

Ветеринарная вирусология

УДК 619:616.98:578.833.3(571.1/.5)

doi: 10.15389/agrobiologia.2018.6. 1238rus

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ ВОЗБУДИТЕЛЯ ВИРУСНОЙ ДИАРЕИ (БОЛЕЗНИ СЛИЗИСТЫХ ОБОЛОЧЕК) КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА НА МОЛОЧНЫХ КОМПЛЕКСАХ СИБИРИ**С.В. КОТЕНЕВА, А.В. НЕФЕДЧЕНКО, Т.И. ГЛОТОВА, А.Г. ГЛОТОВ**

Вирусная диарея (болезнь слизистых оболочек) крупного рогатого скота (ВД-БС КРС) распространена на территории Российской Федерации и наносит значительный экономический ущерб молочному скотоводству (особенно интенсивному), инфицированность в разных регионах достигает от 65 до 100 %. Заболевание вызывают два вида вируса — BVDV-1 и BVDV-2 (*Bovine viral diarrhoea virus*), причем второй считается более вирулентным. Существенную роль в поддержании стационарного неблагополучия хозяйств играют персистентно инфицированные (ПИ) животные, которые становятся постоянным эндогенным источником возбудителя в стаде. Кратковременными источниками возбудителя могут быть транзитно инфицированные (ТИ) животные, у которых болезнь протекает в острой форме. На основании мониторинга генетической структуры вирусов, циркулирующих в локальных популяциях скота, можно получить необходимые сведения об эволюции, географии и путях распространения патогена. Но объем таких работ в России недостаточен. Мы впервые провели филогенетический анализ двух типов вируса вирусной диареи, выделенных от животных иностранного и отечественного происхождения с различными клиническими проявлениями болезни, и установили преобладание BVDV-1b у ПИ и ТИ животных, а также циркуляцию BVDV-2b и BVDV-2c на молочных комплексах Сибири (BVDV-2b и BVDV-2c у животных иностранного и отечественного происхождения выявлены в России впервые). Генетический полиморфизм возбудителей ВД-БС КРС изучали на основе консервативной области генома (5'-UTR). Исследования проводили в 2006-2017 годах в пяти регионах Западной и Восточной Сибири (Тюменская, Новосибирская, Иркутская области, Красноярский край и Северный Казахстан) на семи молочных комплексах с поголовьем 800 и более дойных коров (среднегодовая продуктивность 7000-10000 л), где специфическая профилактика болезни не проводилась либо использовались инактивированные вакцины. Импортированный скот содержался преимущественно в Тюменской области и Республике Казахстан. Отбирали пробы биоматериала (кровь, сыворотка крови, выделения из носа, лимфоидные органы, легкие, вагинальные выделения) от клинически здоровых персистентно инфицированных животных, транзитно инфицированных животных с репродуктивными нарушениями и респираторным синдромом, а также абортированных плодов. Всего изучили 479 проб биоматериала. Молекулярные исследования проводили методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР). Было установлено, что на молочных комплексах среди ПИ и ТИ животных циркулируют вирусы ВД-БС КРС двух видов. Филогенетический анализ выявил семь субтипов BVDV-1 — 1a (5 %), 1b (35 %), 1c (5 %), 1d (10 %), 1f (20 %), 1i (5 %), 1r (5 %) и два субтипа BVDV-2 — 2b (10 %) и 2c (5 %). Преобладающим субтипом был BVDV-1b. Распространение субтипов имело географические различия. В Тюменской области выявили BVDV-1a, 1b, 1c, 1d, 1f, 1r, 2c; в Новосибирской — BVDV-1b, 1d, 1i, 2b; в Иркутской — 1f; в Красноярском крае — 1b, 1f; в Северном Казахстане — 1f. Мы установили следующую взаимосвязь между принадлежностью вирусов к субтипу и клиническими синдромами, вызываемыми ими: BVDV-1a — патология воспроизводства, 1b — ПИ животные, 1c, 1d, 1i, 1r — респираторная патология, 1f — ПИ животные и респираторная патология. BVDV-2b и 2c были обнаружены при патологии воспроизводства и системной инфекции. Сопоставление данных о происхождении животных с результатами филогенетических исследований может оказать помощь в определении источников, путей заноса возбудителей в тот или иной регион, а также в выявлении, отслеживании новых и высоковирулентных штаммов вирусов.

Ключевые слова: крупный рогатый скот, вирусная диарея (болезнь слизистых оболочек), субтипы, BVDV-1, BVDV-2, геном, полимеразная цепная реакция, 5'-нетранслируемый регион (5'-UTR), нуклеотидный сиквенс, молекулярная эпизоотология, филогенетический анализ.

Вирусная диарея (болезнь слизистых оболочек) крупного рогатого скота (ВД-БС КРС) распространена во всем мире (1), в том числе в России: инфицированность скота в разных регионах достигает 65-100 % (2-6). Значение этой инфекции в условиях интенсификации молочного и мясного животноводства возрастает. Ее наиболее экономически значимые последствия — репродуктивные нарушения и болезни респираторного тракта, по-

этому к инфицированию в большей степени чувствительны серонегативные телки случного возраста и телята до 6-месячного возраста (7-9). Стационарное неблагополучие хозяйств поддерживается из-за наличия персистентно инфицированных (ПИ) особей, которые становятся постоянным эндогенным источником возбудителя. Транзитно инфицированные (ТИ) животные, у которых болезнь протекает в острой форме, могут быть кратковременными источниками (1).

У КРС болезнь вызывают два генетически различающихся вида вируса — BVDV-1 и BVDV-2 (10), представленные цитопатогенным (ЦП) и нецитопатогенным (НЦП) биотипами (1, 11). Распространение видов и субтипов вируса имеет региональные особенности и зависит от характера ведения животноводства, плотности размещения, продуктивности, частоты ввода новых животных и других факторов (12). Первый вид вируса распространен во всем мире (1), но чаще обнаруживается в странах Европы. Наибольшее количество субтипов (до 21) выявлено у КРС в Италии (13) и Китае (14). BVDV-2 от КРС выделен в США (15), Канаде (16), Бразилии (17), Аргентине (18), Уругвае (19), Германии (20), Словакии (21), Италии (22), Южной Корее (23), Японии (24) и Монголии (25). Этот вид вируса, считающийся более вирулентным, подразделяется на шесть субтипов (2a-2f) (26) и преобладает в США и Канаде (до 50 % всех выделенных штаммов) (1). Для видовой дифференциации вируса используют метод нуклеотидного сиквенса геномной РНК с исследованием 5'-нетранслируемого региона (5'-UTR), подходящего для амплификации (28, 29). В России работы по филогенетическому анализу изолятов носят фрагментарный характер: установлено широкое распространение BVDV-1 среди КРС в Центральном регионе (30) и выявлены два антигенно различающихся штамма вируса (1m и 1a) в популяции лесных бизонов и домашнего скота (31).

Ранее мы определили основные половозрастные группы животных, наиболее подверженных риску инфицирования, которые могут использоваться как индикаторные и быть источником возбудителя в стаде (4).

В настоящей работе мы впервые провели филогенетический анализ двух типов вируса вирусной диареи (болезни слизистых оболочек), выделенных от животных иностранного и отечественного происхождения с различными клиническими проявлениями болезни, и установили преобладание BVDV-1b у ПИ и ТИ животных и циркуляции BVDV-2b и BVDV-2c на молочных комплексах Сибири.

Цель работы — изучение генетического полиморфизма возбудителей вирусной диареи (болезни слизистых оболочек) крупного рогатого скота, циркулирующих среди персистентно и транзитно инфицированных животных, в том числе импортируемых, на крупных молочных комплексах.

Методика. Исследования (2006-2017 годы) выполняли на семи молочных комплексах в Западной и Восточной Сибири (Тюменская, Новосибирская, Иркутская области, Красноярский край, Северный Казахстан) с поголовьем 800 и более дойных коров черно-пестрой породы (среднегодовая продуктивность 7000-10000 л и выше), где специфическую профилактику болезни не проводили или применяли инактивированные вакцины (4). Условия кормления и содержания соответствовали физиологическим и зоотехническим нормам.

Отбирали пробы биоматериала (кровь, сыворотка крови, выделения из носа, лимфоидные органы, легкие, вагинальные выделения) от клинически здоровых персистентно инфицированных животных, транзитно инфицированных животных с репродуктивными нарушениями и респираторным синдромом, а также абортированных плодов. Персистентную инфекцию диагностировали только при выявлении РНК вируса в парных

пробах сыворотки крови, отобранных с интервалом в 30 сут. Всего изучили 479 проб биоматериала.

Для выделения вирусной РНК и обратной транскрипции использовали коммерческие наборы «РИБО-сорб» и «Реверта-Л» («ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора», Россия).

РНК вируса в пробах биоматериала выявляли в полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) с использованием универсальных пар праймеров: 324 (sense) — 5'-ATGCCC(T/A)TAGTAGGAC-TAGCA-3', 326 (antisense) — 5'-TCAAТССАТGTGCCАТGTAC-3' (33), фланкирующих регион 5'-UTR с последующим филогенетическим анализом. Состав реакционной смеси (объем 30 мкл): 5 мкл кДНК; 1×Taq буфер без Mg²⁺ (ООО «Лаборатория Медиген», Россия), 0,4 мМ dNTP, 3,3 мМ MgCl₂, 0,15 пкМ каждого праймера, 1,5 IU SmartTaq ДНК-полимеразы, вода (до 30 мкл). Режим амплификации: 5 мин при 95 °С (1 цикл); 20 с при 95 °С, 30 с при 54 °С, 40 с при 72 °С (45 циклов); 7 мин при 72 °С (1 цикл). Продукты ПЦР анализировали методом электрофореза в 2 % агарозном геле в Трис-боратном буфере (рН 8,0) по стандартной методике.

Последовательность нуклеотидов в вирусном геноме определяли с использованием набора BigDye 3.1 («Applied Biosystems», США) при секвенировании по обеим цепям ДНК. Полученные нуклеотидные последовательности анализировали при помощи пакетов программ BioEdit 7.0.0 (<https://bioedit.software.informer.com>) и Lasergene 7.1.0 (<https://lasergene.software.informer.com>). Филогенетическую дендрограмму строили методом ближайшего соседа в программе MEGA 7.0 (<https://www.megasoftware.net/>). Топологию ветвей дендрограммы подтверждали методом бутстреп анализа (1000 шагов репликации) (13, 34). Нуклеотидные последовательности синтезируемых фрагментов анализировали методами выравнивания с последовательностями других штаммов BVDV-1, BVDV-2, опубликованными в GenBank (ТСИШ), используя программу ClustalW (35).

Результаты. РНК вируса обнаружили в 20 (4,17 % от числа исследованных) пробах, в том числе в 10 из Тюменской области, 6 — из Новосибирской, 1 — из Иркутской, 2 — из Красноярского края, 1 — из Северного Казахстана (табл.). Среди ПИ и ТИ животных установили циркуляцию двух видов вируса. Филогенетический анализ выявил семь субтипов BVDV-1: 1a (5 %), 1b (35 %), 1c (5 %), 1d (10 %), 1f (20 %), 1i (5 %), 1p (5 %). Вирус второго типа обнаружили в 15 % проб, из них BVDV-2b — в 10 %, BVDV-2c — в 5 %. Преобладающим субтипом был BVDV-1b (рис., размещен на сайте журнала <http://www.agrobiology.ru>).

Распространение субтипов имело некоторые географические различия. BVDV-1a выявили только в Тюменской области во внутренних органах абортированного плода. BVDV-1b, кроме Тюменской, присутствовал в Новосибирской области и Красноярском крае. В Красноярском крае он был выделен от животных местной породы, в Новосибирской области — от нетели, завезенной из Германии, и у местного скота, а в Тюменской области — от животных, завезенных из Голландии, США, Словении и Дании. Источником вируса были ПИ животные.

BVDV-1c обнаружили в Тюменской области в пробе сыворотки крови теленка с респираторной патологией, рожденного нетелью из Голландии, BVDV-1d — в Тюменской области в хозяйстве, куда завезли скот из Франции, а также в Новосибирской области у телят местной породы с респираторной патологией. BVDV-1f выявили в Северном Казахстане в сыворотке крови теленка с респираторной патологией, рожденного нетелью, завезенной из Германии, в Иркутской области в сыворотке крови коровы местной породы, в Красноярском крае в сыворотке крови коровы

Генетический полиморфизм возбудителей вирусной диареи (болезни слизистых оболочек) крупного рогатого скота, циркулирующих среди персистентно инфицированных животных на молочных комплексах Западной и Восточной Сибири

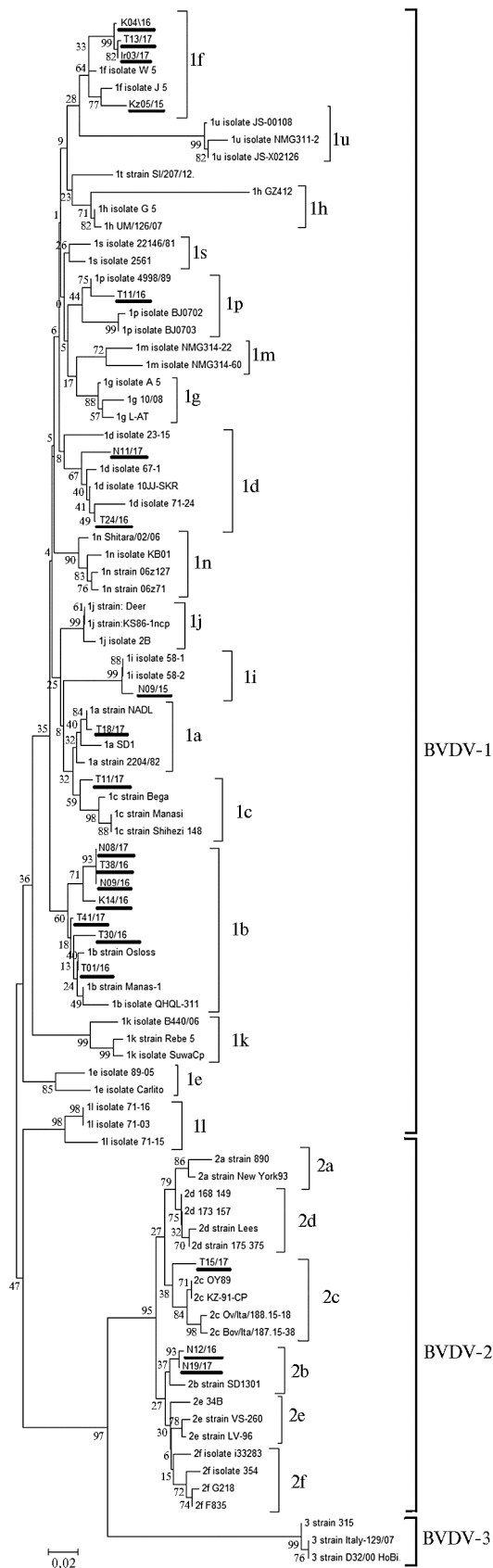
Название изолята	Тип/субтип (5'-UTR)	Регион	Источник вируса	Происхождение животных
N09/16	1b	Новосибирская область	Сыворотка крови коровы	Россия
N08/17	1b		Сыворотка крови нетели	Германия
T38/16	1b	Тюменская область	Сыворотка крови ПИ теленка	США
T11/16	1p		Кровь теленка	Германия
Kz05/15	1f	Северный Казахстан	Сыворотка крови теленка	Германия
N09/15	1i	Новосибирская область	Сыворотка крови теленка	Россия
Ir03/17	1f	Иркутская область	Сыворотка крови коровы	Россия
T13/17	1f	Тюменская область	Сыворотка крови нетели	Неизвестна
K04/16	1f	Красноярский край	Сыворотка крови коровы	Россия
K14/16	1b	Красноярский край	Сыворотка крови коровы	Россия
T11/17	1c	Тюменская область	Сыворотка крови теленка	Голландия
T15/17	2c		Внутренние органы абортрованного плода	США
T18/17	1a		Внутренние органы абортрованного плода	Австрия
T01/16	1b		Сыворотка крови теленка	Словения
T30/16	1b		Мезентериальные лимфоузлы теленка	Голландия
T41/17	1b		Внутренние органы ПИ нетели	Дания
T24/16	1d		Лимфоидные органы теленка	Франция
N19/17	2b	Новосибирская область	Внутренние органы мертворожденного теленка	Россия
N12/16	2b		Внутренние органы абортрованного плода	
N11/17	1d		Сыворотка крови теленка	

местной породы и в Тюменской области в сыворотке нетели неизвестного происхождения. BVDV-1i обнаружили в Новосибирской области в сыворотке крови теленка местной породы из неблагополучного по респираторным болезням хозяйства, BVDV1p — в Тюменской области в крови теленка с аналогичной патологией, полученного от нетели, завезенной из Германии. BVDV-2c выявили в Тюменской области во внутренних органах абортрованного плода от нетели, завезенной из США, BVDV-2b — в Новосибирской области во внутренних органах мертворожденного теленка и абортрованного плода местной породы

Известно, что пестивирусы благодаря строению своего генома обладают значительной мутационной активностью, которая выражается в постоянном увеличении генотипического и фенотипического многообразия штаммов, влияющего на вирулентность. Их роль в патологии животных до конца не изучена. Кроме того, полиморфизм вирусов затрудняет диагностику болезней и может снижать эффективность вакцинации (1, 12). Наиболее распространены BVDV-1a и BVDV-1b, их роль описана при различных формах болезни, и они, наряду с BVDV-2a, включены в состав коммерческих вакцин во всем мире (1). Сообщалось о выявлении BVDV-1f в Словении (36) и Австрии (33) у ПИ животных с высокой частотой. Спорадически этот субтип вируса выявляли в Италии (37) и Турции (38), но данные о клинических синдромах, вызываемых им, не представлены.

В нашей стране нет данных о выявлении различных субтипов BVDV-2 и их связи с клиническими формами проявления болезни. Ранее нами было установлено наличие вируса второго типа у животных с различной патологией, однако субтипирование провести не удалось (32). В настоящей работе нами впервые в России установлена циркуляция вируса субтипов BVDV-2b и BVDV-2c.

Согласно данным литературы, BVDV-2a и BVDV-2b признаны основными этиологическими агентами патологии воспроизводства и системной инфекции и распространены в основном в странах Северной и Южной



Филогенетическая дендрограмма, построенная на основе анализа последовательности участка 5'-нетранслируемой области (5'-UTR) генома у возбудителей вирусной диареи (болезни слизистых оболочек) крупного рогатого скота BVDV-1 и BVDV-2, выявленных в хозяйствах Сибири (2006-2017 годы). Выравнивание последовательностей методом ClustalW. Топология дерева восстановлена методом Neighbor-Joining. Матрица генетических расстояний рассчитана с применением метода минимальной эволюции. Внешняя группа — последовательности вируса BVDV-3. Около каждого узла дендрограммы указана бутстреп-поддержка. Исследованные изоляты выделены подчеркиванием. Для референтных штаммов указано название и номер в базе данных GenBank (NCBI).

Америки (1, 15, 16). Мы выявляли BVDV-2b во внутренних органах абортированного плода и мертворожденного теленка местной породы в Новосибирской области. BVDV-2c — редкий субтип вируса, обнаруженный в 2013-2014 годах в Германии (Северная Рейн-Вестфалия и Нижняя Саксония) при массовой вспышке ВД-БС у серонегативных животных. Он вызывал снижение молочной продуктивности у коров, лихорадку, респираторное заболевание и геморрагический энтерит у телят, нетелей и коров (40, 41). В 2016 году установлена его циркуляция среди мелких жвачных животных в Южной Италии (42).

Мы проводили исследование в хозяйствах, где осуществлялся ввоз новых животных из разных источников, в том числе из-за рубежа. Наши результаты показали, что разнообразие видов и субтипов вируса достаточно велико. В предыдущей работе среди местного и завозного скота при острых вспышках болезни ВД-БС КРС мы выявили циркуляцию 6 субтипов BVDV-1 (a, b, c, g, p, k) и BVDV-2 без дифференциации на субтипы (32). В настоящем исследовании подтверждена циркуляция и преобла-

дание BVDV-1b у ПИ и ТИ животных. Кроме того, обнаружены три новых субтипа вируса первого типа (BVDV-1d, BVDV-1f и BVDV-1i), а также циркуляция новых субтипов BVDV-2b и BVDV-2c, ранее не выявленных в России. Нужно осторожно относиться к факту обнаружения их на территории нашей страны, учитывать потенциальную патогенность и отсутствие в составе коммерческих вакцин.

Поскольку в России меняется стратегия ведения животноводства и возрастает количество молочных мега-ферм, на которые из многих источников поступают животные с разным инфекционным статусом, изучение генетического полиморфизма вируса становится все более актуальным. Сопоставление данных о происхождении животных с результатами филогенетических исследований может помочь в определении источников, путей заноса возбудителей в тот или иной регион, а также в выявлении, отслеживании новых и высоковирулентных штаммов вирусов. Это особенно важно при вакцинации животных, когда генетические профили вакцинных штаммов и вирусов, циркулирующих на конкретной территории, не совпадают (29). В настоящее время в России применяются в основном инактивированные и живые вакцины на основе штаммы субтипов 1a, 1b и 2a (1, 12). В некоторых случаях генетический профиль вакцинных штаммов может не полностью соответствовать генетическому спектру пестивирусов, циркулирующих в конкретной стране или регионе. Выявленное нами генетическое многообразие вирусов вирусной диареи способно снижать эффективность специфической профилактики болезни. Кроме этого, для формирования стационарного неблагополучия по ВД-БС КРС и непрерывного эпизоотического процесса важное значение имеет замкнутый цикл мать—теленки. Это приводит к рождению персистентно инфицированного потомства, которое становится постоянным эндогенным источником вируса в стаде, что снижает эффективность специфической профилактики. Поэтому вакцинация будет более эффективной при условии полного удаления ПИ животных из стада (1, 4).

Таким образом, на молочных комплексах Сибири среди персистентно и транзитно инфицированных животных циркулируют возбудители вирусной диареи (болезни слизистых оболочек) крупного рогатого скота двух видов. Филогенетический анализ выявил семь субтипов BVDV-1 — 1a (5 %), 1b (35 %), 1c (5 %), 1d (10 %), 1f (20 %), 1i (5 %), 1r (5 %) и два субтипа BVDV-2 — 2b (10 %) и 2c (5 %). Преобладающим субтипом был BVDV-1b. Впервые на территории России установлена циркуляция BVDV-2b и BVDV-2c среди животных иностранного и отечественного происхождения, а также выявлена взаимосвязь между принадлежностью вирусов к субтипу и клиническими синдромами, вызываемыми ими: BVDV-1a — патология воспроизводства, 1b — персистентно инфицированные животные, 1c, 1d, 1i, 1r — респираторная патология, 1f — ПИ животные и респираторная патология, BVDV-2b и 2c — патологии воспроизводства и системная инфекция животных. Полученные нами данные могут быть полезны при изучении молекулярной эпизоотологии вирусов, разработке более точных диагностических тестов, охватывающих разнообразные генетические варианты, создании вакцин, а также для повышения эффективности программ контроля инфекции.

*ФГБУН Сибирский федеральный научный центр
агробиотехнологий Российской академии наук
(СФНЦА РАН),
Институт экспериментальной ветеринарии
Сибири и Дальнего Востока,*

*Поступила в редакцию
14 июня 2018 года*

GENETIC POLYMORPHISM OF THE BOVINE VIRAL DIARRHEA VIRUSES IN BIG DAIRY FARMS IN SIBERIA

S.V. Koteneva, A.V. Nefedchenko, T.I. Glotova, A.G. Glotov

Siberian Federal Scientific Centre of Agro-BioTechnologies RAS, Institute of Experimental Veterinary Medicine of Siberia and the Far East, p/b 463, p. Krasnoobsk, Novosibirsk Region, Novosibirsk Province, 630501 Russia, e-mail koteneva-sv@mail.ru, homeovet@narod.ru, t-glotova@mail.ru (✉ corresponding author), glotov_vet@mail.ru

ORCID:

Koteneva S.V. orcid.org/0000-0003-2649-7505

Glotova T.I. orcid.org/0000-0003-3538-8749

Nefedchenko A.V. orcid.org/0000-0002-4181-4268

Glotov A.G. orcid.org/0000-0002-2006-0196

The authors declare no conflict of interests

Received June 14, 2018

doi: 10.15389/agrobiology.2018.6.1238eng

Abstract

Bovine viral diarrhea is a widespread disease in the Russian Federation and causes significant economic damage to dairy cattle, especially under intensive commercial farming. The seropositivity of livestock in various Russian regions reaches 65-100 %. The disease is caused by two different virus species, BVDV-1 and BVDV-2, of which the latter is considered more virulent. The persistently infected (PI) animals which are a constant endogenous source of the virus in the herd play a major role in maintaining the stationary trouble of the farms. Short-term sources of the pathogen are transitively infected (TI) animals in which disease proceeds in acute form. Genetic structure of viruses circulating in local livestock populations gives necessary information about the evolution, geography and pathways of the pathogen. However, studies on the genetic polymorphism of viruses in Russia are not enough. This paper is the first to report on a phylogenetic analysis of two types of viral diarrhea virus, isolated from animals of foreign and domestic origin with different clinical manifestations of the disease. These data show the prevalence of BVDV-1b in PI and TI animals, as well as BVDV-2b and BVDV-2c circulation among Siberian dairy complexes (note, BVDV-2b and BVDV-2c in animals of foreign and domestic origin are detected in Russia for the first time). Phylogenetic analysis of viruses circulating among PI and TI of highly productive dairy cattle was based on a comparison of conserved region of viral genome (5'-UTR) using reverse transcriptase PCR (RT-PCR) method. Studies were conducted in five regions of Western and Eastern Siberia: Tyumen, Novosibirsk, Irkutsk regions, the Krasnoyarsk Territory and Northern Kazakhstan on big dairy farms with a population of 800 or more milking cows with an average annual productivity of 7,000-10,000 liters, where at the time of the research vaccination was not carried out or inactivated vaccines were used. The imported livestock was kept mainly in the Tyumen region and the Republic of Kazakhstan. Biomaterial (blood, serum, nasal discharge, lymphoid organs, lungs, vaginal discharges) was collected from clinically healthy persistently infected animals, transitively infected animals with reproductive disorders and respiratory syndrome, as well as aborted fetuses. A total of 479 samples were examined. According to our findings, two BVDV species circulate among the PI and TI animals on the big dairy farms. The phylogenetic analysis reveals seven subtypes of BVDV-1, i.e. 1a (5 %), 1b (35 %), 1c (5 %), 1d (10 %), 1f (20 %), 1i (5 %), 1p (5 %) and two subtypes of BVDV-2, i.e. 2b (10 %) and 2c (5 %). Taking into account the fact that the strategy of livestock breeding is changing in Russia, the number of dairy mega farms" is increasing, which receive animals with different infectious status from many sources. Thence, the study of the genetic polymorphism of the virus is topical. Comparison of data on the origin of animals with the results of phylogenetic analyses can help in determination of the sources and ways of bringing pathogens into a particular region and in identifying new and highly virulent strains of viruses. This is especially important during the implementation of vaccination programs for animals when the genetic profiles of vaccine strains do not coincide with the profiles of viruses circulating among animals in a particular area.

Keywords: cattle, bovine viral diarrhea, subtypes, BVDV-1, BVDV-2, genome, polymerase chain reaction, 5'-nontranslated region (5'-UTR), nucleotide sequence, molecular epidemiology, phylogenetical analysis.

REFERENCES

1. Ridpath J.F. Bovine viral diarrhea virus: global status. *Vet. Clin. N. Am.-Food A.*, 2010, 2(5):

- 105-121 (doi: 10.1016/j.cvfa.2009.10.007).
2. Verkhovskaya A.E., Sergeev V.A., Aliper T.I., Ivanov E.V. *Veterinariya*, 2009, 8: 3-7 (in Russ.).
 3. Glotov A.G., Glotova T.I., Petrova O.G., Nefedchenko A.V., Tatarchuk A.T., Koteneva S.V., Vetrov G.V., Sergeev A.N. *Veterinariya*, 2002, 3: 17-21 (in Russ.).
 4. Glotov A.G., Glotova T.I., Semenova O.V., Koteneva S.V., Nikonova A.A. The bovine viral diarrhoea indicators in the cattle on the big dairy farms in Siberia. *Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya [Agricultural Biology]*, 2016, 51(4): 483-490 (doi: 10.15389/agrobiology.2016.4.483rus).
 5. Shilova E.N., Ryaposova M.V., Shkuratova I.A., Vyalykh E.V. *Veterinariya*, 2014, 5: 19-21 (in Russ.).
 6. Yurov G.K., Alekseeva S.V., Dias Khimenes K.A., Neustroev M.P., Yurov K.P. *Rossiiskii veterinarnyi zhurnal. Sel'skokhozyaistvennye zhivotnye*, 2013, 2: 24-26 (in Russ.).
 7. Chernykh O.Yu., Shevchenko A.A., Dzhailidi G.A., Mishchenko V.A., Mishchenko A.V., Shevkopyas V.N. *Trudy Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta*, 2016, 58: 194-198 (in Russ.).
 8. Glotov A.G., Glotova T.I. *Veterinariya*, 2017, 6: 3-12 (in Russ.).
 9. Baker J.C. The clinical manifestations of bovine viral diarrhoea infection. *Vet. Clin. N. Am.-Food A.*, 1995, 11(3): 425-445 (doi: 10.1016/S0749-0720(15)30460-6).
 10. Vilček Š., Đurković B., Kolesarová M., Greiser-Wilke I., Paton D. Genetic diversity of international bovine viral diarrhoea virus (BVDV) isolates: Identification of a new BVDV-1 genetic group. *Vet. Res.*, 2004, 35(5): 609-615 (doi: 10.1051/vetres:2004036).
 11. Ridpath J.F. Bovine viral diarrhoea virus. In: *Encyclopedia of virology*. B.W.J. Mahy, M.H.V. van Regenmortel (eds.). Elsevier, Oxford (UK), 2008: 374-380.
 12. Yesilbag K., Alpay G., Becher P. Variability and global distribution of subgenotypes of bovine viral diarrhoea virus. *Viruses*, 2017, 9(6): 128 (doi: 10.3390/v9060128).
 13. Giammarioli M., Ceglie L., Rossi E., Bazzucchi M., Casciari C., Petrini S., De Mia G.M. Increased genetic diversity of BVDV-1: recent findings and implications thereof. *Virus Genes*, 2015, 50(1): 147-151 (doi: 10.1007/s11262-014-1132-2).
 14. Deng M., Ji S., Fei W., Raza S., He C., Chen Y., Chen H., Guo A. Correction: Prevalence study and genetic typing of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) in four bovine species in China. *PLoS ONE*, 2015, 10(7): e0134777 (doi: 10.1371/journal.pone.0134777).
 15. Evermann J.F., Ridpath J.F. Clinical and epidemiologic observations of bovine viral diarrhoea virus in the northwestern United States. *Vet. Microbiol.*, 2002, 89(2-3): 129-139 (doi: 10.1016/S0378-1135(02)00178-5).
 16. Carman S., Van Dreumel T., Ridpath J., Hazlett M., Alves D., Dubovi E., Tremblay R., Bolin S., Godkin A., Anderson N. Severe acute bovine viral diarrhoea in Ontario, 1993-1995. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 1998, 10(1): 27-35 (doi: 10.1177/104063879801000106).
 17. Silveira S., Weber M.N., Mysena A.C., Da Silva M.S., Streck A.F., Pescador C.A., Flores E.F., Weiblen R., Driemeier D., Ridpath J.F., Canal C.W. Genetic diversity of Brazilian bovine pestiviruses detected between 1995 and 2014. *Transbound. Emerg. Dis.*, 2017, 64(2): 613-623 (doi: 10.1111/tbde.12427).
 18. Pecora A., Malacari D.A., Ridpath J.F., Perez Aguirreburualde M.S., Combessies G., Odeón A.C., Romera S.A., Golemba M.D., Wigdorovitz A. First finding of genetic and antigenic diversity in 1b-BVDV isolates from Argentina. *Res. Vet. Sci.*, 2014, 96(1): 204-212 (doi: 10.1016/j.rvsc.2013.11.004).
 19. Maya L., Puentes R., Reolyn E., Acuca P., Riet F., Rivero R., Cristina J., Colina R. Molecular diversity of bovine viral diarrhoea virus in Uruguay. *Arch. Virol.*, 2016, 161(3): 529-535 (doi: 10.1007/s00705-015-2688-4).
 20. Tajima M., Frey H.R., Yamato O., Maede Y., Moennig V., Scholz H., Greiser-Wilke I. Prevalence of genotypes 1 and 2 of bovine viral diarrhoea virus in Lower Saxony, Germany. *Virus Res.*, 2001, 76(1): 31-42 (doi: 10.1016/S0168-1702(01)00244-1).
 21. Nováčková M., Jacková A., Kolesárová M., Vilček S. Genetic analysis of a bovine viral diarrhoea virus 2 isolate from Slovakia. *Acta Virol.*, 2008, 52(3): 161-166.
 22. Luzzago C., Lauzi S., Ebranati E., Giammarioli M., Moreno A., Cannella V., Masoero L., Canelli E., Guercio A., Caruso C., Ciccozzi M., De Mia G.M., Acutis P.L., Zehender G., Peletto S. Extended genetic diversity of bovine viral diarrhoea virus and frequency of genotypes and subtypes in cattle in Italy between 1995 and 2013. *Biomed. Res. Int.*, 2014, 2014: 147-145 (doi: 10.1155/2014/147145).
 23. Oem J.K., Hyun B.H., Cha S.H., Lee K.K., Kim S.H., Kim H.R., Park C.K., Joo Y.S. Phylogenetic analysis and characterization of Korean bovine viral diarrhoea viruses. *Vet. Microbiol.*, 2009, 139(3-4): 356-360 (doi: 10.1016/j.vetmic.2009.06.017).
 24. Yamamoto T., Kozasa T., Aoki H., Sekiguchi H., Morino S., Nakamura S. Genomic analyses of bovine viral diarrhoea viruses isolated from cattle imported into Japan between 1991 and 2005. *Vet. Microbiol.*, 2008, 127(3-4): 386-391 (doi: 10.1016/j.vetmic.2007.08.020).
 25. Ochirkhuu N., Konnai S., Odbileg R., Odzaya B., Gansukh S., Murata S., Ohashi K. Molecular detection and characterization of bovine viral diarrhoea virus in Mongolian cattle and yaks. *Arch. Virol.*, 2016, 161(8): 2279-2283 (doi: 10.1007/s00705-016-2890-z).

26. Giangaspero M., Apicellab S., Harasawa R. Numerical taxonomy of the genus Pestivirus: New software for genotyping based on the palindromic nucleotide substitutions method. *J. Virol. Methods*, 2013, 192(1-2): 59-67 (doi: 10.1016/j.jviromet.2013.04.023).
27. Schweizer M., Peterhans E. Pestiviruses. *Annu. Rev. Anim. Biosci.*, 2014, 2: 141-163 (doi: 10.1146/annurev-animal-022513-114209).
28. Simmonds P., Becher P., Collett M.S., Gould E.A., Heinz F.X., Meyers G., Monath T., Pletnev A., Rice C.M., Stiasny K., Thiel H.-J., Weiner A., Bukh J. Family *Flaviviridae*. In: *Virus taxonomy: Ninth report of the international committee on taxonomy of viruses*. A.M.Q. King, M.J. Adams, E.B. Carstens, E.J. Lefkowitz (eds.). Elsevier Academic Press, San Diego, 2011: 1003-1020.
29. Vilček S., Durkovic B., Kolesarova M., Paton D.J. Genetic diversity of BVDV: consequences for classification and molecular epidemiology. *Prev. Vet. Med.*, 2005, 72(1-2): 31-35 (doi: 10.1016/j.prevetmed.2005.08.004).
30. Shul'pin M.I., Ayanot P.K., Mishchenko V.A. *Voprosy virusologii*, 2003, 5: 41-46 (in Russ.).
31. Yurov G.K., Alekseenkova S.V., Dias Khimenes K.A., Neustroev M.P., Yurov K.P. *Rossiiskii veterinarnyi zhurnal. Sel'skokhozyaistvennye zhivotnye*, 2013, 2: 24-26 (in Russ.).
32. Glotov A.G., Koteneva S.V., Glotova T.I., Tregubchak T.V., Maksyutov R.A. *Veterinariya*, 2017, 12: 14-20 (in Russ.).
33. Vilček S., Herring A.J., Herring J.A., Nettleton P.F., Lowings J.P., Paton D.J. Pestiviruses isolated from pigs, cattle and sheep can be allocated into at least three genogroups using polymerase chain reaction and restriction endonuclease analysis. *Arch. Virol.*, 1994, 136(3-4): 309-323 (doi: 10.1007/BF01321060).
34. Kumar S., Stecher G., Tamura K. MEGA 7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Mol. Biol. Evol.*, 2016, 33: 1870-1874 (doi: 10.1093/molbev/msw054).
35. Felsenstein J. Phylogenies and the comparative method. *The American Naturalist*, 1985, 125(1): 1-15 (doi: 10.1086/284325).
36. Toplak I., Sandvik T., Barlič-Maganja D., Grom J., Paton D.J. Genetic typing of bovine viral diarrhoea virus: most Slovenian isolates are of genotypes 1d and 1f. *Vet. Microbiol.*, 2004, 99: 175-185 (doi: 10.1016/j.vetmic.2003.12.004).
37. Giammarioli M., Pellegrini C., Casciari C., Rossi E., De Mia G.M. Genetic diversity of bovine viral diarrhoea virus 1: Italian isolates clustered in at least seven subgenotypes. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 2008, 20(6): 783-388 (doi: 10.1177/104063870802000611).
38. Yeşilbağ K., Förster C., Bank-Wolf B., Yilmaz Z., Alkan F., Ozkul A., Burgu I., Rosales S.C., Thiel H.J., König M. Genetic heterogeneity of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) isolates from Turkey: identification of a new subgroup in BVDV-1. *Vet. Microbiol.*, 2008, 130(3-4): 258-267 (doi: 10.1016/j.vetmic.2008.01.016).
39. Yeşilbağ K., Förster C., Ozyiğit M. Alpay G., Tuncer P., Thiel H.J., König M. Characterization of bovine viral diarrhoea virus BVDV isolates from an outbreak with hemorrhagic enteritis and severe pneumonia. *Vet. Microbiol.*, 2014, 169: 42-49 (doi: 10.1016/j.vetmic.2013.12.005).
40. Jenckel M., Hoper D., Schirmeier H., Reimann I., Goller K.V., Hoffmann B., Beer M., Mixed triple: allied viruses in unique recent isolates of highly virulent type 2 bovine viral diarrhoea virus detected by deep sequencing. *J. Virol.*, 2014, 88: 6983-6992 (doi: 10.1128/JVI.00620-14).
41. Gethmann J., Homeier T., Holsteg M., Schirmeier H., Saßerath M., Hoffmann B., Beer M., Conraths F.J. BVD-2 outbreak leads to high losses in cattle farms in Western Germany. *Heliyon*, 2015, 1(1): e00019 (doi: 10.1016/j.heliyon.2015.e00019).
42. Decaro N., Lucente M.S., Lanave G., Gargano P., Larocca V., Losurdo M., Ciambrone L., Marino P.A., Parisi A., Casalnuovo F., Buonavoglia C., Elia G. Evidence for circulation of bovine viral diarrhoea virus type 2c in ruminants in Southern Italy. *Transbound. Emerg. Dis.*, 2017, 64(6): 1935-1944 (doi: 10.1111/tbed.12592).