

УДК 619:616.578.242

Научная статья



Открытый доступ

DOI: 10.32634/0869-8155-2025-391-02-61-66

А.Г. Галеева^{1,2} ✉А.Р. Ахунова¹Н.И. Хаммадов¹Д.А. Сорокина¹А.И. Яруллин¹А.М. Хафизова¹Ришат С. Мухаммадиев¹Ринат С. Мухаммадиев¹И.Г. Каримуллина¹

¹Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности, Казань, Россия

²Казанская государственная академия ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана, Казань, Россия

✉ antonina-95@yandex.ru

Поступила в редакцию: 28.10.2024

Одобрена после рецензирования: 15.01.2025

Принята к публикации: 30.01.2025

© Галеева А.Г., Ахунова А.Р., Хаммадов Н.И., Сорокина Д.А., Яруллин А.И., Хафизова А.М., Мухаммадиев Ришат С., Мухаммадиев Ринат С., Каримуллина И.Г.

Research article



Open access

DOI: 10.32634/0869-8155-2025-391-02-61-66

Antonina G. Galeeva^{1,2} ✉Alsu R. Akhunova¹Nail I. Khammatov¹Diana A. Sorokina¹Ainur I. Yarullin¹Alsu M. Khafizova¹Rishat S. Mukhammadiyev¹Rinat S. Mukhammadiyev¹Ilsiyar G. Karimullina¹

¹Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety, Kazan, Russia

²Kazan state academy of veterinary medicine named after N.E. Bauman, Kazan, Russia

✉ antonina-95@yandex.ru

Received by the editorial office: 28.10.2024

Accepted in revised: 15.01.2025

Accepted for publication: 30.01.2025

© Galeeva A.G., Akhunova A.R., Khammatov N.I., Sorokina D.A., Yarullin A.I., Khafizova A.M., Mukhammadiyev Rishat S., Mukhammadiyev Rinat S., Karimullina I.G.

Идентификация вариантов вируса вирусной диареи крупного рогатого скота — контаминантов производственных клеточных линий

РЕЗЮМЕ

Актуальность. Контаминация вирусом ВД КРС остается постоянной угрозой качеству биологических продуктов. Наиболее распространенным фактором контаминации являются эмбриональные бычьи сыворотки — основной фактор поддержки роста при культивировании клеточных линий, применение которых делает риск распространения вируса ВД КРС практически неизбежным.

Цель исследования — идентификация вариантов вируса вирусной диареи крупного рогатого скота — контаминантов производственных клеточных линий.

Методы. Использовались клеточные линии MDBK, BHK-21/13-02, PK-15, Vero и производственные штаммы вируса ВД КРС NADL, BK-1. Для амплификации целевых участков вирусного генома применяли олигонуклеотидные праймеры, фланкирующие высококонсервативную нетранслируемую область 5'UTR длиной 289 п. н. Сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей, установленных методом секвенирования, проводился с применением стандартных методов молекулярной филогенетики.

Результаты. Факт хронической инфекции нецитопатогенным вирусом ВД КРС был подтвержден в отношении клеточных линий MDBK, BHK-21/13-02, PK-15. По результатам секвенирования контаминирующие варианты вируса были идентифицированы как представители субгенотипа 1a. Филогенетический анализ выявил их значительное сходство между собой и рядом штаммов, выделенных от персистентно инфицированных лам, альпак и косуль с идентичностью 96,8–99,2%. Представленные данные демонстрируют необходимость постоянного проведения подобных скринингов, что позволит повысить качество технологического сырья, используемого для производства биологических продуктов, а также усовершенствовать существующие средства серологической диагностики инфекций, вызываемых представителями рода *Pestivirus*.

Ключевые слова: вирусная диарея, крупный рогатый скот, контаминация культур клеток, секвенирование по Сэнгеру, 5'-UTR, классическая чума свиней

Для цитирования: Галеева А.Г. и др. Идентификация вариантов вируса вирусной диареи крупного рогатого скота — контаминантов производственных клеточных линий. *Аграрная наука*. 2025; 391(02): 61–66.

<https://doi.org/10.32634/0869-8155-2025-391-02-61-66>

Identification of bovine viral diarrhea virus variants — contaminants of industrial cell lines

ABSTRACT

Relevance. Contamination with bovine BVDV virus remains a threat to the quality of biological products. The most common factor of contamination is fetal bovine serum, the main factor supporting growth when cultivating cell lines, the use of which makes the risk of spreading the bovine BVDV virus almost inevitable.

The aim of the study was to identify variants of bovine viral diarrhea virus, which are contaminants of production cell lines.

Methods. The cell lines MDBK, BHK-21/13-02, PK-15, Vero and the production strains of the bovine HD virus NADL, VK-1 were used. To amplify the target regions of the viral genome, oligonucleotide primers flanking the highly conserved untranslated region 5'UTR with a length of 289 bp were used. Comparative analysis of nucleotide sequences determined by sequencing was carried out using standard methods of molecular phylogenetics.

Results. The fact of chronic infection with non-cytopathogenic bovine BVDV virus was confirmed in relation to the cell lines MDBK, BHK-21/13-02 and PK-15. Based on sequencing results, the contaminating virus variants were identified as representatives of subgenotype 1a. Phylogenetic analysis revealed their significant similarity between themselves and a number of strains isolated from persistently infected llamas, alpacas and roe deer with an identity of 96.8–99.2%. The presented data demonstrate the need for ongoing such screenings, which will improve the quality of technological raw materials used for the production of biological products, as well as improve existing means of serological diagnosis of infections caused by representatives of the *Pestivirus* genus.

Key words: bovine viral diarrhea, cell culture contamination, Sanger sequencing, 5'-UTR, classical swine fever

For citation: Galeeva A.G. et al. Identification of bovine viral diarrhea virus variants — contaminants of production cell lines. *Agrarian science*. 2025; 391(02): 61–66 (in Russian).

<https://doi.org/10.32634/0869-8155-2025-391-02-61-66>

Введение/Introduction

Вирус вирусной диареи крупного рогатого скота (ВД КРС), являясь возбудителем множества симптомов комплексов у КРС, включая диарею, геморрагический синдром, репродуктивные и респираторные расстройства, персистирующие инфекции и заболевания слизистых оболочек, приводит к значительным экономическим потерям для мировой животноводческой отрасли [1, 2]. Этот одноцепочечный РНК-содержащий вирус, содержащий одну открытую рамку считывания (ORF), фланкированную 5'- и 3'-нетранслируемыми областями, в настоящее время классифицируется на 3 генотипа: BVDV-1 (*Pestivirus A*), BVDV-2 (*Pestivirus B*) и BVDV-3 (*Pestivirus H*, или HoBi-подобный вирус) [3].

BVDV-1 в настоящее время содержит не менее 22 подтипов (1a–1v), а BVDV-2 — не менее 4 подтипов (2a–2d) [4]. Обнаруживаемые изоляты вируса ВД КРС демонстрируют высокую генетическую изменчивость, в первую очередь из-за рекомбинации РНК, затрудняющей диагностику ВД и снижающей эффективность вакцинопрофилактики [5].

Контаминация вирусом ВД КРС остается постоянной угрозой качеству биологических продуктов [6]. Наиболее распространенным фактором контаминации являются эмбриональные бычьи сыворотки — основной фактор поддержки роста при культивировании клеточных линий, применение которых делает риск распространения вируса ВД КРС практически неизбежным [7].

Длительное культивирование производственных клеточных линий (ПКЛ) с использованием вирусосодержащих сывороток без их надлежащего тестирования на контаминацию приводит к производственным потерям и некорректной интерпретации данных в исследованиях механизмов взаимодействия вируса с клеткой [8–10]. В свою очередь, загрязнение вакцин живым вирусом может привести к иммуносупрессии у поголовья и последующему развитию оппортунистических инфекций [11].

Таким образом, постоянный скрининг эмбриональных сывороток и ПКЛ на предмет контаминации вирусом ВД КРС имеет решающее значение для обеспечения безопасности вакцин, используемых в популяциях КРС. Определенную сложность при этом представляют нецитопатогенные (НЦП) варианты вируса, репродуцирующиеся в клетках без морфологических изменений [8].

Цель исследования — идентификация вариантов вируса ВД КРС — контаминантов ПКЛ, применяемых в Федеральном центре токсикологической, радиационной и биологической безопасности «ФЦТРБ-ВНИВИ».

Материалы и методы исследования / Materials and methods

Исследования проведены с мая по июнь 2024 г. на базе лаборатории вирусных антропозоонозов и лаборатории молекулярно-генетического анализа ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ».

Таблица 1. Характеристики используемых в работе производственных ПКЛ и штаммов вируса ВД КРС
Table 1. Characteristics of industrial cell lines and BVDV strains used in the work

Наименование образца	Характеристика
Производственные клеточные линии	
MDBK (клетки почки крупного рогатого скота)	Получена из ФКП «Щёлковский биокомбинат» в 2004 г. Применяется для культивирования герпесвирусов, вируса ВД КРС; культивируется на средах 0,5% ГЛА, ИГЛА, MEM + 199 (3:1) с 10% ФБС; кариотип: модальный класс хромосом 42, интервал изменчивости 31–80. Стерильна в отношении бактерий, грибов и микоплазм
ВНК-21/13-02 (клетки почки новорожденного сирийского хомячка, перевиваемая монослойная сублиния)	Получена из ФКП «Щёлковский биокомбинат» в 2004 г. Применяется для культивирования вирусов ящура, бешенства, герпесвирусов; культивируется на среде 0,5% ГЛА, ИГЛА, MEM + 199 (3:1) с 10% ФБС; кариотип: модальный класс хромосом 44, интервал изменчивости 31–98. Стерильна в отношении бактерий, грибов и микоплазм
РК-15 (клетки почки эмбриона свиньи)	Получена из ФГБУ «ВНИИЗЖ» в 2007 г. Применяется для культивирования коронавирусов, вирусов ВД КРС, КЧС, реовируса I типа; культивируется на среде «Игла MEM» с 10% ФБС; кариотип: модальный класс хромосом 46–50, интервал изменчивости 36–75. Стерильна в отношении бактерий, грибов и микоплазм
Vero (клетки почки африканской зеленой мартышки)	Получена из ФКП «Щёлковский биокомбинат» в 2004 г. Применяется для культивирования вируса бешенства, герпесвирусов; культивируется на среде «Игла MEM» с 10% ФБС; кариотип: модальный класс хромосом 54–55, интервал изменчивости 49–110. Стерильна в отношении бактерий, грибов и микоплазм
Штаммы вируса ВД КРС	
NADL GenBank ID AJ133739.1	Коллекция ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», получен из ЦВЛ МСХ Великобритании в 1979 г. Репродуцируется на ПКЛ легкого эмбриона коровы (ЛЭК), титр 5,5 Ig ТЦД ₅₀ /см ³ , стерил в отношении бактерий, грибов и вирус-контаминантов.
BK-1	Коллекция ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», получен из ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН в 1988 г. Репродуцируется на ПКЛ MDVK, титр 4,5 Ig ТЦД ₅₀ /см ³ , стерил в отношении бактерий, грибов и вирус-контаминантов

Характеристики образцов исследуемого материала представлены в таблице 1.

ОТ-ПЦР и определение нуклеотидных последовательностей изолятов

Суммарную РНК выделяли из клеточных суспензий в объеме 0,1 см³ с помощью набора реагентов «РИБО-сорб» (ФБУН «ЦНИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора, Россия) согласно инструкции производителя. Для амплификации целевых участков вирусного генома применяли олигонуклеотидные праймеры, фланкирующие фрагмент высококонсервативной нетранслируемой области 5'UTR длиной 289 п. н. (Fr BVDV-UTR 5'-ATGCCCATAGTAGGACTAGC-3', Rp BVDV-UTR 5'-CTCCATGTGCCATGTACAG-3') [1].

Состав реакционной смеси для ОТ-ПЦР из расчета на одну пробу объемом 20 мкл был следующим: 2 мкл 10x Taq-Turbo буфера (2,5 mM Mg²⁺), 3 mM смеси dNTP, 1,0 единица Taq ДНК-полимеразы, 5 мкМ прямого и обратного праймеров, 0,2 мкл

MMLV-ревертазы (ЗАО «Евроген», Россия), 15 нг ДНК-матрицы, ddH₂O — до 20 мкл.

ОТ-ПЦР проводили на амплификаторе C1000 с оптическим блоком CFX96 (Bio-Rad, США) согласно следующей программе: 1 — обратная транскрипция при 37 °С в течение 60 мин.; 2 — денатурация ДНК при 95 °С в течение 5 мин.; 3 — 35 циклов, состоящих из: 30 с при 94 °С, 30 с при 54 °С, 25 с при 72 °С; 4 — элонгация при 72 °С в течение 10 мин. Наличие целевых продуктов амплификации контролировали методом электрофореза в 1,7%-ном агарозном геле в присутствии бромистого этидия с последующей визуализацией в УФ-свете.

Ферментативно очищенные продукты ПЦР с расчетной длиной 289 п. н. секвенировали по Сэнгеру на аутсорсе (ЗАО «Евроген», Россия) на автоматическом секвенаторе 3500xL Genetic Analyzer (Applied Biosystems, США) с использованием праймеров для амплификации. Гомологичные нуклеотидные последовательности области 5'UTR определяли методом множественного выравнивания с последовательностями штаммов и изолятов вируса ВД КРС 1 и 2 генотипов, депонированными в базе данных Национального центра биотехнологической информации (Genbank, NCBI, США), применяя программное обеспечение MEGA 11.0 (Mega Software, США).

Эволюционные дистанции между последовательностями рассчитывали методом максимального правдоподобия согласно двухпараметрической модели Kimura. Топологию филограм оценивали на основании анализа 1000 псевдореplik; различия между кластерами считали достоверными, если индекс поддержки в узлах составлял не менее 70.

Результаты и обсуждение / Results and discussion

Известно, что процесс выделения вируса ВД КРС на культурах клеток является длительным, трудоемким и неэкономичным, требуя определенных условий отбора, хранения и транспортировки проб; зачастую он осложняется контаминацией большинства линий, применяемых в диагностических лабораториях, НЦП вариантами вируса [12].

Несмотря на то что вирусывыделение является «золотым стандартом» диагностики ВД КРС в различных клинических проявлениях, более распространенным стало использование молекулярно-генетических методов, не требующих наличия инфекционного вируса для получения положительного результата [13]. В настоящем исследовании геном возбудителя ВД КРС был обнаружен в большинстве клеточных образцов (табл. 2), что подтверждалось электрофоретически наличием соответствующих ПЦР-продуктов (рис. 1), при этом присутствие контаминантов в ПКЛ не сопровождалось видимыми морфологическими изменениями клеточного монослоя. Это подтверждает факт хронической инфекции данных ПКЛ вирусом ВД КРС нецитопатогенного типа.

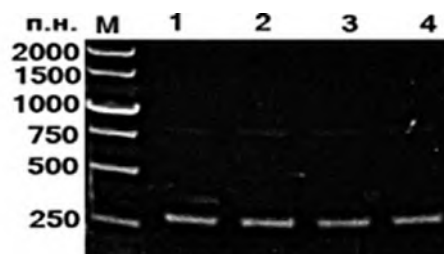
Таблица 2. Результаты индикации генома ЦП и НЦП вариантов вируса ВД КРС методом ОТ-ПЦР в образцах производственных ПКЛ и сывороток

Table 1. Results of genome indication of CP and NCP variants of the BVDV virus by the RT-PCR method in samples of industrial cell lines and serum

Образец	Результат тестирования ОТ-ПЦР	Наличие ЦПД при вирусывыделении
ПКЛ MDBK (пассажная линия 1)	+	—
ПКЛ MDBK (пассажная линия 2)	+	—
ПКЛ БНК-21	+	—
ПКЛ РК-15	+	—
ПКЛ Vero	—	—
Бычья эмбриональная сыворотка (HyClone, Австралия)	—	—
Бычья эмбриональная сыворотка (ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»)	—	—
Производственный штамм NADL	+	—
Производственный штамм ВК-1	+	+

Рис. 1. Электрофореграмма продуктов амплификации вариантов вируса ВД КРС — контаминантов ПКЛ, треки: М — маркер длин ДНК 1 kb DNA ladder (ЗАО «Евроген», Россия), 1 — ПКЛ MDBK (пассажная линия 1), 2 — ПКЛ MDBK (пассажная линия 2), 3 — ПКЛ БНК-21, 4 — ПКЛ РК-15

Fig. 1. Electrophoregram of amplification products of BVDV variants, tracks: M — DNA length marker “1 kb DNA ladder” (ZAO “Evrogen”, Russia), 1 — MDBK (passage line 1), 2 — MDBK (passage line 2), 3 — BHK-21, 4 — PK-15



Обнаруженные контаминанты были условно обозначены как MDBK/1, MDBK/2, БНК-21/1, РК-15/1. Не менее важным этапом скрининга ПКЛ является сравнительный анализ молекулярно-генетической структуры сторонних вариантов вируса, позволяющий отследить их распространение и усовершенствовать методы индикации.

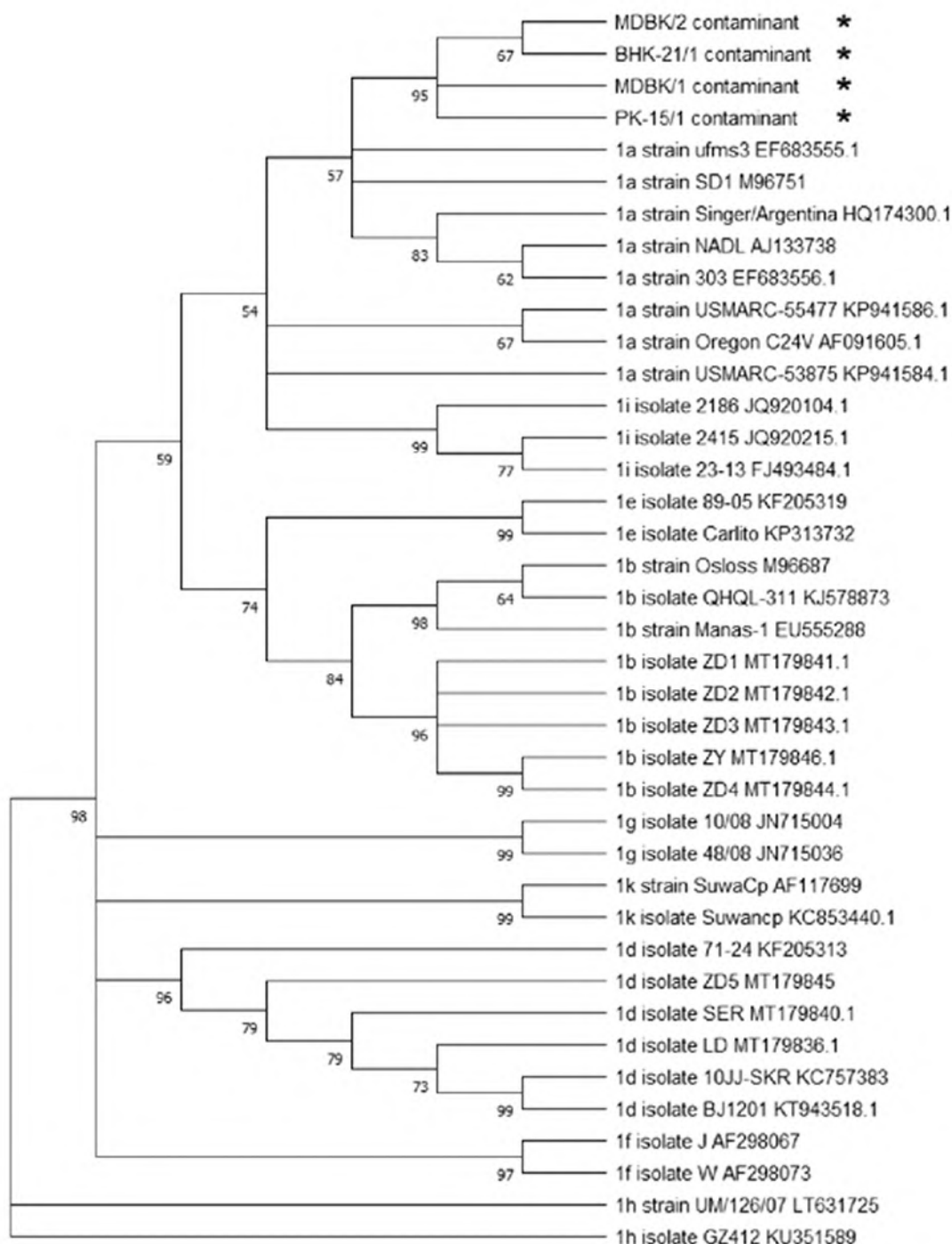
Проведенный филогенетический анализ позволил установить принадлежность всех вариантов вируса к субгенотипу 1а (рис. 2).

Таким образом, было установлено значительное сходство выявленных контаминантов между собой (96,8–99,2% идентичности). В качестве ближайших гомологов были идентифицированы штаммы CN888 (ID AY671977) и LL795 (ID GU987133.1), выделенные от лам и альпак предковой популяции в чилийском Альтиплано в 2013 г. [14], а также изолят Deer (AB040132.1), выделенный от серонегативной косули в Германии в 1991 г. [15].

Особую проблему представляет контаминация вирусом ВД КРС клеток свиного происхождения,

Рис. 2. Филодендрограмма, отображающая генетическую близость исследуемых контаминантов и известных прототипных штаммов вируса ВД КРС 1 генотипа. Топология древа восстановлена методом maximum likelihood, матрица генетических расстояний рассчитана методом минимальной эволюции. Указаны индексы статистической поддержки узлов (бутстрэп-тест для 1000 реплик)

Fig. 1. Philodendrogram showing the genetic proximity of the studied contaminants and known prototype strains of the BVDV, genotype 1. The tree topology was reconstructed by the maximum likelihood method, the genetic distance matrix was calculated by the minimum evolution method. The indices of statistical support of nodes are indicated (bootstrap test for 1000 replicas)



используемых для производства биологических продуктов и проведения диагностических тестов в отношении вируса классической чумы свиней (КЧС) — другого экономически значимого представителя рода *Pestivirus*.

Гомология данных возбудителей и их тесная серологическая связь зачастую приводят к перекрестным реакциям сывороток и моноклональных антител [16]. Учитывая способность вируса

ВД КРС инфицировать свиней, а также его серопревалентность в популяциях свиней, невакцинированных от КЧС [17], это может приводить к диагностическим ошибкам. Так, во время вспышки КЧС в Нидерландах в 1997 г. дифференциация антител была значительно затруднена из-за получения ложноположительных результатов в ИФА [18].

Современные данные свидетельствуют о том, что в процессах интернализации вирусов КЧС

и ВД КРС задействован общий рецептор — бычий кластер дифференцировки CD46, демонстрирующий порядка 55% идентичности [19]. В связи с этим идентификация актуальных контаминирующих вариантов вируса ВД КРС может быть информативной для внесения изменений в структуру рекомбинантных диагностических антигенов вируса КЧС, что позволит достоверно дифференцировать антитела, специфичные для разных представителей рода *Pestivirus*.

Выводы/Conclusions

В ходе скрининга основных производственных клеточных линий (преимущественно бычьего и свиного происхождения) был выявлен факт

контаминации некоторых из них нецитопатогенным вирусом ВД КРС.

При секвенировании 5'-нетранслируемой области генома все обнаруженные варианты вируса были идентифицированы как представители субгенотипа 1a. Представленные данные демонстрируют необходимость постоянного проведения подобных скринингов клеточных линий и реактивов, используемых при их культивировании, что позволит обеспечить контроль качества технологического сырья при производстве биологических продуктов, а также усовершенствовать существующие средства серологической диагностики инфекций, вызываемых другими представителями рода *Pestivirus*.

Все авторы несут ответственность за работу и представленные данные.

Все авторы внесли равный вклад в работу.

Авторы в равной степени принимали участие в написании рукописи и несут равную ответственность за плагиат.

Авторы объявили об отсутствии конфликта интересов.

All authors bear responsibility for the work and presented data.

All authors made an equal contribution to the work.

The authors were equally involved in writing the manuscript and bear the equal responsibility for plagiarism.

The authors declare no conflict of interest.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Hou P., Xu Y., Wang H., He H. Detection of bovine viral diarrhoea virus genotype 1 in aerosol by a real time RT-PCR assay. *BMC Veterinary Research*. 2020; 16: 114. <https://doi.org/10.1186/s12917-020-02330-6>
- Wang Y., Pang F. Diagnosis of bovine viral diarrhoea virus: an overview of currently available methods. *Frontiers in Microbiology*. 2024; 15: 1370050. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1370050>
- de Oliveira P.S.B., Silva Júnior J.V.J., Weiblen R., Flores E.F. Subtyping bovine viral diarrhoea virus (BVDV): Which viral gene to choose?. *Infection, Genetics and Evolution*. 2021; 92: 104891. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2021.104891>
- Хафизова А.М. и др. Вирусная диарея — болезнь слизистых крупного рогатого скота: анализ эпизоотической ситуации и противоэпизоотических мероприятий. *Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана*. 2024; 258: 214–221. <https://www.elibrary.ru/dbwgnw>
- Abd El Fadeel M.R., Soliman E.M., Allam A.M., ElKersh M.F., Abd El-Baky R.M., Mustafa A. Efficacy and durability of bovine virus diarrhoea (BVD) virus killed vaccine adjuvanted with monolaurin. *PLoS ONE*. 2022; 17(7): e0269031. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0269031>
- Gómez-Romero N., Velázquez-Salinas L., Ridpath J.F., Verdugo-Rodríguez A., Basurto-Alcántara F.J. Detection and genotyping of bovine viral diarrhoea virus found contaminating commercial veterinary vaccines, cell lines, and fetal bovine serum lots originating in Mexico. *Archives of Virology*. 2021; 166(7): 1999–2003. <https://doi.org/10.1007/s00705-021-05089-9>
- Gauvin G., Nims R. Gamma-Irradiation of Serum for the Inactivation of Adventitious Contaminants. *PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology*. 2010; 64(5): 432–435.
- Урываев Л.В. и др. О контаминации клеточных культур вирусом диареи — болезни слизистых оболочек крупного рогатого скота (BVDV). *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2012; 153(1): 88–93. <https://www.elibrary.ru/ooictr>
- Глотов А.Г., Глотова Т.И., Котенева С.В. О контаминации импортируемой фетальной сыворотки крови крупного рогатого скота пестивирусами как факторе распространения вирусной диареи в условиях глобализации: мини-обзор. *Сельскохозяйственная биология*. 2018; 53(2): 248–257. <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2018.2.248rus>
- Алексеевкова С.В., Юров Г.К., Гальнбек Т.В., Калита И.А., Юров К.П. Проверка клеточных культур на контаминацию вирусом диареи крупного рогатого скота — необходимое условие производства биологических препаратов. *Российский ветеринарный журнал. Сельскохозяйственные животные*. 2013; (1): 15–18. <https://www.elibrary.ru/pyednf>
- Pastoret P.-P. Human and animal vaccine contaminations. *Biologicals*. 2010; 38(3): 332–334. <https://doi.org/10.1016/j.biologicals.2010.02.015>

REFERENCES

- Hou P., Xu Y., Wang H., He H. Detection of bovine viral diarrhoea virus genotype 1 in aerosol by a real time RT-PCR assay. *BMC Veterinary Research*. 2020; 16: 114. <https://doi.org/10.1186/s12917-020-02330-6>
- Wang Y., Pang F. Diagnosis of bovine viral diarrhoea virus: an overview of currently available methods. *Frontiers in Microbiology*. 2024; 15: 1370050. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1370050>
- de Oliveira P.S.B., Silva Júnior J.V.J., Weiblen R., Flores E.F. Subtyping bovine viral diarrhoea virus (BVDV): Which viral gene to choose?. *Infection, Genetics and Evolution*. 2021; 92: 104891. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2021.104891>
- Khafizova A.M. et al. Viral diarrhoea is a disease of the mucous membranes of cattle: an analysis of the epizootic situation and antiepidemic measures. *Scientific notes Kazan Bauman State Academy of Veterinary Medicine*. 2024; 258: 214–221 (in Russian). <https://www.elibrary.ru/dbwgnw>
- Abd El Fadeel M.R., Soliman E.M., Allam A.M., ElKersh M.F., Abd El-Baky R.M., Mustafa A. Efficacy and durability of bovine virus diarrhoea (BVD) virus killed vaccine adjuvanted with monolaurin. *PLoS ONE*. 2022; 17(7): e0269031. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0269031>
- Gómez-Romero N., Velázquez-Salinas L., Ridpath J.F., Verdugo-Rodríguez A., Basurto-Alcántara F.J. Detection and genotyping of bovine viral diarrhoea virus found contaminating commercial veterinary vaccines, cell lines, and fetal bovine serum lots originating in Mexico. *Archives of Virology*. 2021; 166(7): 1999–2003. <https://doi.org/10.1007/s00705-021-05089-9>
- Gauvin G., Nims R. Gamma-Irradiation of Serum for the Inactivation of Adventitious Contaminants. *PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology*. 2010; 64(5): 432–435.
- Uryvaev L.V. et al. About the contamination of cell cultures with the virus of diarrhoea — diseases of the mucous membranes of cattle (BVDV). *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2012; 153(1): 77–81. <https://doi.org/10.1007/s10517-012-1648-1>
- Glotov A.G., Glotova T.I., Koteneva S.V. On contamination of imported fetal blood serum of cattle with pestiviruses as a factor in the spread of viral diarrhoea in the context of globalization: a mini-review. *Agricultural Biology*. 2018; 53(2): 248–257. <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2018.2.248eng>
- Alekseenkova S.V., Yurov G.K., Galn'bek T.V., Kalita K.I.A., Yurov K.P. Testing of cell cultures for contamination with the bovine diarrhoea virus is a necessary condition for the production of biological preparations. *Russian veterinary journal. Productive animals*. 2013; (1): 15–18 (in Russian). <https://www.elibrary.ru/pyednf>
- Pastoret P.-P. Human and animal vaccine contaminations. *Biologicals*. 2010; 38(3): 332–334. <https://doi.org/10.1016/j.biologicals.2010.02.015>

12. Семенова О.В., Глотова Т.И., Глотов А.Г., Неведченко А.В. Частота выявления посредством ОТ-ПЦР и выделения в культуре клеток вируса диареи крупного рогатого скота в Сибири. *Российский ветеринарный журнал*. 2017; (1): 24–27. <https://www.elibrary.ru/xyyqwb>
13. Spetter M.J. *et al.* Detection methods and characterization of bovine viral diarrhoea virus in aborted fetuses and neonatal calves over a 22-year period. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2020; 51(4): 2077–2086. <https://doi.org/10.1007/s42770-020-00296-z>
14. Aguirre I.M., Fuentes R., Celedón M.O. Genotypic characterization of Chilean llama (*Lama glama*) and alpaca (*Vicugna pacos*) pestivirus isolates. *Veterinary Microbiology*. 2014; 168(2–4): 312–317. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2013.11.031>
15. Harasawa R., Giangaspero M., Ibata G., Paton D.J. Giraffe Strain of Pestivirus: Its Taxonomic Status Based on the 5'-Untranslated Region. *Microbiology and Immunology*. 2000; 44(11): 915–921. <https://doi.org/10.1111/j.1348-0421.2000.tb02583.x>
16. Lamothe-Reyes Y., Figueroa M., Sánchez O. Host cell factors involved in classical swine fever virus entry. *Veterinary Research*. 2023; 54: 115. <https://doi.org/10.1186/s13567-023-01238-x>
17. Choe S. *et al.* Prevalence of Bovine Viral Diarrhoea Virus Infections in Pigs on Jeju Island, South Korea, from 2009–2019 and Experimental Infection of Pigs with BVDV Strains Isolated from Cattle. *Veterinary Sciences*. 2022; 9(3): 146. <https://doi.org/10.3390/vetsci9030146>
18. Van Rijn P.A. A common neutralizing epitope on envelope glycoprotein E2 of different pestiviruses: Implications for improvement of vaccines and diagnostics for classical swine fever (CSF)? *Veterinary Microbiology*. 2007; 125(1–2): 150–156. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2007.05.001>
19. Schmitz-Dräger B.J. *et al.* Molecular Markers for Bladder Cancer Screening, Early Diagnosis, and Surveillance: The WHO/ICUD Consensus. *Urologia Internationalis*. 2015; 94(1): 1–24. <https://doi.org/10.1159/000369357>

ОБ АВТОРАХ

Антонина Глебовна Галеева^{1,2}

кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник
antonina-95@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0003-2650-6459>

Алсу Рузалева Ахундова¹

младший научный сотрудник
aahunova@inbox.ru
<https://orcid.org/0009-0006-0211-3334>

Наиль Ильдарович Хаммадов¹

кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник
nikhammadov@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-5669-1486>

Диана Анатольевна Сорокина¹

младший научный сотрудник
diana-sorokina2013@mail.ru
<https://orcid.org/0009-0006-5339-5175>

Айнур Ильнурович Ярুলлин¹

кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник
abii@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-1717-0498>

Алсу Магфуровна Хафизова¹

младший научный сотрудник
alsukhafizova@yandex.ru
<https://orcid.org/0009-0008-2380-0701>

Ришат Салаватович Мухаммадиев¹

кандидат биологических наук, старший научный сотрудник
tashir9891@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-7812-9168>

Ринат Салаватович Мухаммадиев¹

кандидат биологических наук, научный сотрудник
tanirtashir@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-2524-9609>

Ильсияр Габделгазизовна Каримуллина¹

кандидат биологических наук, старший научный сотрудник
89047699225@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-6771-3457>

¹Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности, Научный городок — 2, Казань, 420075, Россия

²Казанская государственная академия ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана, ул. Сибирский тракт, 35, Казань, 420029, Россия

12. Semenova O.V., Glotova T.I., Glotov A.G., Nefedchenko A.V. Frequency detection by RT-PCR and BVDV isolation in cell culture in Siberia. *Russian veterinary journal*. 2017; (1): 24–27 (in Russian). <https://www.elibrary.ru/xyyqwb>

13. Spetter M.J. *et al.* Detection methods and characterization of bovine viral diarrhoea virus in aborted fetuses and neonatal calves over a 22-year period. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2020; 51(4): 2077–2086. <https://doi.org/10.1007/s42770-020-00296-z>

14. Aguirre I.M., Fuentes R., Celedón M.O. Genotypic characterization of Chilean llama (*Lama glama*) and alpaca (*Vicugna pacos*) pestivirus isolates. *Veterinary Microbiology*. 2014; 168(2–4): 312–317. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2013.11.031>

15. Harasawa R., Giangaspero M., Ibata G., Paton D.J. Giraffe Strain of Pestivirus: Its Taxonomic Status Based on the 5'-Untranslated Region. *Microbiology and Immunology*. 2000; 44(11): 915–921. <https://doi.org/10.1111/j.1348-0421.2000.tb02583.x>

16. Lamothe-Reyes Y., Figueroa M., Sánchez O. Host cell factors involved in classical swine fever virus entry. *Veterinary Research*. 2023; 54: 115. <https://doi.org/10.1186/s13567-023-01238-x>

17. Choe S. *et al.* Prevalence of Bovine Viral Diarrhoea Virus Infections in Pigs on Jeju Island, South Korea, from 2009–2019 and Experimental Infection of Pigs with BVDV Strains Isolated from Cattle. *Veterinary Sciences*. 2022; 9(3): 146. <https://doi.org/10.3390/vetsci9030146>

18. Van Rijn P.A. A common neutralizing epitope on envelope glycoprotein E2 of different pestiviruses: Implications for improvement of vaccines and diagnostics for classical swine fever (CSF)? *Veterinary Microbiology*. 2007; 125(1–2): 150–156. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2007.05.001>

19. Schmitz-Dräger B.J. *et al.* Molecular Markers for Bladder Cancer Screening, Early Diagnosis, and Surveillance: The WHO/ICUD Consensus. *Urologia Internationalis*. 2015; 94(1): 1–24. <https://doi.org/10.1159/000369357>

ABOUT THE AUTHORS

Antonina Glebova Galeeva^{1,2}

Candidate of Veterinary Sciences, Leading Researcher
antonina-95@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0003-2650-6459>

Alsu Ruzaleva Akhunova¹

Junior Researcher
aahunova@inbox.ru
<https://orcid.org/0009-0006-0211-3334>

Nail Ildarovich Khammatov¹

Candidate of Biological Sciences, Leading Researcher
nikhammadov@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-5669-1486>

Diana Anatolyevna Sorokina¹

Junior Researcher
diana-sorokina2013@mail.ru
<https://orcid.org/0009-0006-5339-5175>

Ainur Ilnurovich Yarullin¹

Candidate of Biological Sciences, Leading Researcher
abii@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-1717-0498>

Alsu Magfurova Khafizova¹

Junior Researcher
alsukhafizova@yandex.ru
<https://orcid.org/0009-0008-2380-0701>

Rishat Salavatovich Mukhammadiev¹

Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher
tashir9891@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-7812-9168>

Rinat Salavatovich Mukhammadiev¹

Candidate of Biological Sciences, Researcher
tanirtashir@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-2524-9609>

Ilsiyar Gabelgazizovna Karimullina¹

Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher
89047699225@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-6771-3457>

¹Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety, Nauchny gorodok — 2, Kazan, 420075, Russia

²Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after N.E. Bauman, 35 Sibirsky trakt Str., Kazan, 420029, Russia