

УДК 578.826.2

Научная статья



Открытый доступ

DOI: 10.32634/0869-8155-2025-399-10-17-24

А.И. Яруллин

Ришат С. Мухаммадиев ✉

Ринат С. Мухаммадиев

И.Г. Каримуллина

Д.А. Сорокина

В.Г. Гумеров

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

✉ tashir9891@mail.ru

Поступила в редакцию: 01.05.2025

Одобрена после рецензирования: 11.09.2025

Принята к публикации: 26.09.2025

© Яруллин А.И., Мухаммадиев Ришат С.,
Мухаммадиев Ринат С., Каримуллина И.Г.,
Сорокина Д.А., Гумеров В.Г.

Research article



Open access

DOI: 10.32634/0869-8155-2025-399-10-17-24

Ainur I. Yarullin

Rishat S. Mukhammadiev ✉

Rinat S. Mukhammadiev

Ilsiyar G. Karimullina

Diana A. Sorokina

Vali G. Gumerov

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

✉ tashir9891@mail.ru

Received by the editorial office: 01.05.2025

Accepted in revised: 11.09.2025

Accepted for publication: 26.09.2025

© Yarullin A.I., Mukhammadiev Rishat S.,
Mukhammadiev Rinat S., Karimullina I.G.,
Sorokina D.A., Gumerov V.G.

Разработка способа получения антигена аденовируса первой подгруппы аденовирусной инфекции крупного рогатого скота

РЕЗЮМЕ

Актуальность. Аденовирусная инфекция крупного рогатого скота остается одной из основных проблем современного молочного и мясного скотоводства. Эффективность оздоровительных мероприятий в интенсивном животноводстве зависит от своевременного выявления инфицированного скота, что в свою очередь обусловлено серологической активностью и специфичностью используемых в диагностических наборах антигенов.

Цель исследования — разработка способа очистки антигена аденовируса первой подгруппы аденовирусной инфекции крупного рогатого скота (КРС).

Методы. Серологическую активность компонентов возбудителя аденовирусной инфекции крупного рогатого скота исследовали с помощью метода иммуноблоттинга и иммуноферментного анализа. Получение антигена аденовируса КРС включало приготовление матровой раскладки аденовируса КРС на перевиваемой клеточной линии ВНК-21/13, наработку вирусной биомассы методом роллерного культивирования, разрушение инфицированных клеток ультразвуком и освобождение от клеточных фрагментов с помощью центрифугирования, осаждение антигена с применением ПЭГ-6000, концентрирование вируса через ступенчатый градиент хлористого цезия путем ультрацентрифугирования.

Результаты. В результате разделения вирусного материала в ступенчатом градиенте плотности хлористого цезия получены три антигенные фракции. Наиболее очищенной являлась фракция № 1, которая содержала мажорный участок с молекулярным весом 50,0 кДа и проявила максимальную антигенную активность. Титр антител, выявленный на 45-е сутки после иммунизации указанной фракцией, составил в сыворотке крови кроликов 1:3200. Полученные результаты открывают перспективы применения очищенного авторами антигена аденовируса первой подгруппы при конструировании тест-системы для проведения скрининговых исследований на аденовирусную инфекцию КРС и мониторинга эффективности противоэпизоотических мероприятий.

Ключевые слова: антиген, аденовирус первой подгруппы, аденовирусная инфекция, крупный рогатый скот, животноводство

Для цитирования: Яруллин А.И. и др. Разработка способа получения антигена аденовируса первой подгруппы аденовирусной инфекции крупного рогатого скота. *Аграрная наука*. 2025; 399 (10): 17–24.

<https://doi.org/10.32634/0869-8155-2025-399-10-17-24>

Development of a method for obtaining bovine adenovirus subgroup 1 antigen

ABSTRACT

Relevance. Adenoviral infection of cattle remains one of the main problems of modern dairy and beef cattle breeding. The effectiveness of health measures in intensive livestock farming depends on the timely detection of infected livestock, which in turn is determined by the serological activity and specificity of the antigens used in diagnostic kits.

The aim of the study was to develop a method for purification of adenovirus antigen of the first subgroup of adenovirus infection in cattle (cattle).

Methods. The serological activity of the components of the causative agent of adenovirus infection in cattle was studied using the immunoblotting method and enzyme immunoassay. Obtaining the bovine adenovirus antigen included the preparation of a bovine adenovirus mat brood on BHK-21/13, the production of viral biomass by roller cultivation, the destruction of infected cells by ultrasound and the release of cellular fragments by centrifugation, precipitation of the antigen using PEG-6000, and concentration of the virus through a step gradient of cesium chloride by ultracentrifugation.

Results. As a result of separation of the viral material in a stepwise density gradient of cesium chloride, three antigenic fractions were obtained. The most purified was fraction № 1, which contained a major region with a molecular weight of 50.0 kDa and showed maximum antigenic activity. The antibody titer detected in the blood serum of rabbits on the 45th day after their immunization with this fraction was 1:3200. The results obtained open up prospects for the use of the adenovirus antigen of the first subgroup purified by the authors in the design of a test system for screening studies for adenovirus infection in cattle and monitoring the effectiveness of antiepidemic measures.

Key words: antigen, adenovirus subgroup 1, adenoviral infection, cattle, animal husbandry

For citation: Yarullin A.I. et al. Development of a method for obtaining bovine adenovirus subgroup 1 antigen. *Agrarian science*. 2025; 399 (10): 17–24 (in Russian).

<https://doi.org/10.32634/0869-8155-2025-399-10-17-24>

Введение/Introduction

Респираторные и желудочно-кишечные инфекции КРС остаются одной из актуальных проблем ветеринарии как в нашей стране, так и за рубежом [1–4].

Эти болезни, протекающие преимущественно в виде смешанных инфекций, широко распространены в современных крупных молочных и мясных скотоводческих комплексах [5–8].

Современными исследованиями доказано, что возбудителями вирусного энтерита и респираторных заболеваний КРС являются вирусы инфекционного ринотрахеита, вирусной диареи, парагриппа-3, реовирусы и аденовирусы [2, 9, 10]. При этом последние могут играть первостепенную роль в развитии патологического состояния скота.

Появляющиеся данные по выделению аденовирусов в биоматериалах и выявлению специфических антител к ним в сыворотках крови КРС свидетельствуют о потенциальном расширении ареала распространения аденовирусной инфекции на территории Российской Федерации [11]. Тем не менее к настоящему времени отсутствуют четкие представления о нозогеографии аденовирусной инфекции КРС в хозяйствах нашей страны и не установлен наносимый ею экономический ущерб.

Одним из факторов, который осложняет диагностику аденовируса КРС, является большое количество его типов, обладающих генетическим разнообразием [12, 13]. В настоящий момент классифицированы 11 типов аденовируса КРС, принадлежащих родам *Mastadenovirus* (BAdV-1, BAdV-2, BAdV-3, BAdV-9 и BAdV-10) и *Atadenovirus* (BAdV-4, BAdV-5, BAdV-6, BAdV-7, BAdV-8 и BAdV-Rus) [13]. Для решения проблемы распространения аденовирусной инфекции КРС существенное внимание уделяется разработке новых, высокочувствительных и специфичных, простых в исполнении способов их диагностики^{1,2} [14, 15].

Указанным требованиям отвечают методы с использованием иммуноферментных тест-систем, с помощью которых имеется возможность индцировать специфические антитела в сыворотке крови животных [16, 17]. Однако проблема создания диагностических наборов, содержащих антигенные компоненты аденовирусов различных подгрупп, остается нерешенной.

Создание иммуноферментных тест-систем требует концентрирования и очистки специфических биологических их компонентов, в том числе антигенов [18–20].

Получение антигенов высокой степени очистки, несомненно, имеет практическую значимость, в связи с тем что увеличивает чувствительность серологических реакций и, следовательно,

эффективность лабораторной диагностики вирусной инфекции [21–23].

Разработка и совершенствование существующих методов получения высокоочищенных антигенных компонентов вируса аденовирусной инфекции представляют собой актуальную задачу ветеринарной медицины.

Цель данного исследования — разработка способа получения антигена аденовируса первой подгруппы аденовирусной инфекции КРС, выделенного из культуры клеток ВНК-21/13.

Материалы и методы исследования / Materials and methods

Исследование проводили в лаборатории вирусологии отделения вирусологических и ультраструктурных исследований Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности» (ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», Казань, Россия) в 2024 году.

Наработку культуральной суспензии штамма Adeno III WBR-1 аденовируса КРС осуществляли методом роллерного культивирования на перевиваемой культуре клеток ВНК-21/13. Для поддержания культуры клеток после заражения использовали среды 199 («ПанЭко», Россия), ГЛА (гидролизат лактальбумина) («ПанЭко», Россия) и «Игла MEM» с добавлением 1% L-глутамина и гентамицина («ПанЭко», Россия) в концентрации 50 мкг/мл.

В работе были использованы референтный штамм аденовируса КРС первой подгруппы (Adeno III WBR-1), полученный из государственной коллекции микроорганизмов ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ». Клеточная линия почки новорожденного сирийского хомячка (ВНК-21/13) получена из коллекции культур клеток и питательных сред отделения вирусологических и ультраструктурных исследований ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ».

Выделение вирусного антигена проводили методом ультразвуковой дезинтеграции остатков клеточного дебриса [24] с помощью гомогенизатора Bandelin Sonopuls HD 3100 (Bandelin, Германия) при следующих режимах: продолжительность озвучивания — 120 с., интервал между импульсами — 60 с., частота колебаний — 22 кГц, температура — плюс 4 °С. Полученный гомогенат ресуспендировали 0,5 М фосфатно-солевым буферным раствором (ФСБ, pH 7,3), осаждали центрифугированием при 4000 об/мин в течение 30 мин. и отбирали супернатант.

На второй стадии очистку антигена из полученного на предыдущем этапе супернатанта

¹ Лобова Т.П. Усовершенствование лабораторной диагностики аденовирусной инфекции крупного рогатого скота: специальность 16.00.03 «Ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология»: автореф. дисс. ... канд. биол. наук Т.П. Лобовой. М.: Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии им. К.И. Скрябина. 2006; 24.

² Гаффаров Х.З., Гумеров В.Г., Евстифеев В.В. Адено-, парво-, реовирусы и их роль в инфекционной патологии крупного рогатого скота. Казань: МедДок. 2021. 340. ISBN 978-5-6046634-6-2, EDN UJFWNC

проводили путем осаждения белков аденовируса реагентом ПЭГ-6000 [25] в конечной концентрации 8,0% при температуре +4 °С. Через 12 ч. получали осадок низкоскоростным центрифугированием при 9000 об/мин в течение 30 мин. и растворяли его в наименьшем объеме раствора 0,5 М ФСБ (рН 7,3). Полученный вирусный материал использовали для дальнейших этапов очистки аденовируса.

Далее очистку антигена аденовируса первой подгруппы осуществляли методом ультрацентрифугирования (УЦФ), применяя центрифугу Optima XE-100 (Beckman Coulter, США), в градиенте хлористого цезия [26]. Для формирования градиента плотности хлористого цезия в ультрацентрифужные пробирки (Beckman Coulter, США) последовательно добавляли равные объемы (по 3,0 мл) раствора хлористого цезия 10,0, 3,0 и 1,0 М. Поверх сформированного градиента наслаивали суспензию ПЭГ-осажденных антигенов (СПА) (4,0 мл), доводили объем до 15 мл 0,05 М фосфатно-солевым буфером (рН 7,2) (рис. 1). УЦФ осуществляли при 40 тыс. г и +4 °С в течение 3 ч.

Полученные белковые фракции подвергали исследованию с помощью электрофореза в 12,5%-ном полиакриламидном геле (ПААГ) в денатурирующих условиях (SDS-PAGE) и иммуноблоттинга с использованием гипериммунных (положительных) сывороток КРС для установления локализации полипептидов и их серологической активности [17].

На каждой стадии очистки антигена в полученных препаратах определяли концентрацию белка методом спектрофотометрии, используя прибор Multiskan Go (Thermo Fisher Scientific, США) [27]. Степень чистоты антигенных препаратов устанавливали аналитическим электрофорезом с применением вертикальной камеры Mini-Protean Tetra (Bio-Rad, США) [28].

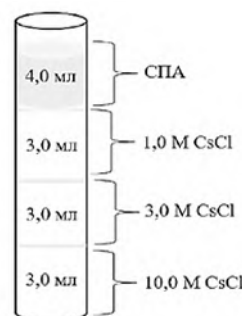
Иммунизацию опытных групп кроликов породы шиншилла ($n = 3$) массой 2,8–3,0 кг (из питомника ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ») проводили согласно следующей схеме: антигенные препараты в смеси с полным адъювантом Фрейнда вводили животным внутривенно в пяти точках с двух сторон в области спины в концентрации 100 мкг/гол [29]. Контролем служила группа животных ($n = 3$), которым вводили буферный раствор. На 45-е сутки у кроликов опытных и контрольной групп отбирали кровь для получения ее сыворотки.

Эксперименты с животными осуществляли строго, соблюдая требования ГОСТ 33215-2014 и Директиву ЕС 2010/63/EU.

Установление антител к полученным антигенным препаратам аденовируса первой подгруппы осуществляли в сыворотках крови кроликов непрямым вариантом иммуноферментного анализа (ИФА), как описано авторами ранее [29].

Рис. 1. Схема формирования градиента плотности хлористого цезия для очистки антигена аденовируса КРС первой подгруппы

Fig. 1. Scheme of formation of a density gradient of cesium chloride for purification of bovine adenovirus subgroup 1 antigen



Планшеты для ИФА сенсibilизировали антигенными препаратами в концентрации 10 мкг/мл в течение 12 ч. при +4 °С. Образцы сывороток животных использовали в последовательных двукратных разведениях, начиная с 1:200. Измерение светопоглощения осуществляли фотометром Bio-Rad 680 (Bio-Rad, США) при длине волны 450 нм. Титр антител рассчитывали по величине разведения сыворотки при условии, что значение оптической плотности исследуемого образца в 2 раза превышает контрольное.

Статистический анализ полученных результатов исследования осуществляли в программах MS Excel (США) и GraphPad Prism (США), применяя дисперсионный анализ (one-way ANOVA) и критерий Тьюки, и с помощью t-критерия Стьюдента. Достоверными считали данные с уровнем значимости $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение / Results and discussion

Основными требованиями, которые предъявляют к получаемым для диагностических наборов антигенам, являются качество последних (степень чистоты, серологическая активность, специфичность, способность связываться на поверхности твердофазного полистирола), а также сохранение указанных свойств при длительном хранении³ [30].

Методы выделения и очистки антигенных препаратов характеризуются рядом специфических особенностей, которые в основном обусловлены крайней неустойчивостью молекулы антигена и потерей вышеуказанных свойств под воздействием различных факторов внешней среды [18, 29]. В связи с этим при выделении и очистке препаратов антигенов необходим индивидуальный подход, позволяющий повышать выход белка при одновременном уменьшении количества этапов очистки. В большинстве случаев антигены выделяют и очищают, используя мощные комбинации различных приемов осаждения и методов разделения [17, 26].

³ Барышников П.И., Разумовская В.В. (сост.). Лабораторная диагностика вирусных болезней животных. Учебное пособие для студентов вузов, обучающихся по направлению подготовки (специальность) «Ветеринария» (квалификация (степень) «Ветеринарный врач»). 2-е изд., испр. СПб.: Лань. 2015; 671.

В исследованиях авторов схема получения антигена аденовируса КРС первой подгруппы включала несколько этапов: приготовление матровой раскладки аденовируса КРС на перевиваемой клеточной линии ВНК-21/13; наработку вирусной биомассы методом роллерного культивирования; разрушение инфицированных клеток ультразвуком и освобождение от клеточных фрагментов с помощью центрифугирования; осаждение антигена с применением ПЭГ-6000, концентрирование вируса через ступенчатый градиент хлористого цезия путем УЦФ; сбор целевых фракций (рис. 2).

Применение роллерной технологии культивирования аденовируса позволило получить вирусную массу с инфекционной активностью $4,75 \pm 0,03 \text{ Ig ТЦД}_{50}/\text{мл}$. В раннем исследовании авторов [31] выявлено преимущество указанной технологии для получения более высокого выхода вирусных частиц по сравнению с технологией стационарного культивирования.

После разрушения инфицированных клеток ультразвуком в полученном клеточном супернатанте концентрация белка составила $0,72 \pm 0,01 \text{ мг/мл}$ (рис. 4). Потеря содержания белка на этапе осаждения протеинов с применением ПЭГ-6000 составила 53,1%. Данный метод позволяет антигенный осадок без дополнительных стадий переводить в раствор используемого в исследовании буфера и использовать для дальнейших этапов очистки [25].

На следующем этапе получения антигена аденовируса КРС первой подгруппы авторами был применен метод фракционирования ПЭГ-осажденного препарата в ступенчатом градиенте плотности хлористого цезия. В результате исследований получены три основные антигенные фракции (препараты) (рис. 3), каждая из которых была отобрана для исследования с помощью аналитического электрофореза, в реакциях вестерн-блоттинга и ИФА.

Наибольшее содержание белка было выявлено во фракции № 3 ($19,50 \pm 0,48 \text{ мг/мл}$), наименьшее — во фракции № 1 ($1,87 \pm 0,04 \text{ мг/мл}$) (рис. 4).

Определение чистоты препаратов методом вертикального электрофореза в ПААГ показало, что после УЦФ во всех исследованных образцах обнаруживались полипептиды с молекулярной массой от 35,0 до 50,0 кДа. Необходимо отметить, что на электрофореграммах выявлялись дополнительные белковые полосы, свидетельствуя о наличии балластных белков.

Посредством иммуноблоттинга с использованием гипериммунных сывороток КРС были установлены активность и специфичность белковых фракций аденовируса (рис. 5, 6).

Исходя из распределения антигенных фракций, можно заключить, что большая часть материала распределена в области с молекулярной массой 50,0 и 45,0 кДа. Полученные авторами препараты с указанным молекулярным весом, вероятно, относятся к протеинам Iva2, E1B-420R или pV,

Рис. 2. Схема получения антигена аденовируса первой подгруппы КРС

Fig. 2. Scheme for obtaining bovine adenovirus subgroup 1 antigen

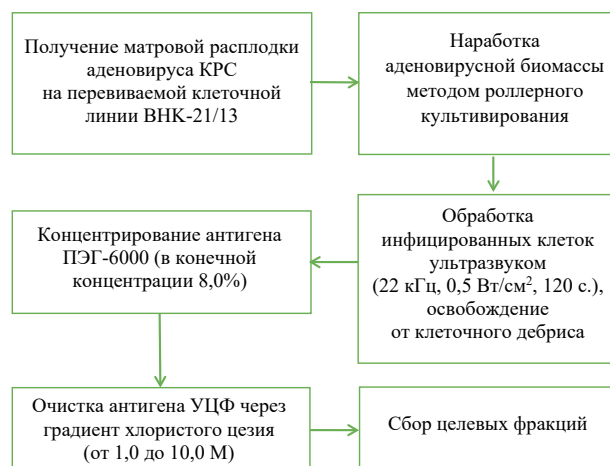


Рис. 3. Результаты фракционирования вирусного материала, содержащего антиген аденовируса КРС первой подгруппы, в ступенчатом градиенте плотности хлористого цезия (стрелками указаны полученные антигенные фракции)

Fig. 3. Results of fractionation of viral material containing bovine adenovirus subgroup 1 antigen in a stepwise density gradient of cesium chloride (the arrows indicate the obtained antigen fractions)



Рис. 4. Содержание белка (мг/мл) в антигенных фракциях после ультрацентрифугирования в ступенчатом градиенте хлористого цезия

Fig. 4. Protein content (mg/ml) in antigenic fractions after ultracentrifugation in stepwise gradient of cesium chloride

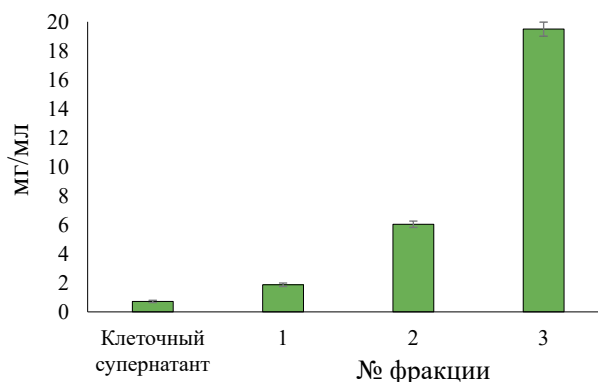
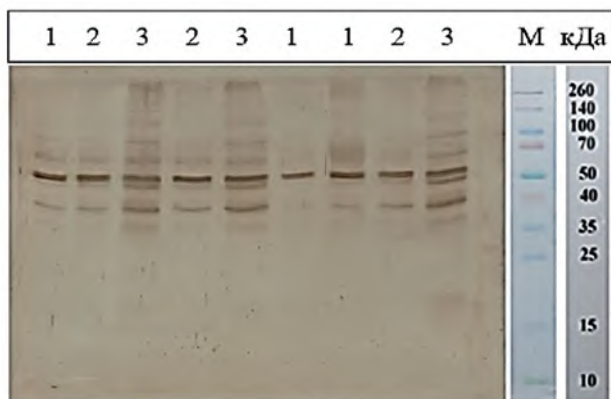


Рис. 5. Результаты вестерн-блота антигена аденовируса первой подгруппы со специфической сывороткой к антигену аденовируса КРС второй подгруппы. Треки: 1 — фракция № 1, 2 — фракция № 2, 3 — фракция № 3, М — белки-маркеры молекулярных масс Spectra, 10–260 кДа (Thermo FS, США)

Fig. 5. Results of a Western blot of adenovirus antigen of the first subgroup with specific serum for the bovine adenovirus antigen of the second subgroup. Tracks: 1 — fraction No. 1, 2 — fraction No. 2, 3 — fraction No. 3, M — Spectra molecular weight marker proteins, 10–260 kDa (Thermo FS, USA)



способным к участию в процессе патогенеза аденовирусной инфекции [32, 33]. Дальнейшие исследования протективного потенциала выявленных антигенов открывают перспективы применения последних в качестве компонентов различных типов вакцин и тест-системы ИФА для диагностики аденовирусной инфекции КРС.

Активность и специфичность антигенных препаратов установлены непрямым вариантом ИФА с использованием контрольных (K^+ (положительной) и K^- (отрицательной) сывороток КРС (табл.).

Серологическую активность проявили все полученные антигенные препараты. При этом значения $ОП_{450}$ для препаратов № 1–3 при разведении сыворотки K^+ 1:200 составили, соответственно, $1,271 \pm 0,030$ ОЕ ($K^+/K^- = 9,08$), $0,996 \pm 0,024$ ОЕ ($K^+/K^- = 6,47$) и $1,453 \pm 0,035$ ОЕ ($K^+/K^- = 2,63$).

Рис. 7. Накопление специфических антител у кроликов, иммунизированных антигенными препаратами аденовируса КРС первой подгруппы

Fig. 7. Accumulation of specific antibodies in rabbits immunized with antigen preparations of bovine adenovirus subgroup 1

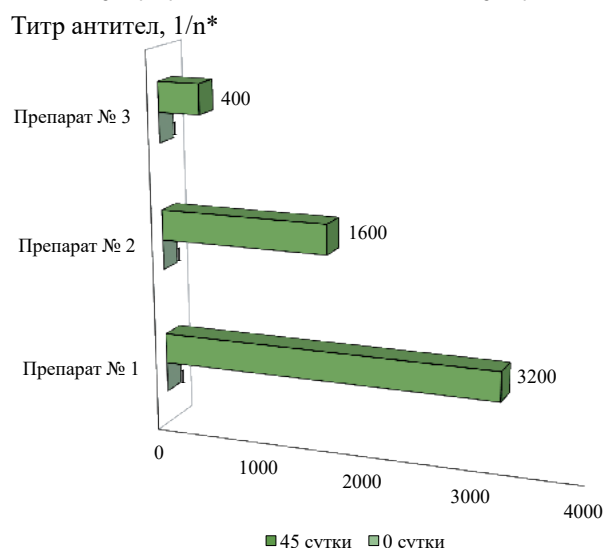


Рис. 6. Результаты вестерн-блота антигена аденовируса КРС первой подгруппы со специфической сывороткой к антигену аденовируса КРС первой подгруппы. Треки: 1 — фракция № 1, 2 — фракция № 2, 3 — фракция № 3, М — белки-маркеры молекулярных масс Spectra, 10–260 кДа (Thermo FS, США)

Fig. 6. The results of a Western blot of the bovine adenovirus antigen of the first subgroup with a specific serum for the bovine adenovirus antigen of the first subgroup. Tracks: 1 — fraction No. 1, 2 — fraction No. 2, 3 — fraction No. 3, M — Spectra molecular weight marker proteins, 10–260 kDa (Thermo FS, USA)

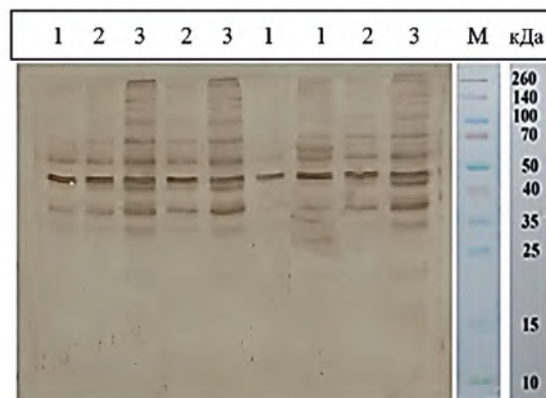


Таблица. Результаты определения активности и специфичность антигенных препаратов посредством ИФА*

Table. Results of determination of activity and specificity of antigen preparations by means of ELISA*

№ антигенного препарата	ОП ₄₅₀ ОЕ		
	K^+	K^-	K^+/K^-
1	$1,271 \pm 0,030$	$0,140 \pm 0,002$	9,08
2	$0,996 \pm 0,024$	$0,154 \pm 0,003$	6,47
3	$1,453 \pm 0,035$	$0,552 \pm 0,010$	2,63

Примечание: * при постановке реакции использованы разведенные 0,05 М карбонатно-бикарбонатным буферным раствором (рН 9,6) антигенные препараты в концентрации 10 мкг/мл, разведенные 0,05 М фосфатно-солевым буферным раствором (рН 7,3) с твином в 200 раз сыворотки

Следовательно, наиболее перспективным для использования в качестве антигенного компонента тест-системы ИФА для серологической диагностики аденовирусной инфекции КРС являлся препарат № 1.

Для получения препаратов иммуноглобулинов авторами осуществлена оценка возможности использования очищенных антигенных препаратов аденовируса первой подгруппы в качестве иммунизирующих агентов (рис. 7).

При исследовании сывороток крови кроликов на 45-е сутки после введения антигенных препаратов был установлен прирост титров специфических антител на уровне 1:400–1:3200.

Антигенная специфичность очищенного авторами аденовирусного протеина и возможность применения последнего как иммунизирующего агента подтверждают эффективность предложенного способа получения антигена аденовируса КРС первой подгруппы.

Разработанный способ получения антигена может быть использован для получения антигенных препаратов вирусов — возбудителей, опасных для сельскохозяйственных животных инфекций.

Выводы/Conclusions

Предложенный авторами способ получения антигена аденовируса КРС первой подгруппы, который включает приготовление матровой рас- плодки вируса на перевиваемой клеточной линии ВНК-21/13, наработку вирусной биомассы методом роллерного культивирования, разрушение инфицированных клеток ультразвуком и освобождение от клеточных фрагментов центрифугированием, осаждение антигена с применением ПЭГ-6000 и

концентрирование последнего через ступенчатый градиент хлористого цезия путем УЦФ, позволили получить очищенный препарат, содержащий протеин с молекулярной массой 50,0 кДа и проявляющий высокую антигенную активность.

Дальнейшие исследования открывают перспективы применения очищенного антигена аденовируса для конструирования тест-системы ИФА с целью серологической диагностики аденовирусной инфекции КРС.

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

1. Галеева А.Г. и др. Идентификация вариантов вируса вирусной диареи крупного рогатого скота — контаминантов производственных клеточных линий. *Аграрная наука*. 2025; (2): 61–66. <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2025-391-02-61-66>
2. Gaudino M., Nagamine B., Ducatez M.F., Meyer G. Understanding the mechanisms of viral and bacterial coinfections in bovine respiratory disease: a comprehensive literature review of experimental evidence. *Veterinary Research*. 2022; 53: 70. <https://doi.org/10.1186/s13567-022-01086-1>
3. Лобова Т.П., Михайлова В.В., Скворцова А.Н., Шишкина М.С. Верификация тест-системы для выявления антител к вирусу диареи крупного рогатого скота иммуноферментным методом «ВД КРС — СЕРОТЕСТ плюс». *Аграрная наука*. 2024; 379(2): 48–52. <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2024-379-2-48-52>
4. Dyakonova A., Siben A. Dangerous bacterial infections of farm animals in Russia and the Tyumen region. *International Scientific and Practical Conference "From Modernization to Rapid Development: Ensuring Competitiveness and Scientific Leadership of the Agro-Industrial Complex" (IDSISA 2024)*. *BIO Web of Conferences*. 2024; 108: 03010. <https://doi.org/10.1051/bioconf/202410803010>
5. Makarova V.N., Badeeva O.B., Simanova I.N., Korukina M.V. Etiology and diagnosis of the gastrointestinal and respiratory diseases of calves in the farms of the Vologda region. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 2020; 548: 072027. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/548/7/072027>
6. Батомункуев А.С., Греченко Ю.А. Вирусные инфекционные болезни крупного рогатого скота в Иркутской области. *Вестник ИРГСХА*. 2020; 101: 112–119. <https://www.elibrary.ru/jlbqrm>
7. de Jong A. et al. Antimicrobial susceptibility among respiratory tract pathogens isolated from diseased cattle and pigs from different parts of Europe. *Journal of Applied Microbiology*. 2023; 134(8): 1xad132. <https://doi.org/10.1093/jambio/1xad132>
8. Panghal R., Dahiya S., Gupta A.K., Sharma V., Bangar Y., Kakker N.K. Persistence of maternal antibodies in calves born of combined foot-and-mouth disease + haemorrhagic septicaemia vaccinated buffaloes at organized dairy farm. *Indian Journal of Animal Sciences*. 2023; 93(8): 759–763. <https://doi.org/10.56093/ijans.v93i8.127857>
9. Лартон Р.Р., Алимов А.М. Экспресс-индикация возбудителей вирусной диареи, инфекционного ринотрахеита, парагриппа-3 крупного рогатого скота. *Вестник Марийского государственного университета. Серия: Сельскохозяйственные науки. Экономические науки*. 2022; 8(1): 35–41. <https://doi.org/10.30914/2411-9687-2022-8-1-35-41>
10. Красочко П.А., Красочко И.А., Целуева Н.И., Дмитриев К.А. Изучение поствакцинальных антител у коров к вирусам, вызывающим респираторные инфекции. *Актуальные проблемы лечения и профилактики болезней молодняка: материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 100-летию учреждения образования «Витебская ордена «Знак Почёта» государственная академия ветеринарной медицины»*. Витебск: Витебская государственная академия ветеринарной медицины. 2024; 183–188. <https://www.elibrary.ru/wmwjhf>
11. Гумеров В.Г. и др. Сероиммунологический мониторинг аденовирусной инфекции крупного рогатого скота в животноводческих хозяйствах Приволжского федерального округа. *Инновационные решения актуальных вопросов биобезопасности. Сборник материалов Международной научно-практической конференции*. Казань: Альянс. 2022; 173–176. <https://www.elibrary.ru/teqjaa>

REFERENCES

1. Galeeva A.G. et al. Identification of bovine viral diarrhea virus variants — contaminants of industrial cell lines. *Agrarian science*. 2025; (2): 61–66 (in Russian). <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2025-391-02-61-66>
2. Gaudino M., Nagamine B., Ducatez M.F., Meyer G. Understanding the mechanisms of viral and bacterial coinfections in bovine respiratory disease: a comprehensive literature review of experimental evidence. *Veterinary Research*. 2022; 53: 70. <https://doi.org/10.1186/s13567-022-01086-1>
3. Lobova T.P., Mikhailova V.V., Skvortsova A.N., Shishkina M.S. Verification of a test system for detecting antibodies to bovine diarrhea virus using the enzyme immunoassay method "Cattle VD — SEROTEST plus". *Agrarian science*. 2024; 379(2): 48–52 (in Russian). <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2024-379-2-48-52>
4. Dyakonova A., Siben A. Dangerous bacterial infections of farm animals in Russia and the Tyumen region. *International Scientific and Practical Conference "From Modernization to Rapid Development: Ensuring Competitiveness and Scientific Leadership of the Agro-Industrial Complex" (IDSISA 2024)*. *BIO Web of Conferences*. 2024; 108: 03010. <https://doi.org/10.1051/bioconf/202410803010>
5. Makarova V.N., Badeeva O.B., Simanova I.N., Korukina M.V. Etiology and diagnosis of the gastrointestinal and respiratory diseases of calves in the farms of the Vologda region. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 2020; 548: 072027. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/548/7/072027>
6. Batomunkuev A.S., Gretchenko Yu.A. Viral infectious diseases of cattle in the Irkutsk region. *Vestnik IrGSHA*. 2020; 101: 112–119 (in Russian). <https://www.elibrary.ru/jlbqrm>
7. de Jong A. et al. Antimicrobial susceptibility among respiratory tract pathogens isolated from diseased cattle and pigs from different parts of Europe. *Journal of Applied Microbiology*. 2023; 134(8): 1xad132. <https://doi.org/10.1093/jambio/1xad132>
8. Panghal R., Dahiya S., Gupta A.K., Sharma V., Bangar Y., Kakker N.K. Persistence of maternal antibodies in calves born of combined foot-and-mouth disease + haemorrhagic septicaemia vaccinated buffaloes at organized dairy farm. *Indian Journal of Animal Sciences*. 2023; 93(8): 759–763. <https://doi.org/10.56093/ijans.v93i8.127857>
9. Larton R.R., Alimov A.M. Express indication of pathogens of viral diarrhea, infectious rhinotracheitis, parainfluenza-3 in cattle. *Bulletin of the Mari State University. Series: Agricultural Sciences. Economic sciences*. 2022; 8(1): 35–41 (in Russian). <https://doi.org/10.30914/2411-9687-2022-8-1-35-41>
10. Krasochko P.A., Krasochko I.A., Tselueva N.I., Dmitriev K.A. Study of post-vaccination antibodies in cows to viruses causing respiratory infections. *Actual problems of treatment and prevention of diseases of young animals: materials of the International scientific and practical conference dedicated to the 100th anniversary of the educational institution "Vitebsk Order of the Badge of Honor State Academy of Veterinary Medicine"*. Vitebsk: Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine. 2024; 183–188 (in Russian). <https://www.elibrary.ru/wmwjhf>
11. Gumerov V.G. et al. Seroimmunological monitoring of bovine adenovirus infection in livestock farms of the Volga federal district. *Innovative solutions to current biosafety issues. Materials of the International scientific and practical conference*. Kazan: Alliance. 2022; 173–176 (in Russian). <https://www.elibrary.ru/teqjaa>

12. Paim W.P. *et al.* Identification and genetic characterization of an isolate of bovine adenovirus 7 from the United States, a putative member of a new species in the genus *Atadenovirus*. *Archives of Virology*. 2021; 166(10): 2835–2839. <https://doi.org/10.1007/s00705-021-05184-x>
13. Jesse S.T. *et al.* Molecular characterization of a bovine adenovirus type 7 (Bovine Atadenovirus F) strain isolated from a systemically infected calf in Germany. *Virology Journal*. 2022; 19: 89. <https://doi.org/10.1186/s12985-022-01817-y>
14. Vaatstra B.L., Tisdall D.J., Blackwood M., Fairley R.A. Clinicopathological features of 11 suspected outbreaks of bovine adenovirus infection and development of a real-time quantitative PCR to detect bovine adenovirus type 10. *New Zealand Veterinary Journal*. 2016; 64(5): 308–313. <https://doi.org/10.1080/00480169.2016.1198280>
15. Яруллин А.И. и др. Оценка серопревалентности аденовирусной инфекции крупного рогатого скота в некоторых животноводческих хозяйствах. *Инновационные решения актуальных вопросов биологической и токсикологической безопасности: сборник материалов Всероссийской научно-практической конференции с международным участием*. Казань. 2023; 214–216. <https://www.elibrary.ru/knzcne>
16. Спиридонов А.Г. Иммуноферментный метод диагностики анаэробной энтеротоксемии животных. *Ветеринарный врач*. 2018; (6): 26–29. <https://www.elibrary.ru/yqvejn>
17. Горбунова М.Е., Усольцев К.В., Шангараев Р.И., Громова Е.А., Хаертынов К.С., Галеева А.Г. Очистка антигенов вируса лейкоза крупного рогатого скота методом ультрацентрифугирования. *Ветеринарный врач*. 2024; (2): 43–48. <https://www.elibrary.ru/wdipnk>
18. Ефимова М.А. и др. Выделение, очистка и оценка серологической активности антигенов вируса бешенства. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2017; (4): 27–31. <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2017-4-27-31>
19. Ефимова М.А. и др. Выделение гликопротеина вируса бешенства методом трехфазной экстракции и характеристика его антигенных свойств. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2022; (1): 86–93. <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2022-1-86-93>
20. Savelieva E., Avdeenko A. The use of antigens derived from *Bacillus thuringiensis* bacteria for further differentiation. *Heliyon*. 2024; 10(8): e29744. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e29744>
21. Мухамеджанова А.Г., Ефимова М.А., Чернов А.Н., Хаертынов К.С., Ахмадеев Р.М. Получение антигена вируса бешенства и оценка его активности и специфичности. *Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана*. 2018; 236: 138–142. <https://www.elibrary.ru/pjtypr>
22. Земсков А.М., Земскова В.А., Бакулева Н.И. Современные инфекции. Принципы диагностики и лечения. *Иммунопатология, аллергология, инфектология*. 2024; 2: 30–36. <https://doi.org/10.14427/jipai.2024.2.30>
23. Нестеренко Л.Н., Алаторцева Г.И., Амиантова И.И., Крымский М.А., Борисова В.Н. Обнаружение антигена вируса гепатита Е в образцах воды и молока с помощью иммунохроматографической тест-системы. *Лабораторная диагностика. Восточная Европа*. 2024; 13(S1): 192–194. <https://www.elibrary.ru/yrvlmw>
24. Ахмадеев Р.М. и др. Получение антигена вируса бешенства методом трехфазной экстракции. *Ветеринарный врач*. 2020; (5): 26–33. <https://www.elibrary.ru/cuhfmc>
25. Глазкова Д.В., Михайлюк Е.А., Шипулин Г.А., Богословская Е.В. Очистка аденоассоциированного вируса DJ методом анионообменной хроматографии: оптимизация условий. *Биотехнология*. 2023; 39(4): 68–80. <https://doi.org/10.56304/S023427582304004X>
26. Nasukawa T. *et al.* Virus purification by CsCl density gradient using general centrifugation. *Archives of Virology*. 2017; 162(11): 3523–3528. <https://doi.org/10.1007/s00705-017-3513-z>
27. Зулфугарова С.Т., Рустамова С.М., Гусейнова И.М. Активность антиоксидантных ферментов и термостабильность мембран у генотипов твердой пшеницы при тепловом стрессе. *Аграрная наука*. 2022; (2): 56–61. <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2022-356-2-56-61>
28. Laemmli U.K. Cleavage of Structural Proteins during the Assembly of the Head of Bacteriophage T4. *Nature*. 1970; 227(5259): 680–685. <https://doi.org/10.1038/227680a0>
29. Мухаммадиев Р.С. и др. Очистка антигенов штамма ТК-А (ВИЭВ)-В2 бычьего альфагерпесвируса биотипа 1. *Ветеринария Кубани*. 2025; (3): 1–7. <https://doi.org/10.33861/2071-8020-2025-3-3-7>
12. Paim W.P. *et al.* Identification and genetic characterization of an isolate of bovine adenovirus 7 from the United States, a putative member of a new species in the genus *Atadenovirus*. *Archives of Virology*. 2021; 166(10): 2835–2839. <https://doi.org/10.1007/s00705-021-05184-x>
13. Jesse S.T. *et al.* Molecular characterization of a bovine adenovirus type 7 (Bovine Atadenovirus F) strain isolated from a systemically infected calf in Germany. *Virology Journal*. 2022; 19: 89. <https://doi.org/10.1186/s12985-022-01817-y>
14. Vaatstra B.L., Tisdall D.J., Blackwood M., Fairley R.A. Clinicopathological features of 11 suspected outbreaks of bovine adenovirus infection and development of a real-time quantitative PCR to detect bovine adenovirus type 10. *New Zealand Veterinary Journal*. 2016; 64(5): 308–313. <https://doi.org/10.1080/00480169.2016.1198280>
15. Yarullin A.I. *et al.* Assessment of seroprevalence of bovine adenovirus infection in some livestock farms. *Innovative solutions to current issues of biological and toxicological safety: Collection of materials from the All-Russian scientific and practical conference with international participation*. Kazan. 2023; 214–216 (in Russian). <https://www.elibrary.ru/knzcne>
16. Spiridonov A.G. Enzyme linked immunoassay (ELISA) method for diagnostics of animals anaerobic enterotoxemia. *Veterinary vrach*. 2018; (6): 26–29 (in Russian). <https://www.elibrary.ru/yqvejn>
17. Gorbunova M.E., Usoltsev K.V., Shangaraev R.I., Gromova E.A., Khaertynov K.S., Galeeva A.G. Purification of bovine leukemia virus antigens by ultracentrifugation. *Veterinary vrach*. 2024; (2): 43–48 (in Russian). <https://www.elibrary.ru/wdipnk>
18. Efimova M.A. *et al.* Isolation, Purification and Evaluation of Serological Activity of Rabies Virus Antigens. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2017; (4): 27–31 (in Russian). <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2017-4-27-31>
19. Efimova M.A. *et al.* Isolation of Rabies Virus Glycoprotein Using Three-Phase Extraction and Characteristics of its Antigenic Properties. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2022; (1): 86–93 (in Russian). <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2022-1-86-93>
20. Savelieva E., Avdeenko A. The use of antigens derived from *Bacillus thuringiensis* bacteria for further differentiation. *Heliyon*. 2024; 10(8): e29744. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e29744>
21. Mukhamedzhanova A.G., Efimova M.A., Chernov A.N., Khaertynov K.S., Akhmadeev R.M. Obtaining rabies virus antigen and assessment of its activity and specificity in immunosorbent assay and immunoblot. *Scientific notes Kazan Bauman State Academy of Veterinary Medicine*. 2018; 236: 138–142 (in Russian). <https://www.elibrary.ru/pjtypr>
22. Zemskov A.M., Zemskova V.A., Bakuleva N.I. Modern infections. Principles of diagnosis and treatment. *Immunopathology, allergology, infectology*. 2024; 2: 30–36 (in Russian). <https://doi.org/10.14427/jipai.2024.2.30>
23. Nesterenko L.N., Alatorseva G.I., Amiantova I.I., Krymsky M.A., Borisova V.N. Detection of hepatitis E virus antigen in water and milk samples using an immunochromatographic test system. *Laboratory diagnostics. Eastern Europe (Laboratornaya diagnostika. Vostochnaya Yevropa)*. 2024; 13(S1): 192–194 (in Russian). <https://www.elibrary.ru/yrvlmw>
24. Akhmadeev R.M. *et al.* Obtaining rabies virus antigen by three-phase extraction. *Veterinary vrach*. 2020; (5): 26–33 (in Russian). <https://www.elibrary.ru/cuhfmc>
25. Glazkova D.V., Mikhaylyuk E.A., Shipulin G.A., Bogoslovskaya E.V. Purification of adeno-associated DJ virus by anion-exchange chromatography: optimization of conditions. *Biotechnology*. 2023; 39(4): 68–80 (in Russian). <https://doi.org/10.56304/S023427582304004X>
26. Nasukawa T. *et al.* Virus purification by CsCl density gradient using general centrifugation. *Archives of Virology*. 2017; 162(11): 3523–3528. <https://doi.org/10.1007/s00705-017-3513-z>
27. Zulfugarova S.T., Rustamova S.M., Huseynova I.M. Antioxidant enzymes activity and membrane thermostability in durum wheat genotypes under heat stress. *Agrarian science*. 2022; (2): 56–61 (in Russian). <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2022-356-2-56-61>
28. Laemmli U.K. Cleavage of Structural Proteins during the Assembly of the Head of Bacteriophage T4. *Nature*. 1970; 227(5259): 680–685. <https://doi.org/10.1038/227680a0>
29. Mukhammadiyev R.S. *et al.* Purification of antigens from bovine alphaherpesvirus biotype 1 strain TK-A (VIEV)-B2. *Veterinaria Kubani*. 2025; (3): 1–7 (in Russian). <https://doi.org/10.33861/2071-8020-2025-3-3-7>

30. Смелянский В.П. и др. Сравнительная оценка диагностических препаратов на основе антигенов коксиселл Бернета, выделенных разными методами. Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. 2009; 3(31): 21–23. <https://www.elibrary.ru/plumfl>

31. Каримуллина И.Г. и др. Подбор условий выращивания бычьего герпесвируса и бычьего вируса вирусной диареи на культурах клеток. Ветеринарный врач. 2025; (2): 68–76. <https://www.elibrary.ru/hltmvm>

32. Woldemariam T., Wang W., Said A., Tikoo S.K. Regions of bovine adenovirus-3 IVa2 involved in nuclear/nucleolar localization and interaction with pV. *Virology*. 2020; 546: 25–37. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2020.04.006>

33. Zhao X., Tikoo S.K. Nuclear and Nucleolar Localization of Bovine Adenovirus-3 Protein V. *Frontiers in Microbiology*. 2020; 11: 579593. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.579593>

ОБ АВТОРАХ

Айнур Ильнурович Яруллин

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

Ришат Салаватович Мухаммадиев

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

Ринат Салаватович Мухаммадиев

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

Ильсияр Габделгазизовна Каримуллина

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

Диана Анатольевна Сорокина

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

Вали Галиевич Гумеров

доктор ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник
gumerowali@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-5878-4299>

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

30. Smelyansky V.P. et al. Comparative evaluation of diagnostic preparations based on Coxiella Burnetii antigens isolated by different methods. *Bulletin of the Volgograd State Medical University*. 2009; 3(31): 21–23 (in Russian). <https://www.elibrary.ru/plumfl>

31. Karimullina I.G. et al. Selection of conditions for growing bovine herpes virus and bovine viral diarrhea virus on cell cultures. *Veterinarny vrach*. 2025; (2): 68–76 (in Russian). <https://www.elibrary.ru/hltmvm>

32. Woldemariam T., Wang W., Said A., Tikoo S.K. Regions of bovine adenovirus-3 IVa2 involved in nuclear/nucleolar localization and interaction with pV. *Virology*. 2020; 546: 25–37. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2020.04.006>

33. Zhao X., Tikoo S.K. Nuclear and Nucleolar Localization of Bovine Adenovirus-3 Protein V. *Frontiers in Microbiology*. 2020; 11: 579593. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.579593>

ABOUT THE AUTHORS

Ainur Ilnurovich Yarullin

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

Rishat Salavatovich Mukhammadiev

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

Rinat Salavatovich Mukhammadiev

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

Ilsiyar Gabdelgazizovna Karimullina

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

Diana Anatolyevna Sorokina

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

Vali Galievich Gumerov

Doctor of Veterinary Sciences, Leading Researcher
gumerowali@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-5878-4299>

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



Подпишитесь на Telegram канал
ИД «Аграрная наука»



Еженедельно вы будете получать свежие новости АПК и сельского хозяйства, анонсы отраслевых событий, знакомиться с результатами научных исследований, репортажами и интервью.



Оформите подписку на информационные
e-mail рассылки



Дважды в неделю на ваш e-mail ящик будут приходить уведомления о топовых событиях АПК, аналитика, прогнозы, приглашения на выставки и конференции.

Через наши рассылки вы можете познакомиться со своими товарами и услугами потенциальных клиентов.

Связаться с редакцией:
Тел. +7 (495) 777-67-67
(доб. 1453)
agrovetpress@inbox.ru