



DOI: 10.26898/0370-8799-2019-2-6

УДК: 619:616.98:578.833.3:636.2

СПОСОБ БОРЬБЫ С ПЕРСИСТЕНТНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ ПРИ ВИРУСНОЙ ДИАРЕЕ

Глотова Т.И., Никонова А.А., Котенева С.В., Глотов А.Г.

Сибирский федеральный научный центр агrobiотехнологий Российской академии наук
Новосибирская область, р.п. Краснообск, Россия

Для цитирования: Глотова Т.И., Никонова А.А., Котенева С.В., Глотов А.Г. Способ борьбы с персис­тентной инфекцией при вирусной диарее // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. 2019. Т. 49. № 2. С. 49–56, DOI: 10.26898/0370-8799-2019-2-6

For citation: Glotova T.I., Nikonova A.A., Koteneva S.V., Glotov A.G. Sposob bor'by s persistentnoi infektsiei pri virusnoi diaree [The means of combating persistent infection of viral diarrhea]. *Sibirskii vestnik sel'skokhozyaistvennoi nauki* [Siberian Herald of Agricultural Science], 2019, vol. 49, no. 2, pp. 49–56, DOI: 10.26898/0370-8799-2019-2-6

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Представлены результаты изучения средств подавления персис­тентной инфекции, вызванной нецитопатогенным биотипом возбудителя вирусной диареи крупного рогатого скота. Показано, что широко распространенный во всем мире в популяции крупного рогатого скота возбудитель болезни может служить первопричиной развития патологии органов дыхания и воспроизводства и способен вызывать персис­тентную форму инфекции у животных. Вирус может контаминировать эмбриональную сыворотку, культуры клеток, трипсин и другие биологические препараты, что приводит к снижению качества биотехнологической продукции, производимой с их использованием, и распространению вируса в популяции восприимчивых животных. Исследования проведены на модели перевиваемой культуры клеток коронарных сосудов теленка, персис­тентно инфицированной нецитопатогенным биотипом вируса вирусной диареи крупного рогатого скота. Изучено противовирусное действие двух коммерческих препаратов Рибавирин-липид и Реаферон-ЕС-липид. Эффективность противовирусной обработки инфицированной культуры клеток определяли методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией в двух вариантах: электрофорезном и в режиме реального времени. Установлено, что изучаемые препараты в до-

THE MEANS OF COMBATING PERSISTENT INFECTION OF VIRAL DIARRHEA

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

Siberian Federal Scientific Centre of Agro-BioTechnologies of the Russian Academy of Sciences

Krasnoobsk, Novosibirsk region, Russia

The paper presents results of research into the means of inhibiting persistent infection caused by noncytopathic biotype of bovine viral diarrhea virus. It was shown that bovine viral diarrhea virus, widespread in the cattle population in the whole world, can be a primary cause of pathology development of the respiratory and reproductive organs, and can cause a persistent form of infection in animals. The virus can contaminate fetal serum, cell cultures, trypsin, and other biological products, which leads to a decrease in the quality of biotech products from these materials and the spread of bovine viral diarrhea virus in a population of susceptible animals. The study was done on the model of a continuous calf coronary cell culture persistently infected with the noncytopathic biotype of the bovine viral diarrhea virus. The antiviral effect of two commercial preparations Ribavirin-Lipint and Reaferon-EC-Lipint was studied. The effectiveness of antiviral treatment of the infected cell culture was determined by the reverse transcription polymerase chain reaction, carried out in two versions: with electrophoresis and in real-time mode. It was found that these drugs in doses of 0.05 mg / ml and

зах 0,05 мг/мл и 30 000 МЕ/мл соответственно при добавлении к ростовой питательной среде на протяжении 24 последовательных пассажей приводили к снижению инфекционной активности вируса вирусной диареи крупного рогатого скота в культуре клеток, но не освобождали ее полностью от персистентной инфекции нецитопатогенным биотипом вируса. Применение противовирусных препаратов – один из способов снижения экономических потерь, связанных с контаминацией биологических препаратов, использованием персистентно инфицированных животных для племенных целей, ограничениями в международной торговле животными.

Ключевые слова: вирусная диарея, крупный рогатый скот, персистентная форма инфекции, противовирусная активность, тканевая цитопатогенная доза, противовирусные препараты

ВВЕДЕНИЕ

Вирусная диарея крупного рогатого скота (ВД КРС) широко распространена во всем мире [1], в том числе и в России [2–4]. Вирус ВД КРС представлен двумя биотипами – цитопатогенным (ЦП) и нецитопатогенным (НЦП), наиболее распространенным в природе, который может вызывать персистентную инфекцию (ПИ) при заражении плода на 40–125-е сутки внутриутробного развития. В данный период иммунная система телят еще не сформирована [1]. У таких животных, начиная с внутриутробного развития, отмечается высокая концентрация вируса в крови. Это приводит к рождению иммунотолерантных телят, которые служат постоянными источниками патогена для неиммунных животных, выделяя его в течение всей жизни со всеми секретами и экскретами организма. Нечитопатогенный биотип вируса ВД КРС часто является контаминантом биологических продуктов. Использование в работе инфицированных этим биотипом вируса культур клеток может служить причиной ложных результатов диагностических исследований. Живые и инаktivированные противовирусные вакцины, изготовленные при использовании таких культур клеток, могут быть потенциальным источником вируса ВД КРС для восприимчивых животных [5, 6].

В литературе описано много соединений с установленной противовирусной актив-

ностью в отношении вируса ВД КРС *in vitro*, однако исследования с целью определения возможности их применения для устранения контаминации культур клеток и устранения персистентной формы инфекции носят ограниченный характер. Исследования инфицированных вирусом ВД КРС *in vitro* культур клеток показали, что ЦП штаммы индуцируют выработку интерферона альфа (ИФН-α), в то время как НЦП штаммы вируса ВД КРС такой способностью не обладают [7]. Установлено, что НЦП штаммы вируса ингибируют индукцию эндогенного интерферона другими вирусами [8]. Тем не менее установлено, что экзогенный ИФН-α ингибирует репликацию как ЦП, так и НЦП штаммов вируса ВД КРС в культуре клеток [9, 10]. Ароматические катионные молекулы успешно применяли для устранения контаминации НЦП вирусом ВД КРС первичных клеточных линий [11, 12]. Некоторые исследователи установили синергетический противовирусный эффект при одновременном использовании рибавирина и ИФН-α для этих целей [13, 14]. Хорошие результаты получены при одновременном применении двух препаратов (Рибавирин и ИФН-α) для устранения контаминации культур клеток вирусом ВД КРС и производных иминосахаров. Исследователям удалось установить снижение вирусной нагрузки в культуре клеток после обработки этими препаратами. При одновременном применении препара-

Keywords: bovine viral diarrhea, persistent infection, antiviral activity, tissue cytopathic dose, antiviral drugs

ностью в отношении вируса ВД КРС *in vitro*, однако исследования с целью определения возможности их применения для устранения контаминации культур клеток и устранения персистентной формы инфекции носят ограниченный характер. Исследования инфицированных вирусом ВД КРС *in vitro* культур клеток показали, что ЦП штаммы индуцируют выработку интерферона альфа (ИФН-α), в то время как НЦП штаммы вируса ВД КРС такой способностью не обладают [7]. Установлено, что НЦП штаммы вируса ингибируют индукцию эндогенного интерферона другими вирусами [8]. Тем не менее установлено, что экзогенный ИФН-α ингибирует репликацию как ЦП, так и НЦП штаммов вируса ВД КРС в культуре клеток [9, 10]. Ароматические катионные молекулы успешно применяли для устранения контаминации НЦП вирусом ВД КРС первичных клеточных линий [11, 12]. Некоторые исследователи установили синергетический противовирусный эффект при одновременном использовании рибавирина и ИФН-α для этих целей [13, 14]. Хорошие результаты получены при одновременном применении двух препаратов (Рибавирин и ИФН-α) для устранения контаминации культур клеток вирусом ВД КРС и производных иминосахаров. Исследователям удалось установить снижение вирусной нагрузки в культуре клеток после обработки этими препаратами. При одновременном применении препара-

тов Рибавирин в дозе 0,02 мг/мл и ИНФ- α (100 МЕ/мл) регистрировали выраженный противовирусный эффект, который сопровождался снижением количества вирусной РНК (вРНК) в образцах супернатанта обработанной культуры клеток до уровней, не выявляемых методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) уже после второго пассажа [15].

Цель исследований – разработать способ борьбы с персистентной инфекцией на модели перевиваемой культуры клеток коронарных сосудов телят, инфицированной нецитопатогенным биотипом вируса ВД КРС.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В работе использовали перевиваемую культуру клеток коронарных сосудов телят (КСТ), цитопатогенный (ЦП) штамм ВК-1 и нецитопатогенный (НЦП) штамм Бор вируса ВД КРС из коллекции вирусов лаборатории биотехнологии – диагностический центр. Культивирование культуры клеток КСТ проводили во флаконах для клеточных культур с площадью роста 25 и 75 см² и в культуральных 96-луночных планшетах (Techno Plastic Products, Швейцария). В качестве ростовой среды использовали питательную среду Игла MEM с L-глутамином (ООО «БиолоТ», Россия) и добавлением 5–10% эмбриональной сыворотки крови телят (Fetal Bovine serum Standard Quality; PAA Laboratories GmbH, Austria; Lot № A10112-0130) и 0,002% антибактериального препарата Канамицин (ООО «Биохимик», Россия). В качестве поддерживающей среды использовали ту же среду, но без добавления эмбриональной сыворотки. Пересев культуры клеток осуществляли с использованием 0,01%-го раствора химопсина (ООО «Самсон-Мед», Россия) в 0,02%-м растворе Версена (ООО «БиолоТ», Россия). В качестве противовирусных соединений применяли коммерческие доступные препараты производства ЗАО «Вектор-Медика» (Россия): Рибавирин-липид (серия 110315); Реаферон-ЕС-липид (серия 33) с установленной ранее противовирусной актив-

ностью в отношении ЦП вируса ВД КРС¹. Выбор препаратов рибавирин и реаферон в липосомальной форме обусловлен их меньшей токсичностью в сравнении с этими же препаратами в обычной форме [16].

Перед проведением исследований исходную перевиваемую культуру клеток КСТ, а также химопсин и эмбриональную сыворотку крови, используемые в работе, тестировали методом ОТ-ПЦР для исключения возможной контаминации нецитопатогенным биотипом вируса ВД КРС. Затем культуру клеток инфицировали НЦП штаммом вируса ВД КРС. Для этого из культурального флакона с хорошо сформированным 48-часовым монослоем культуры клеток КСТ удаляли ростовую среду, добавляли питательную среду и 0,5 мл суспензии, содержащей штамм Бор НЦП вируса ВД КРС. Инфицированную таким образом культуру клеток инкубировали при 37 °С в течение 20 последовательных пассажей, и вновь тестировали методом ОТ-ПЦР для подтверждения присутствия вируса в культуре клеток.

Противовирусные препараты разводили стерильным физиологическим раствором непосредственно перед использованием. При каждом последовательном пересеве инфицированной культуры клеток КСТ препараты добавляли к ростовой питательной среде в максимальной переносимой концентрации (МПК). В этих условиях культивировали культуру клеток в течение двух суток, после чего осуществляли ее пересев. Таким образом, препараты в МПК оказывали свое действие на инфицированную вирусом культуру клеток весь цикл ее развития. При каждом пассаже отбирали образцы культуры клеток КСТ, хранили их при температуре минус 70 °С до исследования в ОТ-ПЦР. Препараты вносили в ростовую питательную среду на протяжении 12, 18 и 24 последовательных ее пересевов, после чего культуру клеток продолжали культивировать в обычных условиях, используя ростовую питательную среду без препаратов еще в течение 18 пассажей. Контроль эффективности противовирусной обработки инфицированной НЦП вирусом

¹Глотова Т.И. Инфекционный ринотрахеит и вирусная диарея крупного рогатого скота (диагностика, молекулярно-биологические свойства возбудителей, эффективность противовирусных препаратов): автореф. дис. ... д-ра биол. наук: 16. 00. 03. Новосибирск. 2006. 320 с.

ВД КРС культуры клеток КСТ осуществляли посредством выборочного исследования образцов 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 и 24 пассажей. В качестве положительного контрольного образца использовали ЦП штамм ВК-1 вируса ВД КРС с исходной инфекционной активностью $6,67 \pm 0,08 \log_{10} \text{ТЦД}_{50/\text{мл}}$, отрицательного – исходную культуру клеток КСТ, неинфицированную вирусом ВД КРС. Титр ЦП вируса ВД КРС определяли путем титрования вирусосодержащей суспензии в 96-луночных культуральных планшетах с использованием двухсуточного монослоя клеток КСТ. Все исследования проводили в трех повторах. Относительную вирусную нагрузку, обусловленную НЦП вирусом ВД КРС, в образцах определяли пороговым методом сравнения графиков накопления продукта реакции [17].

Полученные в результате исследования данные обрабатывали в соответствии с общепринятыми методами².

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследования перевиваемой культуры клеток КСТ и используемых в работе серий химопсина и эмбриональной сыворотки крови методом ОТ-ПЦР свидетельствовали об отсутствии их контаминации нецитопатогенным биотипом вируса ВД КРС. Пестивирuses, в том числе вирус ВД КРС, можно разделить на два биотипа в зависимости от их влияния на культивируемые клетки. Цитопатогенный вариант уничтожает инфицированные клетки, тогда как нецитопатогенный биотип реплицируется без видимого повреждения клеток хозяина. Описан случай получения стабильной линии культуры клеток MDBK (почки телят), которая содержала часть клеток, постоянно инфицированных НЦП вирусом ВД КРС. Количество инфицированных вирусом клеток в этой культуре обычно составляло от 30 до 50%. Этот уровень инфицированности клеток не повышался и не снижался в течение последовательных ее пересевов [18].

В исследованиях использовали перевиваемую линию культуры клеток КСТ, которую инфицировали суспензией НЦП штамма Бор вируса ВД КРС и культивировали в течение

20 последовательных пассажей. Результаты световой микроскопии в инвертированном микроскопе не выявили видимых изменений в состоянии ее монослоя (см. рис. 1).

После 20 пассажей, которые позволили вирусу установить инфекцию в перевиваемой культуре клеток КСТ, проверено наличие вирусной РНК (вРНК) в супернатанте методом ОТ-ПЦР. В результате обнаружен

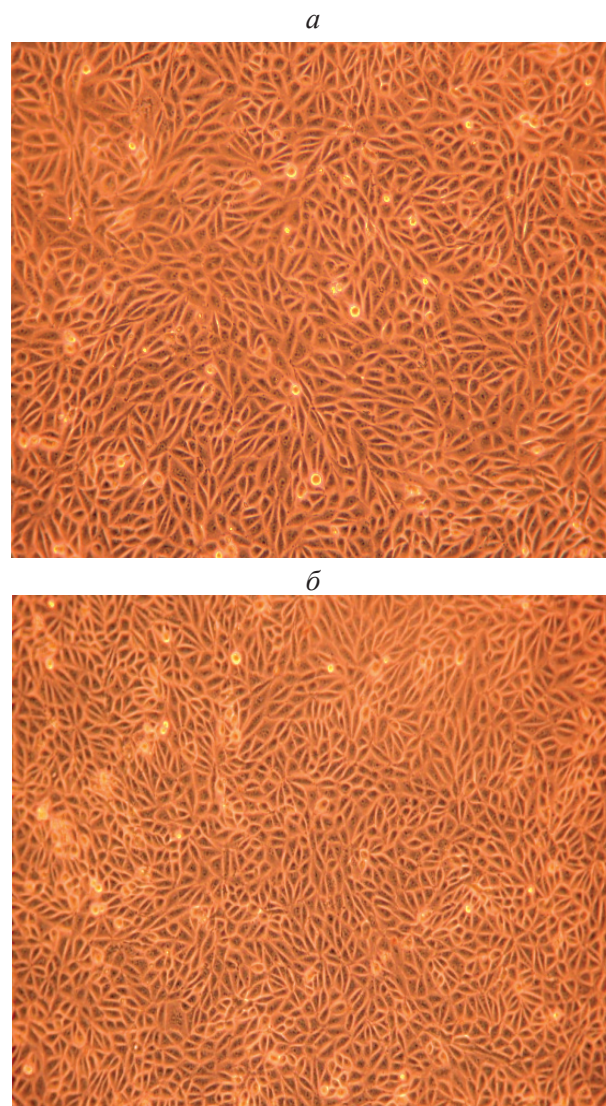


Рис. 1. Перевиваемая линия культуры клеток коронарных сосудов телят. Увеличение микроскопа 1000
а – неинфицированная, б – инфицированная нецитопатогенным штаммом Бор вируса ВД КРС

Fig. 1. Continuous line of calf coronary cell culture. Microscope magnification 1000
а – uninfected, б – infected with noncytopathic Bor strain of BVDV virus

²Закс Л. Статистическое оценивание. М.: Статистика, 1976. 598 с.

продукт кДНК ожидаемого размера, что указывало на успешное заражение НЦП штаммом Бор вируса ВД КРС тестируемой культуры клеток. Установлено, что инфекция была постоянной, так как уровень ВРНК во всех 20 последовательных клеточных пересевах был под контролем. В дальнейшем эту культуру клеток использовали для изучения противовирусной активности в отношении НЦП биотипа вируса ВД КРС комплексного использования двух препаратов Реаферон-ЕС-липид и Рибавирин-липид. Максимально переносимые концентрации (МПК) у препаратов Реаферон-ЕС-липид и Рибавирин-липид для культуры клеток КСТ были определены ранее. Они составили 0,05 мг/мл для Рибавирина-липид и 30 000 МЕ/мл для Реаферона-ЕС-липид (см. сноску 1).

Оба препарата разводили физиологическим раствором непосредственно перед использованием и добавляли к ростовой питательной среде, которую использовали вместо обычной при пересеве инфицированной вирусом ВД КРС культуры клеток КСТ. Культуру клеток пересевали через каждые 72 ч. При каждом пассаже отбирали образцы культуры клеток и хранили их при температуре минус 70 °С до исследования методом ОТ-ПЦР. Препараты добавляли к ростовой питательной среде на протяжении 12, 18 и 24 последовательных пассажей. Затем культуру клеток продолжали культивировать в обычных условиях, используя ростовую питательную среду без тестируемых препаратов на протяжении 18 пересевов.

Результаты ОТ-ПЦР с проведением электрофореза показали, что все отобранные в ходе эксперимента пробы инфицированной культуры клеток КСТ содержали РНК вируса ВД КРС. Затем было выбрано 8 образцов (3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 и 24 пассажей), обработанных препаратами культуры клеток, которые исследовали методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени. Дополнительно исследовали образец культуры клеток 18-го пересева без обработки препаратами.

Ранее была установлена противовирусная активность интерферона α в отношении ЦП и НЦП штаммов вируса ВД КРС. Определе-

на доза препарата 103 Ед/мл, эффективная для подавления репликации вируса [10].

Результаты исследования представлены на рис. 2.

При одновременной обработке инфицированной НЦП биотипом вируса ВД КРС культуры клеток препаратами Рибавирин-липид и Реаферон-ЕС-липид (в концентрациях 0,05 мг/мл и 30 000 МЕ/мл соответственно) титр вируса ВД КРС постепенно снижался (см. рис. 2). Несмотря на это, концентрация вируса в пробах культуры клеток оставалась высокой даже после 12 пассажей с препаратами и составляла $3,75 \log_{10} \text{TCID}_{50/\text{мл}}$, что не соответствует данным других авторов, которые отмечали снижение титра вируса ниже значений, выявляемых в ОТ-ПЦР после двух пассажей с препаратами Рибавирин и ИНФ- α [15]. Различие результатов может быть связано с использованием препаратов разных производителей. Это может быть обусловлено также штаммовыми различиями биологических свойств (устойчивость к действию противовирусных препаратов) вируса, которые были взяты для эксперимента. Необходимо также учитывать тот факт, что авторы статьи в работе исследовали только супернатант культуры клеток, что позволило оценить снижение инфекционной активности лишь внеклеточной формы вируса. Для

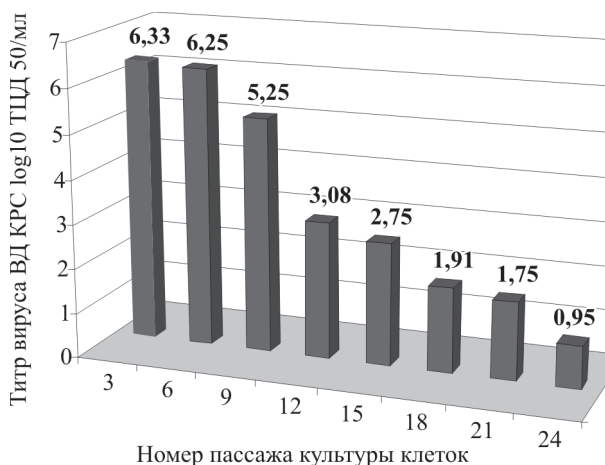


Рис. 2. Титр вируса ($\log_{10} \text{TCID}_{50/\text{мл}}$) в пробах инфицированной культуры клеток КСТ после обработки препаратами Рибавирин-липид и Реаферон-ЕС-липид

Fig. 2. Viral titre ($\log_{10} \text{TCID}_{50/\text{мл}}$) in tests of infected calf coronary cell culture after treatment with Ribavirin-Lipint and Reaferon-EC-Lipint

осуществления контроля вне- и внутриклеточной форм вируса ВД КРС определяли относительную вирусную нагрузку одновременно в супернатанте и в самой культуре клеток. Максимальное снижение титра вируса наблюдали к 24-му пассажу, после которого титр его составил $0,95 \log_{10} \text{ТЦД}_{50/0,1 \text{ мл}}$. Однако исследования образцов культуры клеток после ее дальнейшего культивирования без препаратов свидетельствовали о том, что НЦП вирус ВД КРС в ней активно размножался.

Контроль противовирусной эффективности обработки инфицированной культуры клеток методом ОТ-ПЦР, проведенный в электрофорезном варианте, так и в режиме реального времени, свидетельствовал о том, что применение препаратов Рибавирин-липид и Реаферон-ЕС-липид на протяжении 24 пассажей привело к значительному снижению титра вируса ВД КРС, но не к устранению персистентной инфекции.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Применение препаратов Рибавирин-липид и Реаферон-ЕС-липид позволяет снизить вирусную нагрузку на культуру клеток (титр вируса в инфицированной культуре клеток), что выражается в снижении секретируемой ВРНК в культуральных супернатантах после 24 серийных пассажей. Это снижение зависело от продолжительности обработки инфицированной НЦП вирусом ВД КРС культуры клеток. Применение этих препаратов не привело к устранению персистентной инфекции НЦП вирусом ВД КРС, установленной в культуре клеток КСТ.

Предложенная модель клеточной культуры может быть использована для дальнейшего изучения противовирусной активности новых химических соединений с целью поиска эффективного способа борьбы с персистентной инфекцией, вызванной НЦП вируса ВД КРС.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Ridpath J.F.* Bovine viral diarrhoea virus: global status // *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 2010. Vol. 26 (1). P. 105–121. DOI: 10.1016/j.cvfa.2009.10.007.
2. Глотов А.Г., Глотова Т.И., Петрова О.Г., Нефедченко А.В., Татарчук А.Т., Котенева С.В., Ветров Г.В., Сергеев А.Н. Распространение вирусных респираторных болезней крупного рогатого скота // *Ветеринария*. 2002. № 3. С. 17–21.
3. Глотов А.Г., Глотова Т.И., Семенова О.В., Котенева С.В., Никонова А.А. Индикаторы циркуляции возбудителей вирусной диареи (болезни слизистых оболочек) крупного рогатого скота на молочных комплексах в условиях Сибири // *Сельскохозяйственная биология*. 2016. Том 51. № 4. С. 483–490. DOI: 10.15389/agrobiology.2016.4.483rus.
4. Шилова Е.Н., Рябосова М.В., Шкуратова И.А., Вялых Е.В. Вирусная диарея – болезнь слизистых оболочек крупного рогатого скота в Уральском регионе // *Ветеринария*. 2014. № 5. С. 19–21.
5. Алексеенкова С.В., Юров Г.К., Гальнбек Т.В., Калина И.А., Юров К.П. Проверка клеточных культур на контаминацию вирусом диареи крупного рогатого скота – необходимое условие производства биологических препаратов // *Российский ветеринарный журнал. Сельскохозяйственные животные*. 2013. № 1. С. 15–18.
6. *Palomares R.A., Marley S.M., Givens M.D., Gallardo R.A., Brock K.V.* Bovine viral diarrhoea virus fetal persistent infection after immunization with a contaminated modified-live virus vaccine // *Theriogenology*. 2013. Vol. 79. N 8. P. 1184–1195. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2013.02.017.
7. *Adler B., Adler H., Pfister H., Jungi T.W., Peterhans E.* Macrophages infected with cytopathic bovine viral diarrhoea virus release a factor(s) capable of priming uninfected macrophages for activation-induced apoptosis // *Journal of Virology*. 1997. Vol. 71. P. 3255–3258.
8. *Nakamura S., Shimazaki T., Sakamoto K., Fukushima A., Inoue Y., Ogawa N.* Enhanced replication of orbiviruses in bovine testicle cells infected with bovine viral diarrhoea virus // *The Journal of Veterinary Medical Science*. 1995. Vol. 57(4). P. 677–681. DOI: 10.1292/jvms.57.677.
9. *Bielefeldt Ohmann H., Babiuk L.A.* Influence of interferons alpha II and gamma and of tumour necrosis factor on persistent infection with bovine viral diarrhoea virus in vitro // *The Journal of general virology*. 1988. Vol. 69. P. 1399–1403.
10. *Sentsui H., Takami R., Nishimori T., Murakami K., Yokoyama T., Yokomizo Y.* Anti-viral effect of interferon-alpha on bovine viral diarrhoea virus // *Journal of Veterinary Medical Science*. 1998. N 60 (12). P. 1329–1333.

DOI:10.1292/jvms.60.1329.

11. *Givens M.D., Galik P.K., Riddell K.P., Dykstra C.C., Brock K.V., Stringfellow D.A.* Effects of aromatic cationic molecules on bovine viral diarrhea virus and embryonic development // *Theriogenology*. 2005. Vol. 63 (7). P. 1984–1994. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2004.09.004.
12. *Givens M.D., Stringfellow D.A., Riddell K.P., Galik P.K., Carson R.L., Riddell M.G., Navarre C.B.* Normal calves produced after transfer of in vitro fertilized embryos cultured with an antiviral compound // *Theriogenology*. 2006. Vol. 65 (2). P. 344–355. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2005.04.027.
13. *Ouzounov S., Mehta A., Dwek R.A., Block T.M., Jordan R.* The combination of interferon [alpha]-2b and n-butyl deoxynojirimycin has a greater than additive antiviral effect upon production of infectious bovine viral diarrhea virus (BVDV) in vitro: implications for hepatitis C virus (HCV) therapy // *Antiviral Research*. 2002. Vol. 55. P. 425–435. DOI: 10.1016/S0166-3542(02)00075-X.
14. *Buckwold V.E., Wei J., Wenzel-Mathers M., Russell J.* Synergistic in vitro interactions between alpha interferon and ribavirin against bovine viral diarrhea virus and yellow fever virus as surrogate models of hepatitis C virus replication // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2003. Vol. 47. P. 2293–2298. DOI: 10.1128/aac.47.7.2293-2298.2003.
15. *Durantel D., Carrouee-Durantel S., Branza-Nichita N., Dwek R.A., Zitzmann N.* Effects of Interferon, Ribavirin, and Iminosugar Derivatives on Cells Persistently Infected with Noncytopathic Bovine Viral Diarrhea Virus // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2004; Vol. 48 (2). P. 497–504. DOI: 10.1128/aac.48.2.497-504.2004.
16. *Глотова Т.И., Кунгурцева О.В., Тугунова Т.Б., Ядренкина Т.Г., Глотов А.Г., Донченко Н.А.* Противовирусная активность рибавирина липосомального в отношении вируса калицивируса кошек // *Сибирский вестник сельскохозяйственной науки*. 2012. № 4. С. 92–97.
17. *Ребриков Д.В., Саматов Г.А., Трофимов Д.Ю.* ПЦР в реальном времени: монография. М.: БИНОМ, 2009. 215 с.
18. *Gong Y., Trowbridge R., Mackintosh S., Shannon A., Gowans E.J.* A stable cell line with a proportion of cells persistently infected with bovine viral diarrhoea virus // *Veterinary Microbiol.* 1998. Vol. 63. P. 117–124. DOI: 10.1016/s0378-1135(98)00230-2.

REFERENCES

1. Ridpath J.F. Bovine viral diarrhea virus: global status. *Veterinary Clinics of North America: FoodAnimalPractice*, 2010, vol. 26(1), pp. 105–121. DOI: 10.1016/j.cvfa.2009.10.007.
2. Glotov A.G., Glotova T.I., Petrova O.G., Nefedchenko A.V., Tatarchuk A.T., Koteneva S.V., Vetrov G.V., Sergeev A.N. Rasprostraneniye virusny'x respiratorny'x boleznej krupnogo rogatogo skota [The spread of viral respiratory diseases of cattle]. *Veterinariya* [Veterinary], 2002, vol. 3. pp. 17–21. (In Russian).
3. Glotov A.G., Glotova T.I., Semenova O.V., Koteneva S.V., Nikonova A.A. Indikatory' cirkulyacii vzbuditelej virusnoj diarei (bolezni slizisty'x obolochek) krupnogo rogatogo skota na molochny'x kompleksax v usloviyax Sibiri [Indicators of the circulation of pathogens of viral diarrhea (mucosal disease) of cattle on dairy complexes in Siberia]. *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya* [Agricultural Biology], 2016, vol. 51, no. 4, pp. 483–490. (In Russian). DOI: 10.15389/agrobiol.2016.4.483rus.
4. Shilova E.N., Ryaposova M.V., Shkuratova I.A., Vyaly'x E.V. Virusnaya diareya - bolezni' slizisty'x obolochek krupnogo rogatogo skota v Ural'skom regione [Viral diarrhea - a disease of the mucous membranes of cattle in the Ural region]. *Veterinariya* [Veterinary], 2014, no. 5, pp. 19–21. (In Russian).
5. Alekseenkova S.V., Yurov G.K., Gal'nbek T.V., Kalita I.A., Yurov K.P. Proverka kletochny'x kul'tur na kontaminaciyu virusom diarei krupnogo rogatogo skota – neobxodimoe uslovie proizvodstva biologicheskix preparatov. [Checking cell cultures for contamination with a bovine diarrhea virus is a prerequisite for the production of biological products]. *Rossiiskii veterinarnyi zhurnal. Sel'skokhozyaistvennyye zhivotnye* [Russian Veterinary Journal. Agricultural animals], 2013, vol. 1, pp. 15–18.
6. Palomares R.A., Marley S.M., Givens M.D., Gallardo R.A., Brock K.V. Bovine viral diarrhea virus fetal persistent infection after immunization with a contaminated modified-live virus vaccine. *Theriogenology*, 2013, vol. 79, no. 8, pp. 1184–1195. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2013.02.017.
7. Adler B., Adler H., Pfister H., Jungi T.W., Peterhans E. Macrophages infected with cytopathic bovine viral diarrhea virus release a factor(s) capable of priming uninfected macrophages for activation-induced apoptosis. *Journal of Virology*, 1997, vol. 71, pp. 3255–3258.

8. Nakamura S., Shimazaki T., Sakamoto K., Fukushima A., Inoue Y., Ogawa N. Enhanced replication of orbiviruses in bovine testicle cells infected with bovine viral diarrhoea virus. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 1995, vol. 57(4), pp. 677–681. DOI: 10.1292/jvms.57.677.
9. Bielefeldt Ohmann H., Babiuk L.A. Influence of interferons alpha II and gamma and of tumour necrosis factor on persistent infection with bovine viral diarrhoea virus in vitro. *The Journal of general virology*, 1988, vol. 69, pp. 1399–1403.
10. Sentsui H., Takami R., Nishimori T., Murakami K., Yokoyama T., Yokomizo Y. Anti-viral effect of interferon-alpha on bovine viral diarrhoea virus. *Journal of Veterinary Medical Science*, 1998, no. 60 (12), pp. 1329–1333. DOI:10.1292/jvms.60.1329.
11. Givens M.D., Galik P.K., Riddell K.P., Dykstra C.C., Brock K.V., Stringfellow D.A. Effects of aromatic cationic molecules on bovine viral diarrhoea virus and embryonic development. *Theriogenology*, 2005, vol. 63 (7), pp. 1984–1994. DOI:10.1016/j.theriogenology.2004.09.004.
12. Givens M.D., Stringfellow D.A., Riddell K.P., Galik P.K., Carson R.L., Riddell M.G., Navarre C.B. Normal calves produced after transfer of in vitro fertilized embryos cultured with an antiviral compound. *Theriogenology*, 2006, vol. 65(2), pp. 344–355. DOI:10.1016/j.theriogenology.2005.04.027.
13. Ouzounov S., Mehta A., Dwek R.A., Block T.M., Jordan R. The combination of interferon [alpha]-2b and n-butyl deoxynojirimycin has a greater than additive antiviral effect upon production of infectious bovine viral diarrhoea virus (BVDV) in vitro: implications for hepatitis C virus (HCV) therapy. *Antiviral Research*, 2002, vol. 55, pp. 425–435. DOI: 10.1016/S0166-3542(02)00075-X.
14. Buckwold V.E., Wei J., Wenzel-Mathers M., Russell J. Synergistic in vitro interactions between alpha interferon and ribavirin against bovine viral diarrhoea virus and yellow fever virus as surrogate models of hepatitis C virus replication. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2003, vol. 47, pp. 2293–2298. DOI: 10.1128/aac.47.7.2293-2298.2003.
15. Durantel D., Carrouee-Durantel S., Branza-Nichita N., Dwek R.A., Zitzmann N. Effects of Interferon, Ribavirin, and Iminosugar Derivatives on Cells Persistently Infected with Noncytopathic Bovine Viral Diarrhoea Virus. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2004, vol. 48 (2), pp. 497–504. DOI: 10.1128/aac.48.2.497-504.2004.
16. Glotova T.I., Kungurceva O.V., Tugunova T.B., Yadrenkina T.G., Glotov A.G., Donchenko N.A. Protivovirusnaya aktivnost' ribavirina liposomal'nogo v otnoshenii virusa kalitsiviroza koshek. [Antiviral activity of liposomal ribavirin against cats calicivirus virus]. *Sibirskii vestnik sel'skokhozyaistvennoi nauki* [Siberian Herald of Agricultural Science], 2012, vol. 4, pp. 92–97. (In Russian).
17. Rebrikov D.V., Samatov G.A., Trofimov D.Yu. *PCR v real'nom vremeni*. [Real-time PCR]. Moscow, BINOM Publ., 2009, 215 p. (in Russian).
18. Gong Y., Trowbridge R., Mackintosh S., Shannon A., Gowans E.J. A stable cell line with a proportion of cells persistently infected with bovine viral diarrhoea virus. *Veterinary Microbiol.* 1998, vol. 63, pp. 117–124. DOI: 10.1016/S0378-1135(98)00230-2.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

✉ **Глотова Т.И.**, доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник; **адрес для переписки:** Россия, 630501, Новосибирская область, р.п. Краснообск, СФНЦ РАН, а/я 463; e-mail: t-glotova@mail.ru

Никонова А.А., кандидат ветеринарных наук, младший научный сотрудник

Котенева С.В., кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник

Глотов А.Г., доктор ветеринарных наук, профессор, заведующий лабораторией

AUTHOR INFORMATION

✉ **Glotova T.I.**, Doctor of Science in Biology, Professor, Head Researcher; **address:** PO Box 463, SFSCA RAS, Krasnoobsk, Novosibirsk Region, 630501, Russia; e-mail: t-glotova@mail.ru

Nikonova A.A., Candidate of Science in Veterinary Medicine, Junior Researcher

Koteneva S.V., Candidate of Science in Veterinary Medicine, Senior Researcher

Glotov A.G., Doctor of Science in Veterinary Medicine, Laboratory Head

Дата поступления статьи 27.02.2019
Received by the editors 27.02.2019