H.-J., Collett M.S., Gould E.A. Flaviviridae. In: *Virus taxonomy — eighth report of the International Committee on the Taxonomy of Viruses* /C.M. Fauquet, M.A. Mayo, J. Maniloff (eds.). San Diego, CA, 2005: 981-998.
  20. Liu L., Xia H., Wahlberg N., Belak S., Baule C. Phylogeny, classification and evolutionary insights into pestiviruses. *Virology*, 2009, 385: 351-357 (doi: 10.1016/j.virol.2008.12.004).
  21. Neill J.D., Bayles D.O., Ridpath J.F. Simultaneous rapid sequencing of multiple RNA virus genomes. *J. Virol. Methods*, 2014, 201: 68-72 (doi: 10.1016/j.jviromet.2014.02.016).
  22. Cortez A., Heinemann M.B., Castro A.M., Soares R.M., Pinto A.M., Alfieri A.A., Flores E.F., Leite R.C., Richtzenhain L.J. Genetic characterization of Brazilian bovine viral diarrhea virus isolates by partial nucleotide sequencing of the 5'-UTR region. *Pesq. Vet. Bras.*, 2006, 26: 211-216.
  23. Mao L., Li W., Zhang W., Yang L., Jiang J. Genome sequence of a novel Hobi-like pestivirus in China. *J. Virol.*, 2012, 86(22): 12444 (doi: 10.1128/JVI.02159-12).
  24. Ridpath J.F., Neill J.D., Vilcek S., Dubovi E.F., Carman S. Multiple outbreaks of severe acute BVDV in North America occurring between 1993 and 1995 linked to the same BVDV2 strain. *Vet. Microbiol.*, 2006, 114: 196-204 (doi: 10.1016/j.vetmic.2005.11.059).
  25. Южаков А.Г., Устинова Г.И., Глотов А.Г., Глотова Т.И., Нефедченко А.В., Кунгурцева О.В., Забережный А.Д., Алипер Т.И. Выделение на территории Российской Федерации нецитопатогенного изолята 2-го генотипа вируса диареи — болезни слизистых оболочек крупного рогатого скота. *Вопросы вирусологии*, 2009, 6: 43-47.
  26. Юров Г.К., Алексеенкова С.В., Диас Хименес К.А. Антигенные свойства нецитопатогенных штаммов вируса диареи-болезни слизистых крупного рогатого скота. *Российский ветеринарный журнал*, 2013, 2: 24-28.
  27. Vilcek Š., Đurkovi B., Kolesarova M., Greiser-Wilke I., Paton D. Genetic diversity of international bovine viral diarrhea virus (BVDV) isolates: Identification of a new BVDV-1 genetic group. *Vet. Res.*, 2004, 35: 609-615 (doi: 10.1051/vetres:2004036).
  28. Liu L., Kampa J., Belak S., Baule C. Virus recovery and full-length sequence analysis of atypical bovine pestivirus Th/04\_KhonKaen. *Vet. Microbiol.*, 2009, 138: 62-68 (doi: 10.1016/j.vetmic.2009.03.006).
  29. Decaro N., Lucente M.S., Mari V. Atypical pestivirus and severe respiratory disease in calves. *Europe. Emerg. Infect. Dis.*, 2011, 17: 1549-1552 (doi: 10.3201/eid1708.101447).
  30. Decaro N., Mari V., Pinto P. «Hobi»-like pestivirus: Both biotypes isolated from diseased animal. *J. Gen. Virol.*, 2012, 93: 1976-1983 (doi: 10.1099/vir.0.044552-0).
  31. Weber M.N., Mosena A.C., Simoes S.V., Almeida L.L., Pessoa C.R., Budaszewski R.F., Silva T.R., Ridpath J.F., Riet-Correa F., Driemeier D.,

- Can a C.W. Clinical presentation resembling mucosal disease associated with «HoBi»-like pestivirus in a field outbreak. *Transbound. Emerg. Dis.*, 2014 (doi: 10.1111/tbed.12223).
32. Xia H., Vijayaraghavan B., Belák S., Liu L. Detection and identification of the atypical bovine pestiviruses in commercial foetal bovine serum batches. *PLoS ONE*, 2011, 6(12): e28553 (doi: 10.1371/journal.pone.0028553).
  33. Haider N., Rahman M.S., Khan S.U., Mikolon A., Gurley E.S., Osmani M.G., Shanta I.S., Paul S.K., Macfarlane-Berry L., Islam A., Desmond J., Epstein J.H., Daszak P., Azim T., Luby S.P., Zeidner N., Rahman M.Z. Identification and epidemiology of a rare HoBi-like pestivirus strain in Bangladesh. *Transbound. Emerg. Dis.*, 2014 (doi: 10.1111/tbed.12218).
  34. Bianchi E., Martins M., Weiblen R. Perfil genotípico e antigênico de amostras do vírus da diarréia viral bovina isoladas no Rio Grande do Sul (2000-2010) [Genotypic and antigenic profile of bovine viral diarrhoea virus isolates from Rio Grande do Sul, Brazil (2000-2010)]. *Pesq. Vet. Bras.*, 2011, 31: 649-655.
  35. Peletto S., Zuccon F., Pitti M., Gobbi E., Marco L.D., Caramelli M., Masoero L., Acutis P.L. Detection and phylogenetic analysis of an atypical pestivirus, strain IZSPLV\_To. *Res. Vet. Sci.*, 2012, 92(1): 147-150 (doi: 10.1016/j.rvsc.2010.10.015).
  36. Jones K.E., Patel N.G., Levy M.A., Storeygard A., Balk D., Gittleman J.L., Daszak P. Global trends in emerging infectious diseases. *Nature*, 1999, 451: 990-993 (doi: 10.1038/nature06536).
  37. Decaro N., Lucente M.S., Mari V. Hobi-like pestivirus in aborted bovine fetuses. *J. Clin. Microbiol.*, 2012, 50: 509-512 (doi: 10.1128/JCM.05887-11).
  38. Decaro N., Sciarretta R., Lucente M.S. A nested PCR approach for unambiguous typing of pestiviruses infecting cattle. *Mol. Cell. Probes*, 2012, 26: 42-46 (doi: 10.1016/j.mcp.2011.11.003).
  39. Stehl K., Kampa J., Alenius S., Persson W.A., Baule C., Aiumlamai S., Belák S. Natural infection of cattle with an atypical «HoBi»-like estivirus — implications for BVD control and for the safety of biological products. *Vet. Res.*, 2004, 38: 517-523 (doi: 10.1051/vetres:2007012).
  40. Decaro N., Mari V., Lucente M.S. Experimental infection of cattle, sheep and pigs with «Hobi»-like pestivirus. *Vet. Microbiol.*, 2012, 155: 165-171 (doi: 10.1016/j.vetmic.2011.08.030).
  41. Larska M., Polak M.P., Riitho V. Kinetics of single and dual infection of calves with an Asian atypical bovine pestivirus and a highly virulent strain of bovine viral diarrhoea virus 1. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.*, 2012, 35: 381-390 (doi: 10.1016/j.cimid.2012.03.003).
  42. Kozas T., Aoki H., Nakajima N. Methods to select suitable fetal bovine serum for use in quality control assays for the detection of adventitious viruses from biological products. *Biologicals*, 2011, 39: 242-248 (doi: 10.1016/j.biologicals.2011.06.001).
  43. Liu L., Xia H., Belák S., Baule C. A TaqMan real-time RT-PCR assay for selective detection of atypical bovine pestiviruses in clinical samples and biological products. *J. Virol. Methods*, 2008, 154: 82-85 (doi: 10.1016/j.jviromet.2008.09.001).
  44. Xia H., Larska M., Giammarioli M., De Mia G.M., Cardeti G., Zhou W., Alenius S., Belák S., Liu L. Genetic detection and characterization of atypical bovine pestiviruses in foetal bovine sera claimed to be of Australian origin. *Transbound. Emerg. Dis.*, 2013, 60(3): 284-288 (doi: 10.1111/j.1865-1682.2012.01341.x).
  45. Sullivan D.G., Akkina R.K. A nested polymerase chain reaction assay to differentiate pestiviruses. *Virus Res.*, 1995, 38: 231-239 (doi: 10.1016/0168-1702(95)00065-X).
  46. Kim S.G., Dubovi E.J. A novel simple one-step single-tube RT-duplex PCR method with an internal control for detection of bovine viral diarrhoea virus in bulk milk, blood, and follicular fluid samples. *Biologicals*, 2003, 31: 103-106 (doi: 10.1016/S1045-1056(03)00023-x).
  47. Harasawa R., Giangaspero M. A novel method for pestivirus genotyping based on palindromic nucleotide substitutions in the 5'-untranslated region. *J. Virol. Methods*, 1998, 70: 225-230.
  48. Lindberg A., Brownlie J., Gunn G.J. The control of bovine viral diarrhoea virus in Europe: today and in the future. *Rev. Sci. Tech.*, 2006, 25: 961-979.
  49. Walz P.H., Grooms D.L., Passler T., Ridpath J.F., Tremblay R., Step D.L., Callan R.J., Givens M.D. Control of bovine viral diarrhoea virus in ruminants. *J. Vet. Intern. Med.*, 2010, 24: 476-486 (doi: 10.1111/j.1939-1676.2010.0502.x).
  50. Helal M.A., Okamoto H., Tajima M. Bovine viral diarrhoea virus infection in a dairy herd with high prevalence of persistently infected calves. *Jpn. J. Vet. Res.*, 2012, 60: 111-117.

*ФГБНУ Институт экспериментальной ветеринарии  
Сибири и Дальнего Востока,*

630501 Россия, Новосибирская обл., Новосибирский р-н,  
р.п. Краснообск, ИЭВСиДВ, а/я 8,  
e-mail: glotov\_vet@mail.ru, t-glотова@mail.ru

*Поступила в редакцию  
27 января 2015 года*

## ATYPICAL BOVINE PESTIVIRUSES (review)

A.G. Glotov, T.I. Glotova

Institute of Experimental Veterinary Science of Siberia and the Far East, Federal Agency of Scientific Organizations, pos. Krasnoobsk, Novosibirskii Region, Novosibirsk Province, 630501 Russia, e-mail glotov\_vet@mail.ru, t-glotova@mail.ru

Received January 27, 2015

doi: 10.15389/agrobiol.2015.4.399eng

### Abstract

Increasingly frequent outbreaks of atypical viral infections, detection of new viruses, modified isolates and quasitypes with a confirmed or potential emergence have become a worrying feature of the last decades characterized by extremely close international dealings. For the cattle industry, they pose real and serious threat because of a tendency to spread widely and quickly due to globalization and the use of standardized zootechnical and veterinary protocols. The *Flaviviridae* family comprises several genera of which the genus *Pestivirus*, including four viruses, i.e. the cattle viral diarrhea — mucosal disease (VD-MD) virus types 1 and 2, swine fever virus and sheep border disease virus, are important to farm animals (<http://ictvonline.org/virusTaxonomy.asp>). The characteristics of a new group of viruses genus *Pestivirus* of the *Flaviviridae* family, allocated in the period from 2000 to 2014 from the buffalo and cattle, as well as fetal calf serum used for cell cultures and vaccines production harvested in Australia, Canada, Mexico, Brazil and the United States and packaged in Europe (H. Schirmer et al., 2004; A. Cortez et al., 2006; E. Bianchi et al., 2011; B. Rodrigues et al., 2011; H. Xia et al., 2011; H. Xia et al., 2012; S. Peletto et al., 2012) are submitted in the review. The virus has been isolated in Thailand, Bangladesh and China (L. Liu et al., 2009; L. Mao et al., 2012; N. Haider et al., 2014). Messages on the isolation of the agent in other European countries, North America, Russia, India and Australia are absent (F.V. Bauermann et al., 2013). The widespread use of contaminated biological products can facilitate the penetration of the virus in different regions of continent causing their potential emergence for cattle. Strains of viruses presented cytopathic and noncytopathic biotypes not officially classified and have a variety titles in literature: a third type of viral diarrhea-mucosal disease in cattle (BVDV), an atypical pestivirus (HoBi-like), the fifth type of *Pestivirus* genus (N. Decaro et al., 2012). Based on phylogenetic analysis were identified two genetic groups: Brazilian and Thai, which differ from the prototype member of the genus - the BVD virus but having a great similarity in the manifestation of clinical signs, the ability to infect the foetus of cattle and buffalo (F.V. Bauermann et al., 2013). In cattle a spontaneous or experimental infection caused by HoBi-like virus is very similar to the cattle VD-MD and manifests as diarrhea, abortion, respiratory syndrome, persistent infection (F.V. Bauermann et al., 2013). The situation is aggravated by the fact that they like the BVDV are able to induce persistent infection and forms permanent epizootic foci (M.N. Weber et al., 2014). The discovery of this group of viruses requires a critical assessment of the diagnostic tools and vaccines against the BVDV. To date, there are no tests for the detection of ruminants' pestiviruses or their antibodies, particularly due to high variability of this virus group. That is why their laboratory diagnosis should not rely on the use of a single test. The best approach would be serological diagnosis of the herd followed by the identification of persistently infected animals, the virus isolation and molecular analysis (F.V. Bauermann et al., 2013). Given the lack of HoBi-like infection diagnostics, these viruses can remain unnoticed and, presumably, compromising the effectiveness of control or eradication programs of BVDV realized in certain European countries and the United States (K. Stehl et al., 2004; J.F. Ridpath, 2010).

Keywords: pestiviruses, viral diarrhea-mucosal disease, atypical viruses, sequencing, genetic subgroups, fetal serum, buffalo, molecular diagnostics, control programs.

---

### Научные собрания

#### IV НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ «ПТИЦЫ: СОДЕРЖАНИЕ, РАЗВЕДЕНИЕ, ВЕТЕРИНАРИЯ»

(28 сентября-2 октября 2015 года, Парк птиц, Калужская обл., Жуковский р-н, село Совхоз «Победа»)

**Организаторы:** Парк птиц «Воробы», Евроазиатская региональная ассоциация зоопарков и аквариумов (ЕАРАЗА)

**Тематика:** зоотехническая работа в орнитологических отделах зоопарков; репродуктивное поведение разных групп птиц в зоопарках и питомниках; ветеринарное обслуживание птиц в зоопарках, болезни птиц; роль зоопарков в сохранении редких видов животных.

**Контакты и информация:** <http://earaza.ru>, [earaza@mail.ru](mailto:earaza@mail.ru), [earazazoos@yandex.ru](mailto:earazazoos@yandex.ru)