

На правах рукописи



Комина Алина Константиновна

**ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА
ПАРВОВИРУСОВ СВИНЕЙ, ЦИРКУЛИРУЮЩИХ НА ТЕРРИТОРИИ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

4.2.3 Инфекционные болезни и иммунология животных

1.5.10 Вирусология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва – 2026

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии им. К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской академии наук» (ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН).

Научный руководитель: **Южаков Антон Геннадиевич**
кандидат биологических наук

Официальные оппоненты: **Цыбанов Содном Жамьянович**
доктор биологических наук, профессор научно-образовательного центра Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр вирусологии и микробиологии» (ФГБНУ «ФИЦВиМ»)

Шотин Андрей Романович
кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник референтной лаборатории по африканской чуме свиней Федерального государственного бюджетного учреждения «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»)


Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии - МВА имени К.И. Скрябина» (ФГБОУ ВО «МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина»)

Защита диссертации состоится «19» мая 2026 г. в 13.00 часов на заседании диссертационного совета 24.1.249.01, созданного на базе ФГБНУ «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии им. К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской Академии Наук» по адресу: 109428, г. Москва, ул. Рязанский проспект, д.24, к.1., тел.: 8(945)970-03-68.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН. Полный текст диссертации, автореферата и отзыв научного руководителя размещены на официальном сайте <http://viev.ru>

Автореферат разослан « ____ » _____ 2026 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор ветеринарных наук

 Александр Александрович Шабейкин

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы

Свиноводство в России является динамично развивающейся отраслью, основной рост которой обеспечивают крупные предприятия (93,1% продукции). Тем не менее, свиноводческие хозяйства сталкиваются со снижением воспроизводства поголовья. Одной из причин репродуктивных потерь в свиноводстве являются вирусные заболевания, среди которых можно выделить парвовирусную инфекцию свиней (ПВИС). Клинически она проявляется только у супоросных свиноматок, вызывая мертворождения, мумификацию плодов, эмбриональную смертность и бесплодие (SMEDI-синдром), что приводит к сокращению численности приплода на 20–30%, а в отдельных случаях — к полной потере помёта. У остальных животных инфекция протекает субклинически, что способствует её распространению через биологические выделения, контаминированные помещения и сперму. Помимо этого, в распространении ПВИС определённую роль могут играть дикие кабаны как потенциальный резервуар возбудителя [Mészáros I., 2017; Streck A.F., 2020].

Возбудителем ПВИС является парвовирус свиней 1 вида (ПВС1). Он широко распространён по всему миру и встречается как в свиноводческих хозяйствах, так и в стадах диких кабанов. Кроме того, его изменчивость представляет опасность в связи со снижением эффективности используемых вакцин. Так, появление нового антигенного варианта ПВС1 (штамм 27а) привело к всплеску ПВИС в 2000-х годах в Европе. Дальнейшие исследования показали, что вакцины, основанные на штамме NADL-2, не способны в полной мере защитить от 27а-подобных изолятов [Vereecke N., 2022]. В нашей стране современные данные о распространённости ПВС1 крайне ограничены и представлены лишь единичными публикациями, а генетическое разнообразие вируса не изучали.

Кроме того, за последние 20 лет с помощью современных методов секвенирования и метагеномного анализа были идентифицированы ещё семь видов ПВС (ПВС2-ПВС8), обнаруженные в Китае, Колумбии, Бразилии, Японии, США, Канаде, Мексике, Южной Корее и Европе [Cui J., 2017; Li J., 2021; Park G.N., 2021; Vargas-Bermudez D., 2024]. Более того, эти вирусы встречаются не только у домашних свиней, но и у диких кабанов. В отличие от ПВС1, патогенный потенциал ПВС2-ПВС8 остаётся малоизученным, поскольку выделения их в культуре клеток и экспериментального заражения животных не проводили.

Таким образом, несмотря на растущий интерес к парвовирусам свиней и обширную информацию об их циркуляции за рубежом, в России отсутствуют современные данные как об известном ранее ПВС1, так и о других видах парвовирусов свиней. В этом контексте актуальной научной задачей становится изучение распространённости и генетического разнообразия различных видов

парвовирусов среди домашних свиней и диких кабанов на территории Российской Федерации. Кроме того, важным направлением исследований является выделение вирусов в культурах клеток, что позволит изучать их *in vitro* и *in vivo*.

Степень разработанности

Впервые ПБС1 был обнаружен в 1965 году в Германии и описан Maug A. и Mahnel H. [Maug A., 1966]. В 1975 году была разработана первая вакцина на основе штамма NADL-2, применяемая до сих пор [Mengeling W.L., 1975]. В 1985 году в США выделили высокопатогенный штамм Kresse с антигенным профилем, отличным от NADL-2, и Kresse-подобные штаммы долгое время доминировали в хозяйствах США, Китая, Южной Кореи и странах Европы [Kresse J.I., 1985]. В 2006 году в Германии был описан антигенный вариант ПБС1 - 27а с повышенной вирулентностью [Zimmermann P., 2006]. За несколько лет 27а-подобные штаммы ПБС1 детектировали по всей Европе, и сейчас они доминируют в свиноводческих хозяйствах. На сегодня ПБС1 выявлен в большинстве стран с развитым свиноводством, включая Россию, где его впервые обнаружил Орлянкин Б.Г. с соавторами в 1982 году при исследовании массовых аборт в Нижегородской области. Впоследствии на основе полученного штамма И-82 разработали первую отечественную вакцину против ПВИС [Орлянкин Б.Г., 1985]. В дальнейшем при серологическом мониторинге в 1997-2002 гг. антитела к вирусу отмечали в 45 регионах страны (в 236 из 246 хозяйств, в которых не проводили вакцинацию) [Ерофеев С.Г., 2002]. На основе штамма ВЛ-94 российские ученые разработали инактивированную эмульсионную вакцину против ПВИС. Кроме того, в ряде исследований сообщали об обнаружении антител к ПБС1 в стадах диких кабанов некоторых регионов России [Ерофеев С.Г., 2002; Щербаков А.В., 2007].

Генетическое разнообразие ПБС1 изучают с 2000-х годов. За это время разработали несколько систем классификации на основе последовательности генов, кодирующих капсидные и неструктурные белки [Cadar D., 2013; Oh W.T., 2017]. Согласно современной классификации, основанной на анализе внутри- и межкластерной аминокислотной идентичности белков VP1/VP2, штаммы ПБС1 разделяют на четыре кластера (PPV1a – PPV1d) [Vereecke N., 2022]. Параллельно с 2001 года открыты другие виды парвовирусов (ПБС2-ПБС8). Их распространение отслеживают в Азии, Европе и Америке, однако роль в патологии не подтверждена. Единичные попытки выделить ПБС6 в культуре клеток оказались безуспешными, что подчеркивает необходимость дальнейших исследований по культивированию различных видов ПБС [Ni J., 2014].

Цель работы

Целью данного исследования являлось изучение распространённости, молекулярно-генетических и биологических свойств парвовирусов свиней, циркулирующих в популяции домашних свиней и в стадах диких кабанов Российской Федерации.

Для достижения поставленной цели были сформулированы следующие задачи:

1. Подобрать системы праймеров и зондов для проведения ПЦР-РВ и оптимизировать условия проведения реакций для обнаружения ДНК ПВС2-ПВС7, создать рекомбинантные положительные контроли.
2. Изучить распространённость ПВС1-ПВС7 у домашних свиней и диких кабанов из различных регионов России в период с 2021 по 2025 годы.
3. Определить нуклеотидные последовательности ОРС2 семи видов ПВС, и провести филогенетический анализ российских изолятов.
4. Провести сравнительный анализ аминокислотных последовательностей капсидного белка VP1 российских изолятов ПВС1 для выявления аминокислотных замен в эпитопах, влияющих на антигенную специфичность.
5. Подобрать чувствительные культуры клеток для культивирования разных видов парвовирусов свиней и охарактеризовать выделенные полевые изоляты ПВС *in vitro*.

Научная новизна

Представлены современные данные о распространённости ПВС1 в свиноводческих хозяйствах и стадах диких кабанов 18 регионов России в 2021-2025 гг. Были определены 24 полные нуклеотидные последовательности 2-й открытой рамки считывания (ОРС2), кодирующей капсидный белок VP1, изолятов ПВС1, циркулирующих в нашей стране. С помощью филогенетического анализа и сравнения аминокислотных последовательностей VP1 установлено, что изоляты ПВС1 распределены в два кластера: PPV1b (27a-подобные штаммы) и PPV1d (Kresse-подобные штаммы).

В ходе проведенных исследований впервые на территории Российской Федерации были обнаружены шесть видов парвовирусов (ПВС2-ПВС7) и продемонстрирована их распространённость в популяциях домашних свиней и диких кабанов. Впервые получены нуклеотидные последовательности генов капсидных белков изолятов ПВС2-ПВС7, выявленных на территории РФ.

Впервые в культурах клеток выделены полевые изоляты «PPV5-Moscow-4060» (ПВС5) и «PPV6-Kem-8» (ПВС6) и охарактеризованы их биологические свойства.

Теоретическая и практическая значимость

Полученные актуальные данные о циркуляции семи видов ПВС1-ПВС7 в свиноводческих хозяйствах и в стадах диких кабанов на территории Российской Федерации необходимы для научных коллективов и практикующих ветеринарных врачей при проведении эпизоотологических исследований и санитарно-гигиенических мероприятий в свиноводческих хозяйствах для предотвращения возникновения вспышек инфекции. В результате проведённых исследований получены и опубликованы в международной базе данных GenBank нуклеотидные последовательности ОРС2 от 41 изолята ПВС1-ПВС7. Депонированные последовательности предназначены для проведения филогенетического и филодинамического анализов, а также для разработки диагностических тест-систем.

Штаммы «PPV5-Moscow-4060» (ПВС5) и «PPV6-Kem-8» (ПВС6) депонированы во «Всероссийскую коллекцию патогенных и вакцинных штаммов микроорганизмов — возбудителей инфекционных болезней животных ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН» в качестве референсных штаммов для разработки вакцинных препаратов и диагностических тест-систем и изучения биологических свойств парвовирусов свиней.

Методология и методы исследования

Методология диссертационной работы спланирована в соответствии со структурой и задачами. В работе использованы следующие научно-исследовательские методы: молекулярно-генетические (выделение ДНК, ПЦР и ПЦР в режиме реального времени, гель-электрофорез, клонирование, секвенирование), вирусологические (культивирование культур клеток, выделение вируса в культуре клеток, накопление и титрование вируса), биоинформатический анализ (сборка и выравнивание нуклеотидных последовательностей, филогенетический анализ), цитологические (оценка морфологических изменений) и статистические (критерий Фишера).

Положения, выносимые на защиту:

1. Показана циркуляция ПВС1-ПВС7 в России как в условиях промышленных свинокомплексов среди домашних свиней, так и среди диких кабанов.
2. Российские изоляты ПВС1 относятся к двум генетическим кластерам: PPV1b (27a-подобные штаммы) и PPV1d (Kresse-подобные).
3. Циркулирующие в России ПВС2-ПВС7 не имеют чёткой географической кластеризации и входят в филогенетические клады, объединяющие штаммы из разных стран.
4. Чувствительной к ПВС5 является первичная культура клеток ТП, а к ПВС6 – перевиваемые культуры клеток СПЭВ и ПС.

Степень достоверности и апробация результатов исследования

Достоверность результатов обеспечена большим количеством наблюдений, современной методологией и сертифицированным оборудованием, подходящим для поставленных задач исследования.

Основные положения диссертационной работы доложены на X международной конференции молодых учёных OpenBio: биоинформатиков, биотехнологов, биофизиков, вирусологов и молекулярных биологов (Наукоград Кольцово, 2023 г.) и 28-ой Пущинской школе-конференции «БИОЛОГИЯ – НАУКА XXI ВЕКА» (г. Пущино, 2025 г.).

Публикации

По материалам диссертации опубликованы 4 научные работы: 1 статья в журнале, рекомендованном ВАК РФ, и 3 статьи в рецензируемых научных изданиях, индексируемых в международной базе Scopus.

Личный вклад автора

Основные этапы диссертационной работы выполнены автором самостоятельно или при его непосредственном участии. Автор выражает благодарность аспирантам Красникову Н.Ю. и Рыковой В.С., кандидатам ветеринарных наук Аноятбековой А.М. и Кучерук О.Д., кандидату биологических наук Жуковой Е.В., а также доктору биологических наук Власовой Н.Н. за содействие в проведении экспериментальной и аналитической работы.

Структура и объём диссертации

Материалы диссертации изложены на 130 листах компьютерного текста и включают: введение, обзор литературы, описание материалов и методов, собственные исследования, обсуждение полученных результатов, заключение, выводы и перспективы дальнейшей разработки темы, список использованной литературы (156 источников, в т.ч. – 137 иностранных работ). Диссертационная работа содержит 9 таблиц, 19 рисунков и приложения на 12 листах.

2. ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Научная работа выполнена в период с 2021 по 2025 гг. в лаборатории биохимии и молекулярной биологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской академии наук» (ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН).

2.1 Материалы и методы

Материал для исследования. В рамках работы были исследованы 1114 проб биологического (сыворотка крови, сперма) и патологического (селезёнка, лёгкие, лимфатические узлы) материала от свиней различных возрастных групп и абортированных плодов из 31 свиного комплекса Российской Федерации. Образцы

были направлены в лабораторию в рамках рутинного диагностического обследования животных на свинокомплексах. Также исследовали патологический материал (селезёнка, лёгкие, лимфатические узлы) от 153 диких кабанов. Для всех кабанов были указаны место и дата сбора образцов, по возможности возраст и пол. Возраст определялся по прорезыванию и смене зубов. Информация о клинических признаках инфекции и состоянии здоровья животных отсутствовала.

Культуры клеток. Использовали перевиваемые культуры клеток из коллекции перевиваемых соматических культур сельскохозяйственных и промысловых животных и Всероссийской коллекции постоянных линий клеток беспозвоночных ВИЭВ: почка эмбриона свиньи версенезированная (СПЭВ), почка свиньи (ПС), тестикулы поросёнка (ПТП). Первично трипсинизированную культуру клеток тестикул поросёнка готовили совместно со старшим научным сотрудником лаборатории биохимии и молекулярной биологии ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН, к.в.н. А.М. Аноятбековой по методике Дьяконова.

Праймеры. Модификацию систем праймеров и зондов для ПЦР-РВ и разработку праймеров для секвенирования нуклеотидных последовательностей ORC2 проводили с помощью алгоритма «ПЦР *in silico*» в программе UGENE (версия 52.0, Россия), основываясь на выравнивании нуклеотидных последовательностей, имеющихся в базе данных GenBank.

Выделение ДНК парвовирусов свиней из вирусосодержащих культур клеток, сыворотки крови или гомогената органов проводили с помощью коммерческого набора для выделения тотальной РНК/ДНК «РИБО-преп» («АмплиСенс», Россия), согласно инструкции производителя.

ПЦР и ПЦР в реальном времени проводили в объёме 25 мкл. Реакционная смесь содержала 5,0 мкл выделенной ДНК, 2,5 мкл 10-кратного Taq-буфера (с 15 mM Mg²⁺), 0,5 мкл смеси dNTPs (10 mM каждого), 13,75 мкл воды, не содержащей нуклеаз, 0,25 мкл Taq-полимеразы (5 ед./мкл), 1,0 мкл 10 пМ прямого и обратного праймеров и 1,0 мкл 10 пМ раствора зонда (для ПЦР-РВ). Постановку ПЦР-РВ и учёт результатов проводили с использованием детектирующих амплификаторов CFX96 Touch («Bio-Rad», США) и DTprime («ДНК-Технология», Россия). Результаты ПЦР анализировали методом горизонтального электрофореза в 1% агарозном геле.

Конструирование рекомбинантных плазмид. Для получения фрагментов геномов ПВС2-ПВС7 использовали праймеры, применяемые в ПЦР-РВ. В качестве матриц ДНК ПВС2-ПВС7 использовали положительные сыворотки крови свиней и патологический материал диких кабанов. Для получения рекомбинантных плазмид использовали плазмидный вектор pAL2-T («Евроген», Россия). Эффективность клонирования оценивали с помощью ПЦР с праймерами M13.

Секвенирование по Сэнгеру проводили с использованием набора Big Dye Terminator Cycle Sequencing Kit («Applied Biosystems», США) согласно инструкции изготовителя. Секвенирование ДНК осуществляли на автоматическом секвенаторе ABI PRISM 3130 Genetic Analyzer («Applied Biosystems», США).

Филогенетический анализ. В работе использовали нуклеотидные последовательности изолятов и штаммов ПВС1-ПВС7, опубликованные в базе данных GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/). Сборку и анализ нуклеотидных последовательностей проводили с помощью программы UGENE 52.0 и программы SeqMan из пакета программ Lasergene 11.1.0 («DNASTAR», США). Выравнивание последовательностей – с помощью алгоритма множественного выравнивания ClustalW программы UGENE. Построение филогенетических деревьев осуществляли с помощью метода максимального правдоподобия (Maximum Likelihood) с использованием модели GTR в программе MEGA 7.0.

Выделение и идентификация вируса. Для выделения ПВС5 использовали перевиваемые культуры клеток: СПЭВ и ПС и первичную культуру ТП. В качестве материала для заражения использовали сыворотки крови от свиней. Заражение осуществляли через 3-4 часа после посева. Адсорбцию проводили 12 часов при 4°C. Вирус культивировали в течение 4-5 дней до образования полного монослоя в контрольных клетках. Затем культуры клеток трижды замораживали (-70°C) и размораживали (+4°C) перед проведением следующего пассажа.

Для выделения ПВС6 использовали перевиваемые культуры клеток: СПЭВ, ПС и ПТП. В качестве материала для заражения использовали сыворотку крови свиньи. Заражение ПВС6 проводили в момент посева в суспензию клеток и без предварительной адсорбции вируса с клетками. Культивирование ПВС6 проводили в течение 3-4 суток до полного формирования монослоя. Затем культуры клеток трижды замораживали (-70°C) и размораживали (+4°C).

Для изучения морфологических изменений в культурах клеток, вызванных ПВС5 и ПВС6, применяли цитологическое окрашивание азур-эозином по методу Романовского-Гимза, а также окрашивание с помощью красителя акридинового жёлтого (в случае ПВС6).

Статистическая обработка результатов. При анализе и статистической обработке результатов применяли программу «Microsoft Excel» (Microsoft Office 2010) и программное обеспечение Past 4.17. Статистическая значимость в показателях распространённости ПВС1-ПВС7 среди различных категорий была исследована с использованием точного критерия Фишера путём парных сравнений. Результаты с р-значением (p-value) <0,05 считали статистически значимыми.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Оптимизация систем праймеров и зондов для ПЦР-РВ и разработка положительных контролей для детекции парвовирусов свиней 2-7 видов

На начальном этапе исследования по изучению распространённости парвовирусов свиней необходимо было подобрать системы праймеров и зондов и создать рекомбинантные положительные контроли для детекции ПВС2-ПВС7 с помощью ПЦР-РВ. Из литературных источников мы выбрали системы праймеров и зондов для детекции ПВС2-ПВС7 с помощью ПЦР-РВ [Cui J., 2017; Palinski R., 2016; Xiao C. T., 2012, 2013]. Поскольку для выявления ПВС4 и ПВС5 изначально была разработана система праймеров и зондов для обнаружения их в дуплексной ПЦР-РВ, то решено было и детекцию других видов парвовирусов проводить парами: ПВС3/ПВС6 и ПВС2/ПВС7. Поэтому был внесён ряд изменений в праймеры и зонды для оптимизации их параметров: температура отжига, GC-состав, отсутствие вырожденных нуклеотидов и праймер-димеров. Кроме того, в зондах заменили флуоресцентные красители/гасители на более доступные FAM/ВНQ1 и HEX/ВНQ2 соответственно.

Существенным ограничением при подборе оптимальных температур отжига для систем праймеров и зондов стало отсутствие референсных образцов ДНК ПВС2-ПВС7. В связи с этим следующим этапом работы стал поиск проб биологического материала, положительных на ПВС2-ПВС7, для создания положительных контролей. Были исследованы образцы сыворотки крови 93 домашних свиней и патологического материала (селезёнки, лёгких, лимфатических узлов) 10 кабанов. После чего положительные по результатам ПЦР-РВ пробы использовали при конструировании рекомбинантных плазмид для каждого вида ПВС2-ПВС7.

Полученные положительные контроли использовали для определения оптимальных температур отжига пар праймеров, применяемых в ПЦР-РВ. Проводили градиентную ПЦР с диапазоном до 3°C выше и ниже (шаг в 0,8°C) теоретической температуры, определенной в программе UGENE. Результаты оценивали с помощью электрофореза в агарозном геле. Экспериментально подобранные температуры отжига для систем праймеров и зондов на ПВС2 и ПВС7 не совпали, поэтому дальнейшую их детекцию проводили в отдельных постановках ПЦР. В результате работы мы получили 4 программы амплификации: парные ПВС3/ПВС6 и ПВС4/ПВС5, а также ПВС2 и ПВС7.

3.2 Оценка распространённости ПВС1-ПВС7 в свиноводческих хозяйствах

В рамках изучения распространённости ПВС1-ПВС7 было проанализировано 1016 проб сыворотки крови от домашних свиней из 21 свиноводческого хозяйства 11 регионов Российской Федерации.

Результаты исследований сыворотки крови от свиней показали циркуляцию всех исследуемых видов ПВС в свиноводческих хозяйствах нашей страны (таблица 1). Установлено присутствие одного и более вида ПВС в 16 из 21 (76,2%) обследованных хозяйств, при этом ПВС1 найден в 6 (28,5%) свинокомплексах.

Таблица 1 – Результаты обнаружения ПВС1-ПВС7 в образцах сыворотки крови от домашних свиней.

Регионы	Хозяйство	Кол-во образцов	Количество положительных образцов						
			ПВС1	ПВС2	ПВС3	ПВС4	ПВС5	ПВС6	ПВС7
Вологодская область	№ 1	38	0	0	0	0	0	0	0
Московская область	№ 1	42	1 (2,4%)	0	1 (2,4%)	0	7 (16,7%)	1 (2,4%)	0
	№ 2	8	0	0	0	0	0	0	0
Республика Бурятия	№ 1	30	0	0	0	0	0	0	0
	№ 2	70	0	2 (2,9%)	0	0	16 (22,9%)	0	0
	№ 3	43	0	0	0	0	5 (11,6%)	0	0
Томская область	№ 1	91	1 (1,1%)	0	0	0	11 (12,1%)	13 (14,3%)	0
	№ 2	40	0	1 (2,5%)	0	0	0	0	0
Кемеровская область	№ 1	51	0	0	0	3 (5,9%)	4 (7,8%)	7 (13,7%)	0
	№ 2	8	0	0	0	0	0	0	0
Свердловская область	№ 1	44	0	0	13 (29,5%)	0	7 (15,9%)	0	1 (2,3%)
Псковская область	№ 1	90	0	8 (8,9%)	2 (2,2%)	0	0	0	0
	№ 2	48	0	0	2 (4,2%)	0	0	0	0
Республика Мордовия	№ 1	80	0	0	0	0	0	0	0
	№ 2	80	0	1 (1,3%)	9 (11,3%)	0	9 (11,3%)	0	0
Красноярский край	№ 1	17	0	0	2 (11,8%)	1 (5,9%)	0	0	0
	№ 2	86	1 (1,2%)	2 (2,3%)	8 (9,3%)	6 (7,0%)	12 (14,0%)	17 (19,8%)	4 (4,7%)
	№ 3	22	1 (4,5%)	1 (4,5%)	1 (4,5%)	0	3 (13,6%)	5 (22,7%)	0
	№ 4	26	1 (3,8%)	2 (7,7%)	0	2 (7,7%)	0	6 (23,1%)	0
Тюменская область	№ 1	20	0	2 (10,0%)	3 (15,0%)	0	0	2 (10,0%)	0
Белгородская область	№ 1	82	2 (2,4%)	1 (1,2%)	1 (1,2%)	5 (6,1%)	14 (17,1%)	14 (17,1%)	0
Всего	21	1016	7 (0,7%)	20 (2,0%)	42 (4,1%)	17 (1,7%)	88 (8,7%)	65 (6,4%)	5 (0,5%)

В исследуемых сыворотках крови чаще всего выявляли ПВС5 и ПВС6, обнаруженные в 8,7% и 6,4% случаев соответственно, тогда как наименьшие значения частоты обнаружения были у ПВС1 (0,7%) и ПВС7 (0,5%).

В рамках работы было исследовано 40 проб паренхиматозных органов (лёгкие, лимфатические узлы, селезёнка), полученных от павших животных из свиноводческих хозяйств пяти регионов России (таблица 2). В образцах паренхиматозных органов детектировали пять видов ПВС (кроме ПВС4 и ПВС5), и чаще всего выявляли ПВС2 (32,5%) и ПВС3 (25,0%), тогда как ПВС1 был обнаружен в 10% исследованных проб.

Таблица 2 – Результаты обнаружения ПВС1-ПВС7 в паренхиматозных органах (лёгкие, лимфатические узлы, селезёнка) от домашних свиней.

Регионы	Кол-во образцов	Количество положительных образцов						
		ПВС1	ПВС2	ПВС3	ПВС4	ПВС5	ПВС6	ПВС7
Челябинская область	2	1 50,0%	0	2 100%	0	0	1 50,0%	1 50,0%
Краснодарский край	20	1 5,0%	6 30,0%	0	0	0	0	0
Тюменская область	8	1 12,5%	3 37,5%	4 50,0%	0	0	1 12,5%	1 12,5%
Республика Бурятия	8	1 12,5%	4 50,0%	4 50,0%	0	0	0	1 12,5%
Красноярский край	2	0	0	0	0	0	0	0
Всего	40	4 (10,0%)	13 (32,5%)	10 (25,0%)	0	0	2 (5,0%)	3 (7,5%)

Поскольку ПВС1 вызывает мертворождение и аборт, то в ходе проведенной работы было исследовано 42 абортированных плода из хозяйств 6 регионов России. Помимо этого исследовано 16 образцов спермы, полученных от хряков. По результатам ПЦР анализов ни один вид ПВС не был обнаружен в этих пробах.

В ходе нашего исследования было проверено 1114 проб клинического и патологического материала свиней, полученных из 31 хозяйства 15 регионов России. Присутствие одного или более видов ПВС1-ПВС7 установлено в 21 (67,7%) обследованном свинокомплексе из 12 (80%) регионов России. Так, ПВС3 был обнаружен в 14 (45,2%) хозяйствах, ПВС2 – в 13 (41,9%), а ПВС1, ПВС5 и ПВС6 – в 10 (32,2%). Реже всего встречались ПВС4 и ПВС7, геномы которых выявлены в 5 (16,1%) свинокомплексах.

3.3 Оценка распространенности парвовирусов свиней в популяции диких кабанов

В ходе исследования распространения ПВС1-ПВС7 в популяциях диких кабанов были обнаружены все семь видов парвовируса свиней (таблица 3). При этом ПВС1 выявлен в 25,5% случаев, а самые распространённые виды – ПВС3

(50,3%) и ПВС7 (45,8%). В каждом исследованном регионе были обнаружены как минимум два вида парвовируса.

Таблица 3 – Результаты обнаружения ПВС1-ПВС7 в популяциях диких кабанов исследованных регионов России в период с 2021 по 2025 годы.

Регионы	Кол-во кабанов	Количество положительных образцов						
		ПВС1	ПВС2	ПВС3	ПВС4	ПВС5	ПВС6	ПВС7
Московская область	48	10 20,8%	13 27,1%	15 31,3%	1 2,1%	1 2,1%	4 8,3%	30 62,5%
Тверская область	36	9 25,0%	13 36,1%	23 63,9%	0	1 2,8%	0	19 52,8%
Белгородская область	25	8 32,0%	8 32,0%	16 64,0%	1 4,0%	0	4 16,0%	15 60,0%
Липецкая область	28	8 28,6%	19 67,9%	17 60,7%	0	0	3 10,7%	3 10,7%
Тульская область	4	0	0	3 75,0%	0	0	0	2 50,0%
Рязанская область	3	0	0	0	1 33,3%	1 33,3%	0	1 33,3%
Краснодарский край	9	4 44,4%	5 55,5%	3 33,3%	1 11,1%	2 22,2%	1 11,1%	0
Всего	153	39 25,5%	58 37,9%	77 50,3%	4 2,6%	5 3,3%	12 7,8%	70 45,8%

При оценке распределения разных видов ПВС в образцах селезенки, легких и лимфатических узлов учитывали результаты тех животных (66 кабанов), от которых были получены все три органа (таблица 4). Наиболее выраженные различия ($p < 0,01$) наблюдали для ПВС7, который гораздо чаще обнаруживали в лимфатических узлах (82,9%) по сравнению с другими тканями. ПВС1 и ПВС2 преимущественно обнаруживали в лимфатических узлах и селезенке, нежели в лёгких. В случае с ПВС3 наблюдали равномерное выявление вирусных геномов в легких, лимфатических узлах и селезенке со следующими показателями: 77,8%, 81,5% и 92,6% соответственно. Небольшое количество положительных проб на ПВС4, ПВС5 и ПВС6 не позволило достоверно оценить их частоту обнаружения в селезенке, лёгких и лимфатических узлах.

Таблица 4 – Результаты обнаружения ПВС1-ПВС7 в паталогическом материале от диких кабанов.

Исследуемый материал	Количество положительных образцов						
	ПВС1	ПВС2	ПВС3	ПВС4	ПВС5	ПВС6	ПВС7
Селезенка	12 (66,7%)	15 (78,9%)	25 (92,6%)	2 (66,7%)	1 (50,0%)	3 (100%)	6 (15,4%)
Лимфоузел	14 (77,8%)	11 (57,9%)	22 (81,5%)	3 (100%)	1 (50,0%)	1 (33,3%)	32 (82,1%)
Лёгкое	5 (27,8%)	5 (26,3%)	21 (77,8%)	1 (33,3%)	1 (50,0%)	1 (33,3%)	15 (38,5%)
Всего*	18	19	27	3	2	3	39

* Количество кабанов, положительных на конкретный вид ПВС

У исследованных кабанов пол был известен у 75 животных: 53 самца и 22 самки (таблица 5). При этом анализ распределения различных видов ПВС не выявил статистически значимых различий по частоте выявления между самцами и самками ($p > 0,05$). Наиболее распространенными среди обоих полов оказались ПВС7 и ПВС3, в то время как ПВС6 был обнаружен только у самок (22,7%).

Возраст был известен у 90 диких кабанов: 48 были молодыми (в возрасте до одного года) и 42 - взрослыми (старше одного года) (таблица 5). По результатам исследования ПВС7 был наиболее распространённым видом среди молодых животных. Однако при сравнении частоты распределения различных ПВС внутри каждой возрастной категории животных и между обеими возрастными группами статистически значимых результатов не было обнаружено ($p > 0,05$ для всех парных сравнений).

Таблица 5 – Результаты половозрастного распределения ПВС1-ПВС7 у диких кабанов.

Категория (всего образцов)		Количество положительных образцов						
		ПВС1	ПВС2	ПВС3	ПВС4	ПВС5	ПВС6	ПВС7
Пол	Самцы (53)	12 (22,6%)	15 (28,3%)	25 (47,2%)	3 (5,7%)	2 (3,8%)	0	32 (60,4%)
	Самки (22)	6 (27,3%)	7 (31,8%)	14 (63,6%)	0	1 (4,5%)	5 (22,7%)	14 (63,6%)
Возраст	Молодые < 1 года (48)	10 (20,8%)	15 (31,3%)	23 (47,9%)	0	0	2 (4,2%)	32 (66,7%)
	Взрослые > 1 года (42)	10 (23,8%)	15 (35,7%)	24 (57,1%)	2 (4,8%)	3 (7,1%)	6 (14,3%)	19 (45,2%)

3.4 Филогенетический анализ геномов парвовирусов свиней 1-7 видов, циркулирующих на территории РФ

Для анализа генетического разнообразия ПВС1-ПВС7, циркулирующих в свиноводческих хозяйствах и стадах диких кабанов РФ, мы разработали наборы праймеров для секвенирования ОРС2, кодирующей капсидный белок. Для секвенирования фрагментов геномов ПВС1-ПВС7 использовали пробы, в которых значение порогового цикла (Ct) в диагностической ПЦР были наименьшими. В результате были получены 41 нуклеотидная последовательность ОРС2 изолятов ПВС1-ПВС7. Секвенировать ОРС2 ПВС4 не удалось, вероятно, из-за низкой концентрации вируса в образцах и небольшого количества положительных проб в целом. Полученные нуклеотидные последовательности депонировали в базу данных GenBank.

Филогенетическая дендрограмма, основанная на нуклеотидных последовательностях ОРС2 от 24 изолятов ПВС1, представлена на рисунке 1.

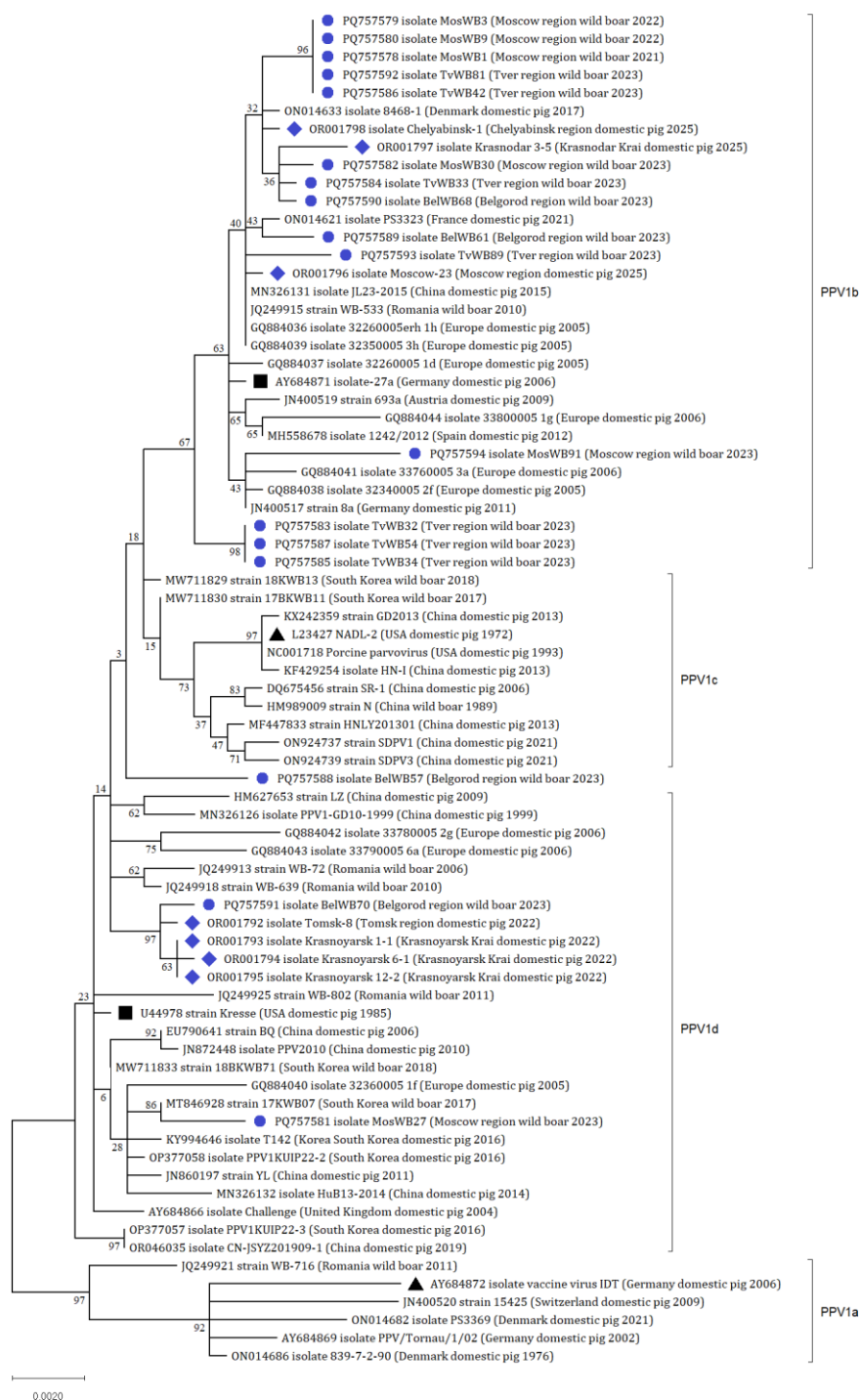


Рисунок 1 – Дендрограмма, построенная на основе нуклеотидных последовательностей ОРС2 изолятов ПВС1. Примечание: изоляты, полученные нами от свиней, обозначены синими ромбами, а от диких кабанов - синими кружками. Вакцинные штаммы обозначены чёрными треугольниками, а высоковирулентные штаммы - чёрными квадратами.

Филогенетический анализ изолятов ПВС1 выявил, что большинство (14 из 17) секвенированных образцов от диких кабанов (за исключением MosWB27, BelWB57 и BelWB70) и два изолята от домашних свиней (Moscow-23 и Krasnodar Krai 3-5) относятся к кластеру PPV1b и имеют высокую нуклеотидную

идентичность (99,27–100%). Кластер PPV1b включает изоляты из Европы и высокопатогенный штамм 27a. Нуклеотидное сходство российских изолятов ПВС1 со штаммом 27a составляет 99,50–99,86%. Стоит отметить филогенетическое родство изолятов MosWB1, MosWB3, MosWB9, TvWB42 и TvWB81 от диких кабанов Московской и Тверской областей, формирующих монофилетическую ветвь с высокой поддержкой клады. Данная группа входит в кладу, представленную изолятами из нашей страны и изолятом из Дании (идентичность 99,86–99,91%).

В другом кластере PPV1d, в который входят высокопатогенный штамм Kresse и изоляты из Европы, Китая, Южной Кореи и США, были обнаружены шесть наших изолятов (MosWB27, BelWB70, Krasnoyarsk Krai 1-1, Krasnoyarsk Krai 6-1, Krasnoyarsk Krai 12-2 и Tomsk-8). Пять из них формируют отдельную ветвь с высокой поддержкой клады и нуклеотидной идентичностью 99,82–100%. В то же время MosWB27 принадлежит к кладе с изолятами из Южной Кореи, Китая и Европы. Полученные нами изоляты ПВС1, входящие в кластер PPV1d, обладали нуклеотидной идентичностью со штаммом Kresse 99,54–99,73%.

Изолят BelWB57 образовал отдельную ветвь, которая не входит ни в один из выделенных кластеров. Его нуклеотидная идентичность с другими российскими изолятами ПВС1 составляет 99,03–99,54%, а с патогенными штаммами 27a и Kresse — 99,45% и 99,59% соответственно.

Филогенетический анализ изолятов ПВС2-ПВС7 выявил сложную картину их генетического разнообразия и распространения. Изоляты ПВС2, ПВС3 и ПВС7 от кабанов из Московской, Тверской и Белгородской областей распределились в отдельные клады, объединяющие штаммы как от диких, так и от домашних животных из разных стран. Изоляты ПВС6 от дикого кабана из Белгородской области и от свиньи из Кемеровской области показали высокое нуклеотидное сходство и были отнесены в одну кладу. Филогенетический анализ ПВС5 выявил разнообразное распределение полученных нами изолятов. Так, часть изолятов от свиней из Московской, Томской областей и Республики Бурятия были сгруппированы вместе, при этом изолят от дикого кабана Московской области и домашней свиньи из Томской области были отнесены в отдельные клады. Также стоит отметить, что изоляты, полученные от диких кабанов, не формировали отдельных кластеров, что может указывать на обмен вирусами между дикими и домашними популяциями. Полученные нами результаты подчеркивают масштабный характер циркуляции ПВС2-ПВС7, однако из-за ограниченного числа образцов трудно оценить связь между кластеризацией и географическим распределением полученных изолятов.

3.5 Аминокислотные замены в белках VP1/VP2 изолятов парвовируса свиней 1 вида

Для определения антигенных вариантов ПВС1, циркулирующих на территории России, мы провели сравнение аминокислотных последовательностей полученных нами изолятов с вакцинным штаммом NADL-2 и высокопатогенными штаммами Kresse и 27a. На уровне аминокислотной последовательности VP2 все российские изоляты показали следующие замены по сравнению с вакцинным штаммом NADL-2: Thr₄₅→Ser, Ile₂₁₅→Thr, Asp₃₇₈→Gly, His₃₈₃→Gln, Arg₅₆₅→Lys. Данные аминокислотные замены присутствуют также у патогенных штаммов Kresse и 27a.

В ходе работы было установлено, что изоляты от кабанов: MosWB27, BelWB70 и от свиней: Tomsk-8, Krasnoyarsk Krai 1-1, Krasnoyarsk Krai 6-1, Krasnoyarsk Krai 12-2, имели капсидный профиль, схожий с высокопатогенным штаммом Kresse. Однако у изолятов Tomsk-8, BelWB70, Krasnoyarsk Krai 1-1, Krasnoyarsk Krai 6-1 и Krasnoyarsk Krai 12-2 в аминокислотной позиции 436 вместо серина находится аланин, тогда как у MosWB27 и Kresse - пролин. Кроме того, изолят MosWB27 содержал замены, отличные от штаммов Kresse и NADL-2: Arg₁₁₄→Lys (VP1), Ile₃₂₀→Thr, Asn₃₇₀→Asp.

Распространенные в европейских стадах домашних свиней 27a-подобные штаммы дополнительно характеризуются уникальными аминокислотными заменами, такими как Gln₂₂₈→Glu, Ala₄₁₄→Ser, Glu₄₁₉→Gln, Ser₄₃₆→Thr. Они были обнаружены в изолятах MosWB1, MosWB3, MosWB9, MosWB30, TvWB33, TvWB42, BelWB61, BelWB68, TvWB81, TvWB89, MosWB91, Moscow-23, Krasnodar Krai 3-5 и Chelyabinsk 1. В то же время изоляты TvWB32, TvWB34, TvWB54 и BelWB57 содержали только две замены из перечисленных: Ala₄₁₄→Ser и Ser₄₃₆→Thr.

Изолят BelWB57, не отнесенный ни к одному из кластеров, содержал аминокислотные замены, характерные для штаммов Kresse (Gln₂₂₈ и Glu₄₁₉) и 27a (Ser₄₁₄ и Thr₄₃₆).

3.6 Выделение парвовирусов свиней в культурах клеток и их характеристика *in vitro*

Вирусологические исследования, представленные в данном разделе, выполнены совместно с главным научным сотрудником, д.б.н. Власовой Н. Н. и старшим научным сотрудником, к.в.н. Аноятбековой А. М. лаборатории биохимии и молекулярной биологии ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН.

Следующая задача нашего исследования заключалась в выделении разных видов парвовируса свиней в культурах клеток. Были выбраны виды парвовируса с наибольшей частотой выявления в сыворотке крови: ПВС5 и ПВС6. Поскольку исследований по их выделению в культурах клеток ещё не проводили, мы

подбирали чувствительные линии клеток и методы заражения экспериментальным путём.

3.6.1 Выделение парвовируса свиней 5 в культурах клеток

Первоначально для выделения ПВС5 были отобраны перевиваемые культуры клеток: СПЭВ и ПС. В качестве материала для заражения использовали сыворотки крови от двух свиней из Московской и Томской областей, положительные на ПВС5 (PPV5-Moscow-4060 и PPV5-Tomsk-84) с наименьшими значениями C_t — 13,9 и 16,3 соответственно. Результаты исследования показали, что по мере пассирования вирус не размножался в данных перевиваемых культурах клеток. Вирусную ДНК в ПЦР-РВ находили только в трех последовательных пассажах при культивировании обоих изолятов, что можно объяснить низкой чувствительностью данных культур к ПВС5 либо низкой концентрацией вируса в пробах. В связи с этим для дальнейшего культивирования вируса была получена первичная культура клеток тестикул поросёнка (ТП), на которой было проведено 7 последовательных пассажей. Оценку репликации изолятов проводили с помощью ПЦР-РВ, результаты представлены в таблице 6. Титр вируса после 7 пассажа составлял $7,41 \times 10^8$ геномных копий/мл.

Таблица 6 – Определение наличия генома с помощью ПЦР-РВ двух изолятов ПВС5 при репликации в культуре клеток ТП на протяжении семи последовательных пассажей. Обозначения в таблице: «-» - отрицательный результат, «нп» - исследования не проводили.

Название изолята (номер в GenBank)	Исходное значение C_t изолята	Значение C_t в последовательных пассажах						
		П1	П2	П3	П4	П5	П6	П7
Moscow-4060 (PQ015111)	13,9	17,9	17,8	19,5	21,9	22,9	21,8	20,8
Tomsk-84 (PQ015113)	16,3	21,0	23,9	-	нп	нп	нп	нп

Кроме того, было проведено окрашивание азур-эозином по методу Романовского-Гимза, для более точной морфологической характеристики инфицированной ПВС5 и контрольной культуры клеток (рисунок 2).

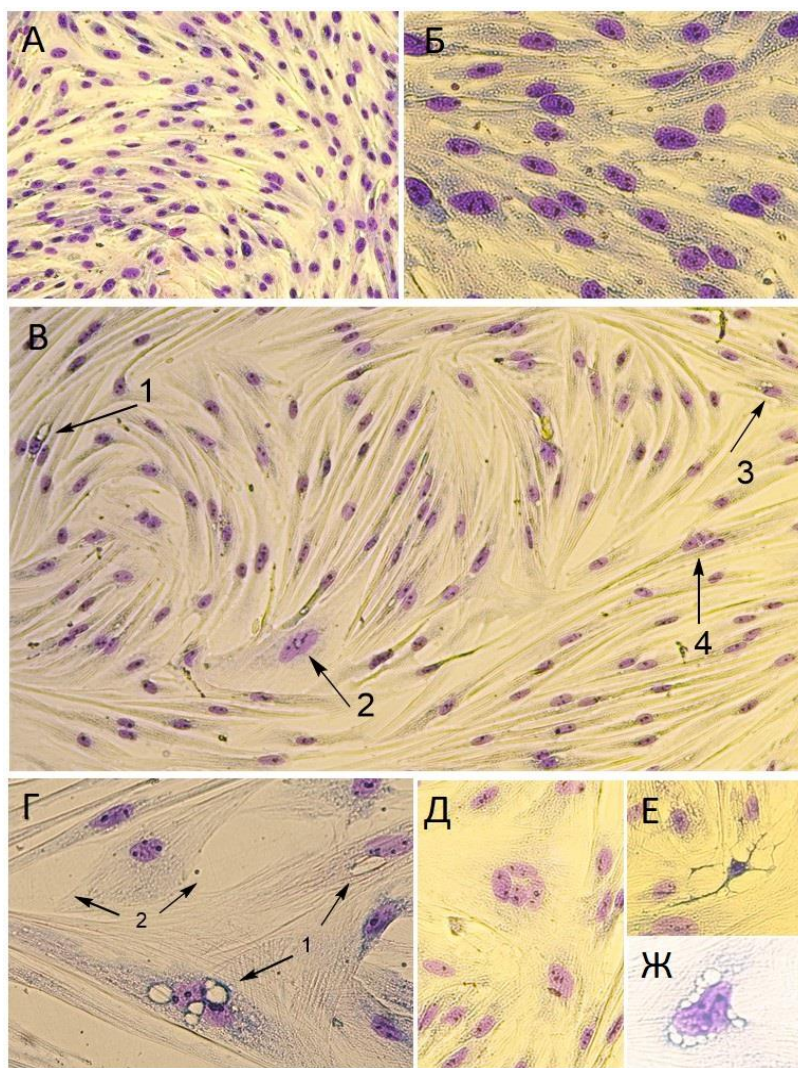


Рисунок 2 – Цитологическое окрашивание азур-эозином по методу Романовского-Гимза контрольной и заражённой ПВС5 культуры клеток ТП после 6 пассажа. Примечание: А. Контрольная культура клеток, увеличение $\times 100$; Б. Контрольная культура клеток, увеличение $\times 200$; В. 1 большая вакуоль в цитоплазме; 2-гигантская клетка с увеличенным ядром; 3-вакуоль в цитоплазме вблизи ядра; 4-деформация ядра, увеличение $\times 100$; Г. 1 гигантская клетка, большая вакуолизация в цитоплазме вокруг ядра, 2 неполный монослой, увеличение $\times 630$; Д. Образование симпласта, увеличение $\times 630$; Е. Кариопикноз, увеличение $\times 400$; Ж. Деформированное ядро, окруженное крупными вакуолями, увеличение $\times 630$.

В культуре клеток ТП, инфицированной ПВС5, на 4-5 сутки наблюдали морфологические изменения. По сравнению с контрольной культурой клеток монослой стал менее плотным, а на некоторых участках разрушенным. Клетки были значительно увеличены в размерах. Кроме того, в зараженной культуре отмечали образование симпластов. Цитоплазма инфицированных клеток была сильно вакуолизирована, при этом крупные вакуоли располагались вокруг ядра. В некоторых случаях из-за сильной вакуолизации цитоплазмы форма ядра была сильно изменена. В ядрах отмечали пикноз, изменение и нарушение целостности мембран и увеличение числа ядрышек.

3.6.2 Выделение парвовируса свиней 6 в культурах клеток

Для выделения ПВС6 использовали перевиваемые культуры клеток: СПЭВ, ПС и ПТП. В качестве материала для заражения использовали положительную на ПВС6 сыворотку крови от хряка из Кемеровской области Кем-8 (значение $St_{16,23}$). В результате было проведено шесть последовательных пассажей на культурах СПЭВ, ПС и ПТП, в течение которых с помощью ПЦР-РВ проверяли наличие ДНК ПВС6 (таблица 7).

Таблица 7 – Определение наличия генома с помощью ПЦР-РВ изолята ПВС6 в культурах клеток ПТП, СПЭВ, ПС на протяжении 6 последовательных пассажей.

Культура клеток	Исходное значение St изолята	Значение St в последовательных пассажах					
		П1	П2	П3	П4	П5	П6
ПТП	16,2	17,9	18,2	23,6	25,5	27,1	29,4
СПЭВ		18,5	19,7	16,5	22,0	22,9	24,1
ПС		17,1	18,5	17,9	24,0	23,4	22,3

В культуре клеток ПТП концентрация вирусной ДНК уменьшалась с каждым пассажем (St 17,9-29,4). В то же время в культурах клеток СПЭВ и ПС, несмотря на десятикратное разведение посевного материала при каждом следующем пассаже, мы отмечали накопление ПВС6. Стоит отметить, что после 4 пассажа наблюдали снижение количества ДНК вируса во всех трёх культурах, возможно, из-за длительного культивирования (6 дней). Титр ПВС6 в культурах клеток ПТП, СПЭВ и ПС после 6 пассажа составлял $6,71 \times 10^7$, $1,41 \times 10^9$ и $9,96 \times 10^9$ геномных копий/мл соответственно.

Для более детального изучения морфологических изменений в культурах клеток ПС и СПЭВ, вызванных ПВС6, мы применили окрашивание азур-эозином по методу Романовского-Гимза, результаты представлены на рисунках 3 и 4.



Рисунок 3 – Контрольная и заражённая ПВС6 культура клеток ПС. Окрашка азур-эозином по методу Романовского-Гимза. Примечание: А. Контрольная культура клеток ПС, увеличение 200х; Б. Заражённая ПВС6 культура клеток ПС,

увеличение 200х; В. Маргинация хроматина внутри ядра в виде глыбок, увеличение 1000х; Г. Увеличение ядра и цитоплазмы двуядерных клеток в заражённой культуре клеток, увеличение 1000х.

При изучении морфологии культуры клеток ПС, инфицированной ПВС6, наблюдали, что ядра клеток увеличивались в размерах, приобретали более яркую окраску по сравнению с контролем, а в некоторых клетках форма ядра и ядрышек изменились. Кроме того, в ядрах клеток происходило перераспределение хроматина, который перемещался к периметру ядерной оболочки, и наблюдалась маргинация хроматина в виде глыбок внутри ядер. В популяции были двуядерные клетки, в которых наблюдали увеличение ядер и цитоплазмы, а также кариорексис.

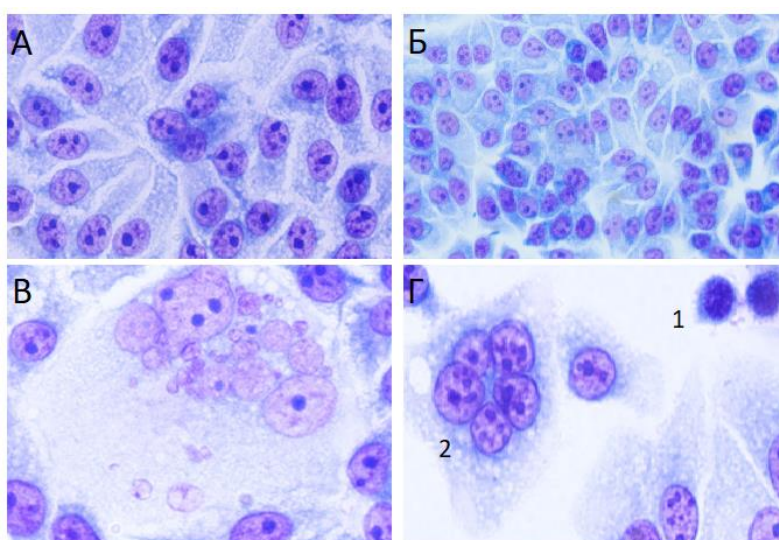


Рисунок 4 – Контрольная и заражённая ПВС6 культура клеток СПЭВ. Окрашивание азур-эозином по методу Романовского-Гимза. Примечание: А. Контрольная культура клеток СПЭВ, увеличение 200х; Б. Заражённая культура клеток, увеличение 200х; В. Увеличенная клетка с увеличенной цитоплазмой, в которой наблюдается распад ядра на мелкие части, увеличение 1000х; Г. 1 - кариопикноз и 2 - образование симпласта, увеличение 1000х.

Морфологические изменения в клетках СПЭВ, инфицированных ПВС6, были такими же, как и в клетках ПС. Однако у некоторых ядер была нарушена целостность оболочки. Ядрышки в таких клетках были набухшими и увеличенными, а их форма была изменена. Наблюдали кариопикноз и образование единичных многоядерных гигантских клеток, в которых ядро распадалось на мелкие части. Помимо этого, отмечали конденсацию и маргинацию хроматина, слипания двуядерных клеток. Также наблюдали вакуолизацию в цитоплазме клеток и образование симпластов, которые, как правило, были небольшими и содержали от трех до пяти ядер.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании проведенных исследований были сделаны следующие выводы:

1. Подобраны системы праймеров и зондов для проведения ПЦР-РВ и оптимизированы условия постановки реакций для обнаружения ДНК парвовирусов ПВС2-ПВС7, сконструированы рекомбинантные положительные контроли.
2. При исследовании 1114 проб биологического материала, полученного из 31 хозяйства 15 регионов Российской Федерации с 2021 по 2025 годы, подтверждено присутствие ПВС1 в 10 хозяйствах (32,2%), а его частота выявления в образцах сыворотки крови и паренхиматозных органах составляла 0,7% и 10% соответственно. В пробах спермы и абортированных плодах ПВС1 не обнаружили.
3. Показана циркуляция ПВС2–ПВС7 в 21 из 31 (67,7%) обследованном свинокомплексе 12 из 15 (80%) регионов России. В образцах сыворотки крови были выявлены 6 видов ПВС2-ПВС7, а наибольшие значения частоты обнаружения были определены для ПВС5 (8,7%) и ПВС6 (6,4%). В патологическом материале чаще всего детектировали ПВС2 (32,5%), тогда как ПВС4 и ПВС5 не были выявлены.
4. В образцах от диких кабанов геномы ПВС1-ПВС7 обнаружены у 134 из 153 (87,6%) исследованных животных. У кабанов чаще выявляли ПВС3 (50,3%), ПВС7 (45,8%) и ПВС2 (37,9%), а ПВС1 обнаруживали в 25,5% случаев. Связи между полом и возрастом кабанов и наличием ПВС не выявлено.
5. Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей ОРС2 и сравнение аминокислотных последовательностей капсидного белка VP1 изолятов ПВС1, циркулирующих в нашей стране, показали их распределение в два кластера. К кластеру PPV1b (27a-подобные штаммы) были отнесены 14 (82,4%) изолятов от диких кабанов и 3 (43%) - от домашних свиней. В кластер PPV1d (Kresse-подобные штаммы) входят 4 (57,1%) изолята из свиноводческих хозяйств и 2 (11,8%) - от диких кабанов РФ. Изолят BelWB57 не был отнесён ни к одному из кластеров и содержал аминокислотные замены, которые были специфичны как для Kresse-подобных, так и для 27a-подобных штаммов.
6. На основе филогенетического анализа нуклеотидных последовательностей ОРС2 изоляты ПВС2-ПВС7 были отнесены в различные клады, включающие изоляты как от диких кабанов, так и от домашних свиней из разных стран.
7. Установлено, что чувствительной к ПВС5 является первичная культура клеток ТП, на которой проведено 7 последовательных пассажей (титр вируса после 7 пассажа - $7,41 \times 10^8$ геномных копий/мл). К ПВС6 были чувствительны перевиваемые культуры клеток СПЭВ и ПС, на которых проведены 6

последовательных пассажей (титр вируса после 6 пассажа – $1,41 \times 10^9$ и $9,96 \times 10^9$ геномных копий/мл соответственно).

Практические предложения

Полученные нуклеотидные последовательности ОРС2 от 41 изолята ПВС1-ПВС7, выделенных на территории Российской Федерации, рекомендуется использовать при филогенетическом и филодинамическом анализах, а также при разработке диагностических ПЦР тест-систем.

Изоляты «PPV5-Moscow-4060» (ПВС5) и «PPV6-Kem-8» (ПВС6) выделены и депонированы во «Всероссийскую коллекцию патогенных и вакцинных штаммов микроорганизмов-возбудителей инфекционных болезней животных» ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН, могут использоваться в качестве референсных диагностических штаммов для разработки молекулярно-генетических тест-систем и изучения биологических свойств парвовирусов свиней *in vitro* и *in vivo*.

Перспективы дальнейшей разработки темы

Дальнейшие исследования могут быть направлены на определение патогенеза и роли различных видов парвовирусов свиней (ПВС2-ПВС7) в развитии заболеваний, при последующем экспериментальном заражении свиноматок и поросят. Кроме того, планируется определить полногеномные нуклеотидные последовательности изолятов ПВС1-ПВС7 для проведения филогенетических и филодинамических анализов. Дальнейшие исследования по выделению и накоплению парвовирусов в культурах клеток позволят изучить их биологические свойства *in vitro* и *in vivo*, а полученные штаммы могут быть использованы для разработки средств диагностики и профилактики.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Distribution and phylogenetic analysis of porcine parvoviruses in the wild boar population of Russia / **A. Komina**, N. Krasnikov, M. Simakova [et al.] // BMC Genomics. – 2025. – Vol. 26, No. 1. – P. 209. – DOI 10.1186/s12864-025-11371-w.
2. Molecular Detection of Porcine Parvovirus 5 in Domestic Pigs in Russia and Propagation of Field Isolates in Primary Porcine Testicular Cells / A. Anoyatbekova, **A. Komina**, N. Vlasova [et al.] // Veterinary Sciences. – 2025. – Vol. 12, No. 6. – DOI 10.3390/vetsci12060535.
3. Identification and *in vitro* characterization of a novel porcine parvovirus 6 in Russia / **A. Komina**, A. Anoyatbekova, N. Krasnikov, A. Yuzhakov // Veterinary Research Communications. – 2023. – No. 6/н. – P. 1-4. – DOI 10.1007/s11259-023-10226-7.
4. **Комина, А.К.** Парвовирусы свиней: существующие и потенциальные угрозы для свиноводства / А.К. Комина // Ветеринария. – 2025. – № 5. – С. 24-28. – DOI 10.30896/0042-4846.2025.28.5.24-28.