

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ АГРАРНИХ НАУК УКРАЇНИ

**НАЦІОНАЛЬНИЙ НАУКОВИЙ ЦЕНТР
«ІНСТИТУТ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ І КЛІНІЧНОЇ
ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ»**

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

КОРНЄЙКОВА ОЛЬГА БОРИСІВНА

УДК 619:616.98-036.22:578.82/.83:636.22/.28(477)

ДИСЕРТАЦІЯ

**ПОШИРЕННЯ ВІРУСНИХ ХВОРОБ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ
(ЛЕЙКОЗ, ІМУНОДЕФІЦИТ, СПУМАВІРУСНА ІНФЕКЦІЯ,
ІНФЕКЦІЙНИЙ РИНОТРАХЕЇТ ТА ВІРУСНА ДІАРЕЯ) В УКРАЇНІ
ТА ВИЗНАЧЕННЯ БІОЛОГІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ЇХ ЗБУДНИКІВ**

21 — Ветеринарна медицина

211 — Ветеринарна медицина

Подається на здобуття освітньо-наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

_____ О. Б. Корнєйкова

Науковий керівник: **Палій Анатолій Павлович,**
доктор ветеринарних наук,
професор

Харків – 2026

АНОТАЦІЯ

Корнєйкова О. Б. Поширення вірусних хвороб великої рогатої худоби (лейкоз, імунodefіцит, спумавірусна інфекція, інфекційний ринотрахеїт та вірусна діарея) в Україні та визначення біологічних властивостей їх збудників. — Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 211 — Ветеринарна медицина. — Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини». Харків, 2026.

Дисертаційна робота виконана у лабораторії вивчення лейкозу та лабораторії вірусології Національного наукового центру «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини» відповідно до затверджених Національною академією аграрних наук України завдань наукових досліджень: 34.01.03.02 Ф «Дослідження епізоотологічних особливостей та екогеографічних властивостей збудників мінорних вірусних інфекцій великої рогатої худоби» (номер державної реєстрації 0121U108346), 34.01.01.11 П «Дослідження причин рецидивів епізоотії лейкозу великої рогатої худоби та удосконалення системи забезпечення благополуччя поголів'я ВРХ щодо цього захворювання» (номер державної реєстрації 0121U108347), 34.01.01.20 П «Удосконалення заходів забезпечення благополуччя тваринництва щодо лейкозу великої рогатої худоби» (номер державної реєстрації 0124U000164), 34.01.02.01 Ф «Дослідження впливу екологічних чинників на ензоотичну циркуляцію збудників трансмісивних вірусних хвороб сільськогосподарських тварин на території України та розроблення методології прогнозування їх поширення з використанням ГІС-технологій» (номер державної реєстрації 0121U108355) та 34.01.01.18 П «Моніторинг динаміки епізоотичної ситуації щодо вірусних пневмоентеритів великої рогатої худоби з урахуванням наслідків воєнної агресії рф» (номер державної реєстрації 0124U000622).

У дисертаційній роботі представлено аналіз епізоотичної ситуації щодо лейкозу, інфекційного ринотрахеїту (ІРТ) та вірусної діареї (ВД) великої рогатої худоби (ВРХ) в Україні та Європі; дані щодо поширення збудників імунodefіциту

та спумавірусної інфекції ВРХ в господарствах дев'яти областей України; інформацію щодо ролі членистоногих в механічному поширенні *Bovine leukemia virus* (BLV), *Bovine alphaherpesvirus 1* (BoHV-1) та *Bovine viral diarrhea virus* (BVDV). Визначено сублінії культури клітин нирки ембріона вівці, хронічно інфікованої вірусом лейкозу ВРХ (FLK-BLV), та запропоновано оптимальний склад поживних середовищ, що забезпечило підвищення накопичення лейкозного антигену. Представлено результати вивчення *in vitro* та *in vivo* біологічних властивостей вірусних збудників ВРХ: встановлено чутливість перещеплюваних культур клітин рогатої худоби до ізолятів *Bovine immunodeficiency virus* (BIV), *Bovine foamy virus* (BFV) та BoHV-1, а також біологічні властивості BFV та BLV на кролях, як гетерологічному виді тварин. Оцінено на перещеплюваній культурі клітин цитотоксичну та противірусну дію препарату на основі наночасток церію оксиду. Представлено результати визначення віруліцидної дії дезінфікуючого засобу на основі четвертинних сполук амонію та глутарового альдегіду на BVDV та BoHV-1.

Основні результати роботи. За результатами проведеного аналізу епізоотологічних та серологічних досліджень встановлено, що впровадження політики «стемпінг-ауту» та її модифікованих форм у країнах ЄС є ефективним інструментом боротьби з лейкозом ВРХ, що підтверджується викоріненням хвороби в окремих регіонах та стабільним зниженням кількості нових випадків. Водночас, у країнах Східної Європи лейкоз ВРХ й досі залишається актуальною проблемою, підтвердженням чого є систематичне виявлення інфікованих тварин та, відповідно, зростання на 52 % чисельності нових неблагополучних пунктів у 2022–2023 рр.

Визначено, що впродовж 2019–2024 рр. в Україні спостерігається тенденція до зниження на 9,6–22,9 % кількості досліджень тварин на лейкоз, які утримуються в господарствах всіх форм власності, наслідком чого була несвоєчасна ізоляція інфікованої ВРХ зі стада, що призвело до поступового збільшення рівня серопревалентності, починаючи з 2022 р. до 0,53 % на тлі попереднього сталого зниження цього показника в 2019–2022 рр. з 0,65 % до

0,33 %. Установлено, що за умов широкомасштабного впровадження методу ІФА в систему контролю лейкозу в скотарстві України на перших етапах спостерігали зростання рівня серопревалентності до вірусу лейкозу до 0,8 % (2019–2020 рр.) з поступовим зниженням цього показника з кінця 2020 р. до початку 2022 р. до 0,3 %. Використання методу ІФА, у порівнянні з РІД, під час проведення протилейкозних заходів дозволяє прискорити оздоровлення господарств за рахунок ранньої діагностики та більшої чутливості методу. За результатами власних досліджень упродовж 2021–2025 рр. сироваток крові від 64 672 голів ВРХ 16 господарств 8 областей України було встановлено, що рівень серопревалентності в них становив від 0,07 до 46,5 % та залежав від етапу та якості впроваджених протилейкозних заходів. Загальний рівень серопревалентності до BLV в означених господарствах становив 1,29 %. У 5,45 % досліджених серопозитивних тварин реєстрували клінічний прояв лейкозу ВРХ (гематологічна форма).

За результатами вивчення поширення збудників мінорних інфекцій ВРХ встановлено неоднорідний рівень виявлення спумавірусної інфекції серед ВРХ 9 областей України. Найвищу частку інфікованих спумавірусом ВРХ тварин зафіксовано у господарствах Кіровоградської (70,0 %), Сумської (73,3%), Одеської (55,0 %) та Харківської (30,0%) областей, що свідчить про значну циркуляцію вірусу в цих регіонах. Натомість, виявлення інфікованих вірусом імунodefіциту тварин було на дещо нижчому рівні та становило 40,0 % у Кіровоградській та Одеській областях. Визначено, що випадки асоційованого інфікування тварин BFV, BIV та BLV було зафіксовано в 14,3 % обстежених господарств. Крім того, у 26,7 % досліджених тварин господарства Сумської області виявлено асоційовану інфекцію BLV та BFV, що може свідчити про можливу взаємодію цих вірусів та їхній потенційний вплив на перебіг ретровірусної інфекції у ВРХ.

За результатами обстеження 18 господарств 9 областей України антигени вірусу ІРТ виявляли у 33,3 % випадків, а збудника ВД — у 27,7 % випадків, тоді як наявність специфічних антитіл до BoHV-1 підтверджена у 94,7 % зразків сироватки крові, а до BVDV — у 75,1 %. Незважаючи на високий рівень

гуморальної імунної відповіді у тварин з обстежених господарств до вірусів ІРТ та ВД у 44,4 % з них реєстрували респіраторний прояв захворювання, в 11,1 % — кишковий, а в 16,7 % — репродуктивний та полісимптомний відповідно.

Визначення ролі комах в поширенні вірусів ВРХ проводили за допомогою ентомологічних досліджень на території тваринницьких приміщень, прилеглої до них територій та природних стацій з подальшою індикацією генетичного матеріалу вірусів в отриманих пулах членистоногих. *Culicoides* spp. виявляли в 80,0 % зборів, *Muscidae* spp. — 70,0 %, *Simuliidae* spp. — 30,0 %, *Oestridae* spp. — 20 %. Крім того, в умовах тваринницьких ферм виявляли наступні види мух: *Musca domestica* Linnaeus, 1758, *Musca tempestiva* Fallén, 1817, *Musca larvipara* Portsichinsky, 1910, *Musca autumnalis* De Geer, 1776 та *Calliphoridae* spp. За результатами проведених молекулярно-генетичних досліджень генетичний матеріал BLV, BoHV-1 та BVDV в пулах членистоногих (n = 49) виявлено не було, а відповідно й роль вищезначених членистоногих у механічному поширенні збудників лейкозу, ІРТ та ВД наразі не доведено.

Аналізом результатів вірусологічних досліджень установлено, що ростові та антигенпродукуючі властивості перещеплюваних культур клітин FLK значною мірою залежать від складу поживного середовища та генетичних особливостей використаних субліній. Найкращий ріст клітин та високу антигенпродукуючу активність було зафіксовано за умов використання середовища RPMI (100 %) або суміші DMEM (60,0 %) і RPMI (40,0 %), з додаванням 10 % фетальної сироватки крові ВРХ за культивування субліній FLK-50/100 та FLK-SBBL, що дозволило отримати антигени, які мали активність з позитивною сироваткою крові на рівні 1:4 та 1:3,5 відповідно. Отже, саме ці лінії є найбільш перспективними для подальшого використання у виробництві антигенів ретровірусної природи.

Аналізом результатів досліджень доведено, що репродукція BIV, яка підтверджена наявністю генетичного матеріалу вірусу, спостерігалася в культурі клітин ЛЕК до 10-го пасажу, а в лінії клітин КСТ — до 5-го пасажу. Натомість, генетичний матеріал BFV в культурі клітин ЛЕК виявляли до 11-го пасажу та до 5-пасажу в клітинах культури КСТ. Відповідно, нами було доведено нижчу

тропність збудників імунodefіциту та спумавірусної інфекції ВРХ до клітин перещеплюваної культури КСТ у порівнянні з клітинами ЛЕК.

Вивчено чутливість перещеплюваних культур клітин до польового ізоляту вірусу ІРТ — клітинні лінії ТрТ, MDBK, НВ-2 та ЛЕК є чутливими до ВоНВ-1. Репродукція та адсорбційні властивості ізоляту вірусу ІРТ були більш вираженими на перещеплюваних культурах клітин MDBK та ЛЕК — повне руйнування моношару спостерігали на 2–3-тю доби інкубації навіть за множинності інфікування 0,00125 ТЦД₅₀/клітину. Використання перещеплюваної культури клітин ЛЕК у порівнянні з іншими чутливими перещеплюваними лініями в біотехнології ВоНВ-1 дозволяє отримати вірусну біомасу з підвищеним титром інфекційної активності на майже 1,5 lg ТЦД₅₀/см³ впродовж трьох пасажів.

Отримано та проаналізовано результати інфікування кроликів біологічним матеріалом від ВРХ, інфікованої збудником спумавірусної інфекції. Установлено, що інфікування ВРВ призводить до розвитку тимчасового імуносупресивного стану, який характеризується перерозподілом лейкоцитарної фракції крові у бік значного (80–88 %) лімфоцитозу, зниженням на 21,6 % концентрації циркулюючих імунних комплексів, на 15,1 % рівня глобулінів та збільшення на 15,0 % рівня серомукоїдів. Водночас, відсутність інших суттєвих гематологічних змін свідчить про помірну, але специфічну, імунну дисфункцію, зумовлену впливом вірусу на імунну систему кроликів. Натомість, інокуляція кролям біологічного матеріалу, що містив ВLV, призводить до персистенції збудника у 60 % дослідних тварин. Персистенція ВLV у кролів не спричиняє суттєвих гематологічних порушень, спостерігається виражений лімфоцитоз, що свідчить про активізацію інфекційного процесу і формування імуносупресивного стану у тварин.

Визначено, що наночастки церію оксиду за їх використання в концентрації 0,057 мкг/см³ інгібують дію вірусу діареї ВРХ та не проявляють цитотоксичної дії для клітин перещеплюваної лінії ЛЕК. За одночасного їх внесення з ВDV, на фоні помірної їх цитотоксичної дії (CC₅₀ — 0,077 мкг/см³), спостерігається

інгібування прояву вірусіндукованого ЦПД (IC_{50} — $0,036 \text{ мкг/см}^3$) та зниження на $2,09 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$ інфекційної активності збудника, що дозволяє використовувати означений наноматеріал як компонент дезінфекційних розчинів та противірусних препаратів.

Застосування препарату, який складається з суміші четвертинних амонієвих сполук (25,0 %), глутарового альдегіду (11,0 %), ізопропілового спирту, неіоногенних поверхнево-активних речовин (ПАР), у концентрації не менше 0,1 % нейтралізує ВоНВ-1 за експозиції не менше 20 хв, а у концентрації не менше 0,5 % за експозиції не менше 20 хв інактивує ВВДВ за температури 10–37 °С на різних тест-об'єктах (метал, кахель, скло, пластик, дерево, бавовна).

Наукова новизна одержаних результатів полягає у тому, що проведено комплексний епізоотологічний моніторинг у скотарських господарствах 9 областей України щодо вірусних хвороб великої рогатої худоби, які супроводжуються розвитком імуносупресивного стану у тварин (лейкоз, імунодефіцит, спумавірусна інфекція, інфекційний ринотрахеїт та вірусна діарея ВРХ), у т. ч. враховуючи військову агресію рф. Уперше отримано дані щодо поширення спумавірусу та вірусу імунодефіциту ВРХ в неблагополучних щодо лейкозу господарствах, у т. ч. за їх асоційованого перебігу. Отримано нові знання щодо ролі членистоногих як механічних переносників герпес-, песті- та ретровірусів в умовах тваринницьких приміщень та прилеглої території. Отримані знання дозволять удосконалити систему епізоотичного нагляду в Україні за означеними вірусними хворобами великої рогатої худоби. Уперше в Україні було розроблено «Спосіб підвищення виходу вірусу лейкозу та його антигенів за допомогою підбору клітин FLK-BLV (патент України на корисну модель № 156791), який передбачає отримання різних субліній перещеплюваної культури клітин FLK-BLV, а саме FLK-50/100, FLK-SBBL, FLK-71, FLK-Pol та FLK-D12VP шляхом їх розведення до низької клоногенної щільності. Отримано нові знання щодо біологічних властивостей збудників спумавірусу, вірусу імунодефіциту та герпесвірусу 1-го типу на перещеплюваних культурах клітин та доведено чутливість кролів, як гетерологічного виду тварин до ретровірусів ВРХ, що

дозволить удосконалити біотехнологію та засоби контролю захворювань. Уперше встановлено чутливість BVDV до дії наночасток церію оксиду, які за концентрації $0,057 \text{ мкг/см}^3$ інгібують прояв вірусіндукованого цитопатичного ефекту вірусу та знижують на $2,09 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$ його інфекційну активність, а також BoHV-1 та BVDV, які повністю втрачають інфекційні властивості під дією інноваційного дезінфектанту на основі четвертинних амонієвих сполук, глутарового альдегіду та ізопропілового спирту, за його концентрації не менше 0,1 %.

Практичне значення отриманих результатів полягає в тому, що отримані шляхом розведення до низької клоногенної щільності сублінії перещеплюваної культури клітин FLK-50/100 та FLK-SBBL, які культивовані на поживних середовищах RPMI та DMEM, забезпечують підвищення антигенпродукуючої активності культури FLK-BLV та дозволяють удосконалити технологію виготовлення антигену вірусу лейкозу для реакції імунодифузії в агаровому гелі (патент України на корисну модель № 156791). Отримані дані щодо біологічних властивостей вірусів лейкозу, імунодефіциту та спумавірусної інфекції на перещеплюваних культурах клітин можуть бути використані в біотехнології під час удосконалення засобів діагностики та профілактики захворювань. Наночастки оксиду церію за їх використання в концентрації $0,057 \text{ мкг/см}^3$ інгібують дію вірусу діареї BPX, не проявляють цитотоксичної дії для клітин перещеплюваної лінії та можуть бути використані як компонент дезінфекційних розчинів та противірусних препаратів під час контролю вірусних захворювань великої рогатої худоби. Дезінфікуючий засіб на основі четвертинних амонієвих сполук (25,0 %), глутарового альдегіду (11,0 %), ізопропілового спирту, неіоногенних ПАВ за концентрацій не менше 0,1 % та експозиції від 20 хв може бути використаний для дезінфекції тваринницьких приміщень у господарствах з утримання великої рогатої худоби. Одержані результати наукових досліджень використовуються для підготовки здобувачів вищої освіти за спеціальністю «Ветеринарна медицина» під час викладання курсів «Епізоотологія та інфекційні хвороби тварин», «Ветеринарна мікробіологія», «Епідеміологія та інфекційні хвороби тварин» та «Ветеринарна вірусологія» у закладах вищої освіти України.

Ключові слова: антиген, біологічні властивості, велика рогата худоба, віруліцидна дія, віруси, вірусна діарея, епізоотична ситуація, імунodefіцит, інфекційний ринотрахеїт, культура клітин, лейкоз, превалентність, спумавірусна інфекція, цитопатична дія.

ANNOTATION

Kornieikova O. B. Spread of viral diseases of cattle (leukosis, immunodeficiency, foamy virus infection, infectious rhinotracheitis, and viral diarrhea) in Ukraine and determination of the biological properties of their causative agents. — Qualifying scientific work submitted as a manuscript.

Dissertation for the degree of Doctor of Philosophy in the specialty 211 — Veterinary Medicine. — National Scientific Center “Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine”. Kharkiv, 2026.

The dissertation research was conducted at the Laboratory for Leukosis Studies and the Laboratory of Virology of the National Scientific Center “Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine” in accordance with research programs approved by the National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine: 34.01.03.02 F “Investigation of epizootological features and ecogeographical properties of causative agents of minor viral infections of cattle” (state registration number 0121U108346); 34.01.01.11 P “Investigation of causes of recurrence of bovine leukosis epizootics and improvement of the system ensuring cattle herd health regarding this disease” (state registration number 0121U108347); 34.01.01.20 P “Improvement of measures to ensure livestock health regarding bovine leukosis” (state registration number 0124U000164); 34.01.02.01 F “Study of the influence of environmental factors on enzootic circulation of transmissible viral diseases of farm animals in Ukraine and development of methodologies for forecasting their spread using GIS technologies” (state registration number 0121U108355); 34.01.01.18 P “Monitoring the dynamics of the epizootic situation of viral pneumoenteritis of cattle considering the consequences of the military aggression of the Russian Federation” (state registration number 0124U000622).

The dissertation presents an analysis of the epizootic situation of bovine leukosis, infectious bovine rhinotracheitis (IBR), and bovine viral diarrhea (BVD) in Ukraine and Europe; data on the spread of bovine immunodeficiency virus (BIV) and bovine foamy virus (BFV) in farms of nine regions of Ukraine; and information on the role of arthropods in the mechanical transmission of BLV, BoHV-1, and BVDV. Sub-lines of the FLK-BLV cell culture were identified, and an optimal composition of culture media was proposed, which ensured increased accumulation of leukosis antigen during biotechnological cultivation. The results of *in vitro* and *in vivo* studies of the biological properties of bovine viral pathogens are presented. We established the sensitivity of passaged bovine cell cultures to BIV, BFV, and BoHV-1 isolates, as well as the biological properties of BFV and BLV in rabbits, which are a heterologous species. Cytotoxic and antiviral effects of a preparation based on cerium oxide nanoparticles were evaluated in passaged cell cultures. The virucidal activity of a disinfectant based on quaternary ammonium compounds and glutaraldehyde against BVDV and BoHV-1 was determined.

Main results of the work. Based on the analysis of epizootological and serological data, it was established that the implementation of the stamping-out policy and its modified forms in European countries is an effective tool for the control of bovine leukosis, as evidenced by the eradication of the disease in certain regions and a stable reduction in the number of new cases. Meanwhile, bovine leukosis remains a significant issue in Eastern European countries. This is evident through the consistent identification of infected animals and the subsequent 52% surge in newly identified infected farms between 2022 and 2023.

From 2019 to 2024, Ukraine experienced a decrease in the number of cattle tested for bovine leukosis across farms of all ownership types, ranging from 9.6% to 22.9%. This reduction led to a gradual increase in seroprevalence in 2022, which reached 0.53%. This increase occurred against the backdrop of a previously stable decline in seroprevalence from 0.65% to 0.33% between 2019 and 2022.

It was established that under the conditions of a large-scale implementation of the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) in the bovine leukosis control system in

Ukraine, an initial increase in seroprevalence to 0.8% was observed during 2019–2020, followed by a gradual decrease from late 2020 to early 2022 to 0.3%. The use of ELISA, compared to the agar gel immunodiffusion (AGID) test, in anti-leukosis control measures accelerates herd recovery due to earlier diagnosis, and provides higher diagnostic sensitivity. According to the results of our own studies conducted from 2021 to 2025, analysis of blood serum samples from 64,672 heads of cattle from 16 farms located in 8 regions of Ukraine revealed seroprevalence levels ranging from 0.07% to 46.5%, depending on the stage and quality of the implemented anti-leukosis measures. The overall seroprevalence of BLV in the surveyed farms was 1.29%. Clinical manifestations of bovine leukosis (hematological form) were recorded in 5.45% of the examined seropositive animals.

Based on the study of the distribution of causative agents of minor cattle infections, a heterogeneous detection rate of bovine foamy virus (BFV) infection was established among cattle in nine regions of Ukraine. The highest proportions of BFV–infected cattle were recorded in the farms of Kirovohrad (70.0%), Sumy (73.3%), Odesa (55.0%), and Kharkiv (30.0%) regions, indicating intensive viral circulation in these areas. In contrast, the detection rate of bovine immunodeficiency virus (BIV)–infected animals was somewhat lower, reaching 40.0% in Kirovohrad and Odesa regions. It was determined that cases of associated infection with BFV, BIV, and BLV were identified in 14.3% of the examined farms. Moreover, 26.7% of the examined animals from farms in Sumy Region were found to have a combined BLV and BFV infection, which may indicate a possible interaction between these viruses and their potential impact on the course of retroviral infection in cattle.

An examination of 18 farms in nine regions of Ukraine revealed that antigens of BoHV-1 were present in 33.3% of cases, while BVDV was present in 27.7% of cases. The presence of specific antibodies to BoHV-1 and BVDV was confirmed in 94.7% and 75.1% of blood serum samples, respectively. Despite the high level of humoral immune response to BoHV-1 and BVDV in the examined animals, respiratory manifestations were recorded in 44.4% of cases, diarrhea in 11.1%, and reproductive and polysymptomatic forms in 16.7%, respectively.

Entomological surveys conducted within livestock buildings, adjacent areas, and natural habitats revealed the presence of *Culicoides* spp. in 80.0% of collections, Muscidae spp. in 70.0%, Simuliidae spp. in 30.0%, and Oestridae spp. in 20.0%. In addition, the following fly species were identified under farm conditions: *Musca domestica*, *Musca tempestiva*, *Musca larvipara*, *Musca autumnalis*, and representatives of the Calliphoridae family. According to the results of molecular genetic studies, no genetic material of BLV, BoHV-1, or BVDV was detected in pools of arthropods (n = 49); therefore, the role of the aforementioned arthropods in the mechanical transmission of the causative agents of bovine leukosis, IBR, and BVD has not been confirmed to date.

Analysis of virological study results demonstrated that the growth characteristics and antigen-producing capacity of passaged FLK cell cultures largely depend on the composition of the culture medium and the genetic features of the applied sublines. The most intensive cell growth and the highest antigen-producing activity were observed when using RPMI medium (100%) or a mixture of DMEM (60.0%) and RPMI (40.0%) supplemented with 10% fetal bovine serum, during cultivation of the FLK-50/100 and FLK-SBBL sublines. This approach enabled the production of antigens showing reactivity with positive serum at titers of 1:4 and 1:3.5, respectively. Therefore, these sublines are considered the most promising for further use in the production of retroviral antigens.

Further analysis demonstrated that BIV replication, confirmed by the presence of viral genetic material, was observed in bovine embryonic lung (BEL) cell cultures up to the 10th passage, whereas in bovine coronary artery endothelial cells (BCAEC) it persisted up to the 5th passage. In contrast, BFV genetic material was detected in bovine embryonic lung (BEL) cells up to the 11th passage and up to the 5th passage in BCAEC cell cultures. Accordingly, a lower tropism of bovine immunodeficiency virus and bovine foamy virus for BCAEC passaged cell cultures compared to BEL cells was demonstrated.

The susceptibility of passaged cell cultures to a field isolate of BoHV-1 was investigated. The calf trachea epithelial cells, MDBK, sheep kidney cell culture, and

BEL cell lines were shown to be susceptible to BoHV-1. Viral replication and adsorption properties were most pronounced in MDBK and BEL cell cultures, where complete monolayer destruction was observed on days 2–3 of incubation, even at a multiplicity of infection of 0.00125 TCID₅₀/cell. The use of BEL cells, compared with other susceptible passaged cell lines, in BoHV-1 biotechnology enabled the production of viral biomass with an approximately 1.5 lg TCID₅₀/cm³ higher infectious titer over three passages.

The results of experimental infection of rabbits with biological material obtained from cattle infected with bovine foamy virus were obtained and analyzed. BFV infection was found to induce a transient immunosuppressive state, characterized by redistribution of the leukocyte fraction toward pronounced lymphocytosis (80–88%), a 21.6% decrease in circulating immune complexes, a 15.1% reduction in globulin levels, and a 15.0% increase in seromucoid levels. The absence of other significant hematological changes indicated moderate, specific immune dysfunction caused by the virus's impact on the rabbit's immune system. In contrast, inoculating rabbits with biological material containing BLV resulted in viral persistence in 60% of the animals in the experiment. BLV persistence in rabbits did not cause significant hematological disturbances. However, pronounced lymphocytosis was observed, indicating the activation of an infectious process and the development of an immunosuppressive state.

It was determined that cerium oxide nanoparticles, when applied at a concentration of 0.057 µg/cm³, inhibit bovine viral diarrhea virus (BVDV) without exhibiting cytotoxic effects on the BEL passaged cell line. When administered with BVDV against a background of moderate cytotoxicity (CC₅₀ = 0.077 µg/cm³), inhibition of the virus-induced cytopathic effect (IC₅₀ = 0.036 µg/cm³) was observed, along with a reduction of 2.09 lg TCID₅₀/cm³ in viral infectious activity. These results suggest that this nanomaterial could be used in disinfectants and antiviral agents.

Application of a preparation consisting of a mixture of quaternary ammonium compounds (25.0%), glutaraldehyde (11.0%), isopropyl alcohol, and nonionic surfactants, at a concentration of ≥ 0.1%, neutralized BoHV-1 with an exposure time of at least 20 minutes, while at a concentration of ≥ 0.5% and the same exposure time, it

effectively inactivated BVDV at temperatures of 10–37 °C on various test surfaces (metal, ceramic tile, glass, plastic, wood, and cotton).

The scientific novelty of the obtained results lies in conducting a comprehensive epizootological monitoring of viral diseases in cattle associated with immunosuppression (leukosis, immunodeficiency, foamy virus infection, infectious rhinotracheitis, and viral diarrhea) on cattle farms in nine regions of Ukraine, including consideration of the military aggression of the Russian Federation. For the first time, data on the spread of bovine foamy virus and bovine immunodeficiency virus in leukosis-affected farms, including their associated infections, were obtained. New knowledge was acquired on the role of arthropods as mechanical vectors of herpes-, pesti-, and retroviruses in livestock facilities and adjacent territories. These findings contribute to improving the epizootic surveillance system for bovine viral diseases in Ukraine. For the first time in Ukraine, the “Method for increasing the yield of leukemia virus and its antigens by selecting FLK-BLV cells” was developed (Ukrainian utility model patent No. 156791), which involves obtaining different sub-lines of passaged FLK-BLV cells (FLK-50/100, FLK-SBBL, FLK-71, FLK-Pol, and FLK-D12VP) by dilution to low clonogenic density. New data on the biological properties of BFV, BIV, and BoHV-1 in passaged cell cultures were obtained. The susceptibility of rabbits, as a heterologous species, to bovine retroviruses was demonstrated. This enables improvements in biotechnological approaches and disease control tools. For the first time, the sensitivity of BVDV to cerium oxide nanoparticles has been demonstrated. At a concentration of $0.057 \mu\text{g}/\text{cm}^3$, these nanoparticles inhibited the manifestation of the virus-induced cytopathic effect and reduced the infectious activity of BVDV by $2.09 \lg \text{TCID}_{50}/\text{cm}^3$. BoHV-1 and BVDV completely lost their infectious properties when exposed to an innovative disinfectant containing quaternary ammonium compounds, glutaraldehyde, and isopropyl alcohol at a concentration of at least 0.1%.

The practical significance of the results is that the FLK-50/100 and FLK-SBBL sublines, which were obtained through dilution to a low clonogenic density and cultured in RPMI and DMEM media, ensure an increased antigen-producing activity in the FLK-BLV culture. These sublines also improve leukemia virus antigen production for

agar gel immunodiffusion testing (Ukrainian utility model patent No. 156791). Data on the biological properties of leukosis, immunodeficiency, and foamy virus pathogens in passaged cell cultures can be applied in biotechnology for improving diagnostic and preventive tools. Cerium oxide nanoparticles at a concentration of $0.057 \mu\text{g}/\text{cm}^3$ inhibit bovine viral diarrhea virus without exhibiting cytotoxic effects on passaged cell lines and may be used as components of disinfectants and antiviral agents. A disinfectant based on quaternary ammonium compounds (25.0%), glutaraldehyde (11.0%), isopropyl alcohol, and nonionic surfactants at concentrations $\geq 0.1 \%$ with an exposure time of at least 20 min is effective for disinfection of cattle housing facilities. The obtained results may be recommended for use in higher education institutions during teaching courses “Epizootology and Infectious Diseases of Animals” and “Veterinary Virology” for students majoring in Veterinary Medicine.

Keywords: antigen, biological properties, cattle, virucidal activity, viruses, viral diarrhea, epizootic situation, immunodeficiency, infectious rhinotracheitis, cell culture, leukosis, prevalence, foamy virus infection, cytopathic effect.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації

Стаття у виданні, що включена до наукометричної бази даних Scopus

1. Stegnyy, B. T., Demchenko, O. A., Korneykov, O. M., Stegnyy, M. Yu., Oleshko, A. Yu., **Korneikova, O. B.**, Korovin, I. V., Babenko, L. P., & Spivak, M. Ya. (2021). Antiviral effect of cerium dioxide nanoparticles on the model of the causative agent of bovine viral diarrhea. *Mikrobiologichnyi Zhurnal*, 83(6), 65–74. <https://doi.org/10.15407/microbiolj83.06.065>. (Дисертанткою проведено аналіз літературних джерел, вірусологічні дослідження, аналіз отриманих даних).

Статті у фахових виданнях України категорії «Б»

2. Горбатенко, С. К., Кузнецова, О. В., Мягких, Н. В., & **Корнєйкова, О. Б.** (2021). Маловивчені вірусні мінорні інфекції великої рогатої худоби. 1. Бичачий

імунодефіцит (огляд літератури). *Ветеринарна медицина*, 107, 51–55. <https://doi.org/10.36016/VM-2021-107-8>. (Дисертанткою проведено пошук літературних джерел та їх аналіз).

3. Gorbatenko, S. K., **Kornieikova, O. B.**, Rudova, N. H., Dunaiev, Yu. K., Stegnyy, B. T., & Kornieikov, O. M. (2023). Insufficiently studied minor viral infections in livestock of Ukraine. *Journal for Veterinary Medicine, Biotechnology and Biosafety*, 9(1–2), 8–11. <https://doi.org/10.36016/jvmbbs-2023-9-1-2-2>. (Дисертанткою проведено аналіз літературних джерел, відбір матеріалу, прийнято участь в молекулярно-генетичних дослідженнях, аналіз отриманих даних).

4. Горбатенко, С. К., Рудова, Н. Г., **Корнєйкова, О. Б.**, Стегній, М. Ю., Коваленко, Л. В., Кузнецова, О. В., & Мягких, Н. В. (2023). Вивчення розповсюдження та біологічних властивостей польових ізолятів збудників імунодефіциту і спумавірусної інфекції великої рогатої худоби. *Ветеринарна медицина*, 109, 61–66. <https://doi.org/10.36016/VM-2023-109-11>. (Дисертанткою проведено аналіз літературних джерел, відбір матеріалу, вірусологічні дослідження, прийнято участь в молекулярно-генетичних дослідженнях, аналіз результатів).

5. Biloivan, O. V., Didyk, T. B., Yurko, P. S., **Korneikova, O. B.**, Paliy, A. P., Gorbatenko, S. K., & Bryl, N. F. (2023). Study of the spread of minor viral cattle infections (Leukemia, Immunodeficiency, and Spumavirus infection) using polymerase chain reaction. *Journal for Veterinary Medicine, Biotechnology and Biosafety*, 9(4), 3–6. <https://doi.org/10.36016/jvmbbs-2023-9-4-1>. (Дисертанткою проведено аналіз літературних джерел, відбір матеріалу, прийнято участь в молекулярно-генетичних дослідженнях, аналіз отриманих даних).

6. Gorbatenko, S. K., Biloivan, O. V., Kovalenko, L. V., Paliy, A. P., **Korneykova, O. B.**, Didyk, T. B., Kuznetsova, O. V., Myagkykh, N. V., & Bryl, N. F. (2024). On the issue of prevention and eradication of minor viral bovine diseases in Ukraine. *Journal for Veterinary Medicine, Biotechnology and Biosafety*, 10(3), 22–28. <https://doi.org/10.36016/jvmbbs-2024-10-3-4>. (Дисертанткою проведено аналіз літературних джерел, відбір матеріалу, вірусологічні дослідження, прийнято

участь в молекулярно-генетичних та біохімічних дослідженнях, аналіз результатів.

7. Gorbatenko, S. K., **Kornieikova, O. B.**, Stegnyy, B. T., Kuznetsova, O. V., & Miahkykh, N. V. (2024). The current situation regarding Bovine leukemia in livestock production and a strategic approach to anti-epizootic measures in the post-war context. *Journal for Veterinary Medicine, Biotechnology and Biosafety*, 10(4), 18–23. <https://doi.org/10.36016/jvmbbs-2024-10-4-2>. (Дисертанткою проведено аналіз літературних джерел, результатів серологічних досліджень і отриманих даних).

8. Gorbatenko, S. K., **Korneikova, O. B.**, Paliy, A. P., Korneikov, O. M., & Rodchenko, L. M. (2025). Susceptibility of rabbits, as heterologous animals, to Bovine leukemia virus. *Journal for Veterinary Medicine, Biotechnology and Biosafety*, 11(2), 19–23. <https://doi.org/10.36016/jvmbbs-2025-11-2-4>. (Дисертанткою проведено аналіз літературних джерел, прийнято участь в вірусологічних, серологічних, біохімічних та молекулярно-генетичних дослідженнях, аналіз отриманих результатів).

9. Горбатенко, С. К., **Корнейкова, О. Б.**, Кузнецова, О. В., Мягких, Н. В., Бриль, Н. Ф., & Фісенко, С. А. (2025). Досвід реалізації оздоровчих програм та сучасні засоби ліквідації лейкозу у тваринництві. *Ветеринарна медицина*, 111, 59–63. <https://doi.org/10.36016/VM-2025-111-9>. (Дисертанткою проведено аналіз літературних джерел, прийнято участь в серологічних дослідженнях, аналіз отриманих даних).

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації

Тези та матеріали конференцій

10. Корнейков, О. М., Бородай, Н. І., & **Корнейкова, О. Б.** (2023). Ефективність заходів контролю інфекційного ринотрахеїту та вірусної діареї в стадах великої рогатої худоби України. *Матеріали міжнародної науково-практичної конференції «Біотехнологія та її роль в забезпеченні здоров'я людей та тварин»*, м. Київ, 20 грудня 2023 року (с. 118–120). (Дисертанткою проведено

аналіз літературних джерел, відбір матеріалу, епізоотологічні та серологічні дослідження, аналіз отриманих даних).

11. Корнєйков, О. М., Бородай, Н. І., & **Корнєйкова, О. Б.** (2024). Вивчення чутливості перещеплюваних ліній клітин до ізоляту герпесвірусу-1 типу. *Матеріали міжнародної науково-практичної конференції «Актуальні аспекти розвитку ветеринарної медицини в умовах євроінтеграції», м. Одеса, 17–18 жовтня 2024 року* (с. 123–127). https://osau.edu.ua/wp-content/uploads/2024/11/2024_ZBIRNYK_FVM.pdf. *(Дисертанткою проведено аналіз літературних джерел, вірусологічні дослідження, аналіз отриманих результатів).*

12. **Корнєйкова, О. Б.**, Сумакова, Н. В., Горбатенко, С. К., & Родченко, Л. М. (2025). Вивчення ролі членистоногих в поширенні вірусів лейкозу, інфекційного ринотрахеїту та вірусної діареї великої рогатої худоби. *Тези доповідей онлайн-конференції аспірантів і молодих вчених у сфері Єдиного здоров'я та біотехнології «VetBioConnect», м. Харків, 3–4 червня 2025 року* (с. 31–34). https://iekvm.kharkov.ua/documents/VetBioConnect_2025_theses.pdf. *(Дисертанткою проведено аналіз літературних джерел, збір матеріалу, прийнято участь в ентомологічних та молекулярно-генетичних дослідженнях, аналіз отриманих даних).*

Наукові праці, які додатково відображають наукові результати дисертації

Патент України на корисну модель

13. Стегній, М. Ю., Стегній, Б. Т., Палій, А. П., Стешенко, Л. М., & **Корнєйкова, О. Б.** (2024). *Спосіб підвищення виходу вірусу лейкозу та його антигенів за допомогою підбору клітин FLK-BLV* (Патент на корисну модель UA 156791). Національний орган інтелектуальної власності Державна організація «Український національний офіс інтелектуальної власності та інновацій». <https://sis.nipo.gov.ua/uk/search/detail/1813607/>.

Стаття в іншому науковому виданні

14. Paliy, A. P., Kornieikov, O. M., Stegnyy, B. T., Al Jabari, M., Stegnyy, M. Y., **Kornieikova, O. B.**, & Palii, A. P. (2021). Evaluation of the virucidal action of disinfectant against pathogens of infectious rhinotracheitis and viral diarrhea in cattle. *Ukrainian Journal of Ecology*, 11(6), 117–126. <https://www.ujecology.com/articles/evaluation-of-virucidal-action-of-disinfectant-against-pathogens-of-infectious-rhinotracheitis-and-viral-diarrhea-in-cat.pdf>. (Дисертанткою проведено аналіз літературних джерел, вірусологічні дослідження, аналіз отриманих результатів).

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ...	23
ВСТУП.....	25
РОЗДІЛ 1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	32
1.1 Характеристика поширених вірусів-збудників економічно значущих хвороб великої рогатої худоби	32
1.1.1 Характеристика вірусу лейкозу великої рогатої худоби	33
1.1.2 Характеристика вірусу імунodefіциту великої рогатої худоби	34
1.1.3 Характеристика спумавірусу великої рогатої худоби	35
1.1.4 Характеристика герпесвірусу великої рогатої худоби 1-го типу	36
1.1.5 Характеристика вірусу діареї великої рогатої худоби	39
1.2 Епізоотологічні особливості вірусів, що спричиняють найбільш поширені економічно значущі хвороби великої рогатої худоби.....	41
1.2.1 Вірус ензоотичного лейкозу великої рогатої худоби.....	41
1.2.2 Вірус імунodefіциту великої рогатої худоби	44
1.2.3 Спумавірус великої рогатої худоби	46
1.2.4 Герпесвірус великої рогатої худоби 1-го типу	48
1.2.5 Вірусна діарея великої рогатої худоби	51
1.3 Біологічні властивості вірусів діареї, ринотрахеїту, лейкозу, імунodefіциту та спумавірусу великої рогатої худоби.....	53
1.3.1 Біологічні властивості вірусу лейкозу великої рогатої худоби	54
1.3.2 Біологічні властивості вірусу імунodefіциту великої рогатої худоби	55
1.3.3 Біологічні властивості спумавірусу великої рогатої худоби.....	56
1.3.4 Біологічні властивості герпесвірусу 1-го типу великої рогатої худоби...	56
1.3.5 Біологічні властивості вірусу діареї великої рогатої худоби	57
1.4 Діагностика вірусних хвороб великої рогатої худоби	59
1.4.1 Діагностика мінорних інфекцій великої рогатої худоби	59
1.4.2 Діагностика вірусів, що спричиняють комплекс респіраторних захворювань великої рогатої худоби	61
1.5 Роль наночасток в біології	64

	21
1.6 Характеристика та біоцидні властивості сучасних дезінфектантів.....	69
1.7 Узагальнення та висновки з огляду літератури	74
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	77
2.1 Епізоотологічний метод.....	77
2.2 Відбір проб біологічного матеріалу	78
2.3 Серологічні методи	80
2.4 Молекулярно-генетичні методи	82
2.5 Гематологічні та біохімічні методи	85
2.6 Вірусологічні методи.....	86
2.6.1 Культивування перещеплюваних культур клітин	86
2.6.2 Співкультивування перещеплюваних культур клітин з біологічним матеріалом, що вміщував BIV та BFV.....	87
2.6.3 Вивчення чутливості перещеплюваних ліній клітин до ізоляту BoHV-1	88
2.6.4 Визначення чутливості кролів до спумавірусу та вірусу лейкозу великої рогатої худоби	90
2.6.5 Біоетика.....	91
2.6.6 Вивчення протівірусної дії наночасток оксиду церію на моделі збудника вірусної діареї великої рогатої худоби	92
2.6.7 Оцінка віруліцидної дії дезінфікуючого засобу щодо вірусів великої рогатої худоби	95
2.7 Статистичні методи	98
РОЗДІЛ 3 РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	99
3.1 Епізоотологічні особливості вірусів, що спричиняють найбільш поширені економічно значущі хвороби великої рогатої худоби.....	99
3.1.1 Визначення епізоотичної ситуації щодо лейкозу великої рогатої худоби в Україні та Європі	100
3.1.2 Поширення збудників мінорних інфекцій великої рогатої худоби (імунодефіциту та спумавірусної інфекції) у неблагополучних щодо лейкозу господарствах України	115

3.1.3 Епізоотична ситуація щодо інфекційного ринотрахеїту та вірусної діареї великої рогатої худоби в Європі та окремих стадах України	122
3.2 Визначення ролі членистоногих у поширенні вірусу лейкозу, інфекційного ринотрахеїту та вірусної діареї ВРХ у неблагополучних господарствах	129
3.3 Вивчення біологічних властивостей вірусів діареї, ринотрахеїту, спумавірусу, імунodefіциту, лейкозу великої рогатої худоби <i>in vitro</i> та <i>in vivo</i>	134
3.3.1 Вивчення впливу поживних середовищ на різні сублінії перещеплюваної культури клітин FLK-BLV для підвищення їхніх антигенпродукуючих властивостей	135
3.3.2 Вивчення чутливості перещеплюваних культур клітин легень ембріону корови та коронарних судин теляти до BIV та BFV.	138
3.3.3 Вивчення чутливості перещеплюваних ліній клітин до ізоляту герпесвірусу 1-го типу.....	142
3.3.4 Вивчення чутливості кролів, як гетерологічного виду тварин, до спумавірусу та вірусу лейкозу великої рогатої худоби	145
3.4 Вивчення віруліцидних властивостей окремих хімічних речовин на віруси інфекційного ринотрахеїту та вірусної діареї великої рогатої худоби	152
3.4.1 Вивчення протівірусної дії препарату на основі наночасток церію оксиду на моделі збудника вірусної діареї великої рогатої худоби	153
3.4.2.Оцінка віруліцидної дії дезінфікуючого засобу щодо збудників інфекційного ринотрахеїту та вірусної діареї великої рогатої худоби	160
РОЗДІЛ 4 АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ	171
ВИСНОВКИ.....	186
ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ	190
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	191
ДОДАТКИ.....	251

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ

- ВД — вірусна діарея
- ВЛ — вірус лейкозу
- ВРХ — велика рогата худоба
- ГДК — гранично допустима концентрація
- ДНДІЛДВСЕ — Державний науково-дослідний інститут лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи
- ЕДТА — етилендіамінтетраоцтова кислота
- ІРТ — інфекційний ринотрахеїт великої рогатої худоби
- ІФА — імуноферментний аналіз
- КСТ — перещеплювана лінія клітин ендотелію коронарних судин теляти
- ЛЕК — перещеплювана лінія клітин легенів ембріону корови
- НВ-2 — перещеплювана лінія епітеліальних клітин нирки вівці
- ННЦ «ІЕКВМ» — Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини»
- НТ — перещеплювана лінія епітеліальних клітин нирки теляти
- ПАР — поверхнево-активні речовини
- ПЕГ-6000 — поліетиленгліколь з молекулярною вагою 6000
- ПЛР — полімеразна ланцюгова реакція
- РІД — реакція імунодифузії в агаровому гелі
- РІФ — реакція імунофлюоресценції
- РНК — рибонуклеїнова кислота
- ТрТ — перещеплювана лінія епітеліальних клітин трахеї теляти
- ТЦД₅₀ — тканинна цитопатична доза — кількість вірусу, що призводить до інфікування 50 % клітин моношару клітинної лінії з проявом цитопатичного ефекту
- ЦПД — цитопатична дія
- ШОЕ — швидкість осідання еритроцитів
- 199 — синтетичне живильне середовище для культур клітин

BFV — *Bovine foamy virus* (спумавірус великої рогатої худоби)

BIV — *Bovine immunodeficiency virus* (вірус імунодефіциту великої рогатої худоби)

BLV — *Bovine leukemia virus* (вірус лейкозу великої рогатої худоби)

BoHV-1 — *Bovine alphaherpesvirus 1* (герпесвірус великої рогатої худоби 1-го типу)

BVDV — *Bovine viral diarrhea virus* (вірус вірусної діареї великої рогатої худоби)

CC₅₀ — Cytotoxic Concentration 50 %, це концентрація речовини, за якої вона призводить до загибелі 50 % клітин в моношарі

DIVA — Differentiating Infected from Vaccinated Animals

DMEM — живильне середовище Dulbecco's Modified Eagle Medium

FLK-50/100 — сублінія перещеплюваної культури клітин FLK-BLV

FLK-71 — сублінія перещеплюваної культури клітин FLK-BLV

FLK-BLV — клітинна лінія з нирок ембріона вівці (Fetal Lamb Kidney), яка хронічно інфікована вірусом лейкозу великої рогатої худоби (*Bovine Leukemia Virus*)

FLK-D12VP — сублінія перещеплюваної культури клітин FLK-BLV

FLK-Pol — сублінія перещеплюваної культури клітин FLK-BLV

IC₅₀ — Inhibitory Concentration 50%, концентрація речовини, яка пригнічує інфекційну активність вірусу на 50 %

MDBK — Madin-Darby Bovine Kidney

RPMI — живильне середовище Roswell Park Memorial Institute

WOAH — World Organisation for Animal Health

ВСТУП

Вірусні захворювання великої рогатої худоби (лейкоз, вірусна діарея, інфекційний ринотрахеїт, імунодефіцит та спумавірусна інфекція) становлять серйозну загрозу для здоров'я поголів'я, продуктивності тваринницьких господарств та завдають значні економічні збитки скотарству. Вищеназвані хвороби об'єднують здатність спричиняти імуносупресивний стан та латентну інфекцію, що ускладнює своєчасну їх діагностику та контроль [1–5]. Наразі, в Україні, крім лейкозу великої рогатої худоби, відсутні обов'язкові моніторингові дослідження щодо означених економічно значущих хвороб, програми щодо їх контролю — не впроваджені. Саме впровадження системного епізоотологічного моніторингу, який дозволяє своєчасно виявляти спалахи, оцінювати поширення збудників інфекцій та визначати етимологічну структуру хвороб, дозволить створювати ефективні системи профілактики, вакцинації або ліквідації економічно значущих захворювань у стадах великої рогатої худоби. Без всебічного вивчення біологічних властивостей збудників, зокрема вірусної етіології, означені задачі стають майже неможливими.

Слід зазначити, що, враховуючи високу генетичну спорідненість ретровірусів тварин та людини, виникають загрози зоонозного чи міжвидового поширення означених збудників, що додає актуальності контролю їх поширення та здатності долати міжвидові бар'єри [6, 7]. У цьому контексті, саме нові знання щодо впливу вірусів на гетерологічні види тварин є запорукою розуміння їх інфекційного процесу та ризиків подальшого емерджентного поширення [8].

Дослідження *in vitro*, зокрема завдяки використанню культур клітин, дозволяють безпечно моделювати вірусний інфекційний процес та обмежити використання лабораторних тварин у відповідності до вимог сучасної біотехнології. Віруси володіють різним тропізмом до клітин та тканин організму, тому модель *in vitro* дозволяє підібрати оптимальні умови для реплікації та дозволяє визначити відмінності між польовими ізолятами та лабораторними штамми, що має критичне значення для вивчення біології мікроорганізмів [9]. До того ж, раціональний підбір і оптимізація складу поживного середовища для

перещеплюваних культур клітин — запорука підвищення виходу вірусної біомаси для ефективної біотехнології ветеринарних вірусних імунобіологічних засобів [10, 11].

Вивчення ефективності нових противірусних препаратів та дезінфікуючих засобів *in vitro* є невід’ємним етапом доклінічних досліджень у ветеринарній та гуманній медицині [12, 13]. Саме швидка та точна оцінка цитотоксичного впливу на клітини та противірусної ефективності препарату на вірус дозволяє зробити ґрунтовний висновок щодо його придатності для подальшого практичного використання [9, 14]. Дослідження, що проводяться на культурах клітин, дозволяють оцінити стійкість вірусів до різних хімічних агентів та встановити оптимальні параметри експозиції, у тому числі на різних видах поверхонь [15]. Саме використання культур клітин відповідає вимогам міжнародних стандартів із біоцидного тестування, зокрема рекомендаціям WOAH та стандартів щодо оцінки ефективності дезінфектантів на вірусах [16, 17].

Таким чином, визначення поширення збудників економічно значущих хвороб великої рогатої худоби та встановлення особливостей їх біологічних властивостей *in vivo* та *in vitro* є актуальними питаннями ветеринарної вірусології, вирішення яких дозволить удосконалити заходи контролю вищезначених хвороб та підвищити рентабельність скотарства в Україні.

Зв’язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційну роботу виконували впродовж 2021–2025 рр. у лабораторії вивчення лейкозу та лабораторії вірусології Національного наукового центру «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини» відповідно до затверджених Національною академією аграрних наук України завдань наукових досліджень: 34.01.03.02 Ф «Дослідження епізоотологічних особливостей та екогеографічних властивостей збудників мінорних вірусних інфекцій великої рогатої худоби» (номер державної реєстрації 0121U108346), 34.01.01.11 П «Дослідження причин рецидивів епізоотії лейкозу великої рогатої худоби та удосконалення системи забезпечення благополуччя поголів’я ВРХ щодо цього захворювання» (номер державної реєстрації 0121U108347), 34.01.01.20 П

«Удосконалення заходів забезпечення благополуччя тваринництва щодо лейкозу великої рогатої худоби» (номер державної реєстрації 0124U000164), 34.01.02.01 Ф «Дослідження впливу екологічних чинників на ензоотичну циркуляцію збудників трансмісивних вірусних хвороб сільськогосподарських тварин на території України та розроблення методології прогнозування їх поширення з використанням ГІС-технологій» (номер державної реєстрації 0121U108355) та 34.01.01.18 П «Моніторинг динаміки епізоотичної ситуації щодо вірусних пневмоентеритів великої рогатої худоби з урахуванням наслідків воєнної агресії рф» (номер державної реєстрації 0124U000622).

Мета і задачі дослідження. Метою роботи було вивчення поширення економічно значущих хвороб великої рогатої худоби вірусної етіології (лейкоз, імунodefіцит, спумавірусна інфекція, інфекційний ринотрахеїт, вірусна діарея) в Україні, встановлення біологічних особливостей збудників *in vitro* та *in vivo* для удосконалення засобів їх контролю.

Для досягнення мети були поставлені наступні задачі:

1. Провести аналіз епізоотичної ситуації щодо лейкозу великої рогатої худоби в скотарських господарствах України та Європи;
2. Встановити поширення спумавірусу та вірусу імунodefіциту як збудників мінорних інфекцій в неблагополучних щодо лейкозу великої рогатої худоби господарствах;
3. Визначити епізоотичну ситуацію щодо інфекційного ринотрахеїту та вірусної діареї великої рогатої худоби в окремих господарствах України;
4. Встановити роль членистоногих у механічному поширенні вірусів лейкозу, інфекційного ринотрахеїту та вірусної діареї великої рогатої худоби;
5. Провести аналіз антигенпродукуючих властивостей різних субліній культури клітин FLK-BLV за використання поживних середовищ різного складу;
6. Вивчити чутливість різних перещеплюваних культур клітин до вірусів інфекційного ринотрахеїту, імунodefіциту та спумавірусної інфекції великої рогатої худоби;

7. Встановити можливість використання кролів як гетерологічного виду тварин для вивчення мінорних інфекцій великої рогатої худоби;

8. Вивчити віруліцидні властивості хімічних речовин на віруси інфекційного ринотрахеїту та вірусної діареї.

Об'єкт дослідження: лейкоз, імунodefіцит, спумавірусна інфекція, інфекційний ринотрахеїт, вірусна діарея великої рогатої худоби.

Предмет дослідження: Епізоотологічні особливості вірусів лейкозу, імунodefіциту, спумавірусної інфекції, інфекційного ринотрахеїту та вірусної діареї великої рогатої худоби, їх біологічні властивості *in vitro* і *in vivo*, роль членистоногих у механічній передачі та ефективність противірусної дії хімічних речовин.

Методи дослідження: епізоотологічний (дослідження епізоотичної ситуації в Європі та в Україні), серологічні (дослідження сироваток крові методом імуноферментного аналізу (ІФА), за допомогою реакції імунодифузії (РІД) та біологічного матеріалу за допомогою реакції імуофлуоресценції (РІФ), вірусологічні (ізоляція та культивування збудників на культурах клітин, лабораторних тваринах), молекулярно-генетичні (ПЛР), біохімічні (клінічний аналіз крові, визначення рівня глобулінів та альбумінів, циркулюючих імунних комплексів, серомукоїдів), ентомологічні (збір та ідентифікація членистоногих), статистичний (обробка результатів досліджень).

Наукова новизна одержаних результатів полягає у тому, що проведено комплексний епізоотологічний моніторинг у скотарських господарствах 9 областей України щодо вірусних хвороб великої рогатої худоби, які супроводжуються розвитком імуносупресивного стану у тварин (лейкоз, імунodefіцит, спумавірусна інфекція, інфекційний ринотрахеїт та вірусна діарея ВРХ), у т. ч. враховуючи військову агресію рф. Уперше отримано дані щодо поширення спумавірусу та вірусу імунodefіциту ВРХ в неблагополучних щодо лейкозу господарствах, у т. ч. за їх асоційованого перебігу. Отримано нові знання щодо ролі членистоногих як механічних переносників герпес-, песті- та ретровірусів в умовах тваринницьких приміщень та прилеглої території. Отримані

знання дозволять удосконалити систему епізоотичного нагляду в Україні за означеними вірусними хворобами великої рогатої худоби. Уперше в Україні було розроблено «Спосіб підвищення виходу вірусу лейкозу та його антигенів за допомогою підбору клітин FLK-BLV (патент України на корисну модель № 156791), який передбачає отримання різних субліній перещеплюваної культури клітин FLK-BLV, а саме FLK-50/100, FLK-SBBL, FLK-71, FLK-Pol та FLK-D12VP шляхом їх розведення до низької клоногенної щільності. Отримано нові знання щодо біологічних властивостей збудників спумавірусу, вірусу імунodefіциту та герпесвірусу 1-го типу на перещеплюваних культурах клітин та доведено чутливість кролів, як гетерологічного виду тварин до ретровірусів ВРХ, що дозволить удосконалити біотехнологію та засоби контролю захворювань. Уперше встановлено чутливість BVDV до дії наночасток церію оксиду, які за концентрації $0,057 \text{ мкг/см}^3$ інгібують прояв вірусіндукованого цитопатичного ефекту вірусу та знижують на $2,09 \lg \text{ ТЦД}_{50}/\text{см}^3$ його інфекційну активність, а також ВоНВ-1 та BVDV, які повністю втрачають інфекційні властивості під дією інноваційного дезінфектанту на основі четвертинних амонієвих сполук, глутарового альдегіду та ізопропілового спирту, за його концентрації не менше 0,1 %.

Практичне значення отриманих результатів полягає в тому, що отримані шляхом розведення до низької клоногенної щільності сублінії перещеплюваної культури клітин FLK-50/100 та FLK-SBBL, які культивовані на поживних середовищах RPMI та DMEM, забезпечують підвищення антигенпродукуючої активності культури FLK-BLV та дозволяють удосконалити технологію виготовлення антигену вірусу лейкозу для реакції імунодифузії в агаровому гелі (патент України на корисну модель № 156791). Отримані дані щодо біологічних властивостей вірусів лейкозу, імунodefіциту та спумавірусної інфекції на перещеплюваних культурах клітин можуть бути використані в біотехнології під час удосконалення засобів діагностики та профілактики захворювань. Наночастки оксиду церію за їх використання в концентрації $0,057 \text{ мкг/см}^3$ інгібують дію вірусу діареї ВРХ, не проявляють цитотоксичної дії для клітин перещеплюваної лінії та можуть бути використані як компонент дезінфекційних розчинів та

протівірусних препаратів під час контролю вірусних захворювань великої рогатої худоби. Дезінфікуючий засіб на основі четвертинних амонієвих сполук (25,0 %), глутарового альдегіду (11,0 %), ізопропілового спирту, неіоногенних ПАВ за концентрацій не менше 0,1 % та експозиції від 20 хв може бути використаний для дезінфекції тваринницьких приміщень у господарствах з утримання великої рогатої худоби. Одержані результати наукових досліджень використовуються для підготовки здобувачів вищої освіти за спеціальністю «Ветеринарна медицина» під час викладання курсів «Епізоотологія та інфекційні хвороби тварин», «Ветеринарна мікробіологія», «Епідеміологія та інфекційні хвороби тварин» та «Ветеринарна вірусологія» у закладах вищої освіти України.

Особистий внесок здобувача. Здобувачем особисто проведено пошук та аналіз літературних джерел за напрямом дисертаційної роботи. Дисертантом проведено підготовку зразків біологічного матеріалу, експериментальні дослідження (епізоотологічні, серологічні, вірусологічні, ентомологічні), аналіз та узагальнення отриманих результатів, статистичний їх аналіз, формулювання висновків та підготовку рукопису дисертації.

Відбір зразків біологічного матеріалу було проведено спільно із завідувачем лабораторії вивчення лейкозу, канд. вет. наук Горбатенко С. К., ідентифікацію зібраних членистоногих проводили спільно із завідувачем лабораторії ветеринарної санітарії, паразитології та вивчення хвороб бджіл, канд. вет. наук Сумаковою Н. В. Дослідження біологічного матеріалу за допомогою полімеразної ланцюгової реакції проведені спільно з фахівцями лабораторії молекулярної діагностики, канд. біол. наук Солодянкіним О. С., канд. вет. наук Рудовою Н. Г., канд. вет. наук Юрко П. С. Визначення біохімічних показників у інфікованих, дослідних та контрольних тварин проводили спільно з канд. біол. наук Коваленко Л. В.

Дисертантка виражає щире подяку доктору біологічних наук, професору, академіку НАН України, директору Інституту мікробіології та вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України Співаку М. Я. за люб'язно наданий для дослідження водний розчин оксиду церію.

Апробація результатів дисертації. Основні результати досліджень, які представлені в дисертаційній роботі, доповідалися й отримали позитивну оцінку на звітних сесіях вченої ради ННЦ «ІЕКВМ» протягом 2021–2025 рр. Основні результати експериментальної частини дисертації були представлені та обговорювалися на конференціях різного рівня, а саме: міжнародній науково-практичній конференції «Біотехнологія та її роль в забезпеченні здоров'я людей та тварин», присвяченій 25-річчю Державного науково-контрольного інституту біотехнології і штамів мікроорганізмів (ДНКІБШМ), м. Київ, 20 грудня 2023 р.; II міжнародній науково-практичній конференції науково-педагогічних працівників та молодих науковців «Актуальні аспекти розвитку ветеринарної медицини в умовах Євроінтеграції», ОДАУ, Одеса, 17–18 жовтня 2024 року; онлайн конференції аспірантів і молодих вчених у сфері Єдиного здоров'я та біотехнології «VetBioConnect», м. Харків, 3–4 червня 2025 року.

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 14 наукових праць, у тому числі 1 стаття у виданні, що включене до наукометричної бази даних Scopus, 8 статей — у наукових фахових виданнях України, 1 опис до патенту України на корисну модель, 3 тез у матеріалах вітчизняних і міжнародних конференцій та 1 стаття в іншому науковому виданні України.

Обсяг та структура роботи. Дисертацію викладено на 267 сторінках друкованого тексту, ілюстровано 26 таблицями та 24 рисунками. Робота складається з розширеної анотації, переліку умовних позначень, вступу, огляду літератури, матеріалів і методів досліджень, результатів власних досліджень, їхнього аналізу й узагальнення, висновків, пропозицій виробництву, списку використаних джерел літератури, який налічує 460 найменувань, і додатків.

РОЗДІЛ 1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1 Характеристика поширених вірусів-збудників економічно значущих хвороб великої рогатої худоби

Ретровіруси великої рогатої худоби. Велика рогата худоба (ВРХ) може інфікуватися ретровірусами трьох різних родів: дельтаретровірусами, лентивірусами та бовіспумавірусами. Вони мають спільний механізм реплікації: використовуючи зворотну транскриптазу, ці віруси інтегрують свою РНК в геном господаря [18]. Окрім того, усі ці віруси можуть спричиняти хронічні інфекції та мати довгий інкубаційний період, що ускладнює діагностику та контроль захворювань [19].

Вірус лейкозу великої рогатої худоби (ВЛ ВРХ) належить до дельтаретровірусів і добре вивчений з точки зору патогенезу та епідеміології. Водночас, як і у випадку з іншими ретровірусними інфекціями у великої рогатої худоби, такими як інфекції, спричинені спумавірусом (*Bovine foamy virus*, BFV) та вірусом імунодефіциту (*Bovine immunodeficiency virus*, BIV), основні шляхи передачі цих збудників залишаються не до кінця з'ясованими. Хоча в теорії вони можуть передаватися через кров (наприклад, за використання нестерильних інструментів для вакцинації чи при пораненнях, кровосисними комахами), точні механізми та фактори, що сприяють розповсюдженню цих вірусів, потребують подальших досліджень. Крім того, наразі існує відносно небагато епідеміологічних досліджень, присвячених BFV та BIV. Тому їх об'єднує не лише їхня вірусна природа, але й недосліджені аспекти епідеміології та патогенезу цих інфекцій у худоби. [20].

Комплекс респіраторних захворювань великої рогатої худоби (пневмоентерити) — це багатофакторне захворювання, пов'язане з широким спектром вірусних та бактеріальних мікроорганізмів, що призводить до високих показників захворюваності та смертності. Захворювання може бути спровоковано інфекцією спричиненою вірусом герпесу великої рогатої худоби 1-го типу (BoHV-1) або вірусом діареї великої рогатої худоби BVDV [21], стресом та

подальшою проліферацією й колонізацією легень коменсальними бактеріями, такими як *Mannheimia haemolytica*, що зрештою спричиняє важке легеневе запалення. За свідченням Oliveira T. та ін. (2021) до розвитку респіраторного комплексу можуть призводити наступні мікроорганізми: альфагерпесвірус великої рогатої худоби 1 (BoHV-1), вірус парагрипу-3 ВРХ (ПГ-3), вірус діареї ВРХ (ВД), респіраторно-синцитіальний ВРХ та *Mycoplasma bovis* [22]. Відмічено, що присутність *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Histophilus somni* та *Mycoplasma bovis* у тканинах легень пов'язана з важкими пневмоніями та смертністю від респіраторних хвороб, незважаючи на те, що ці бактерії зустрічаються у верхніх дихальних шляхах здорових тварин [23].

1.1.1 Характеристика вірусу лейкозу великої рогатої худоби

Вірус лейкозу ВРХ належить до родини Retroviridae, роду *Deltaretrovirus*, і є генетично спорідненим до вірусу Т-клітинного лейкозу людини 1-го та 2-го типів (HTLV-1 та HTLV-2) та мавпячого Т-клітинного лейкозу (STLV) [24].

Геном BLV (*bovine leukemia virus*) — диплоїдна одониткова РНК, типова для ретровірусів; після зворотної транскрипції інтегрується в геном господаря як провірус. Геном містить стандартні структурні й ферментні гени *gag-pro-pol-env* [25]. Структурні білки вірусу включають матрикс (МА, р15), капсид (СА, р24) та нуклеокапсид (NC, р12), а в оболонці — SU (gp51) і TM (gp30) глікопротеїни, які забезпечують прикріплення та злиття з клітиною. Глікопротеїн gp51 бере участь у формуванні синцитію та відповідає за інфекційність вірусу, є незамінним для проникнення вірусу в клітини хазяїна [25]. Крім того, через поверхневу локалізацію глікопротеїну gp51, він також є чудовою мішенню для нейтралізуючих антитіл. Інфекція BLV спричиняє стійку сероконверсію. Антитіла до gp51 і р24 зберігаються протягом усього життя тварини. Проте наявність антитіл не забезпечує елімінацію вірусу і не запобігає прогресуванню інфекції [26]. До того ж, послідовність *env* gp51 часто використовується для філогенетичного аналізу BLV [25, 27].

ВЛ ВРХ — це оболонковий ретровірус, нестійкий у зовнішньому середовищі. Так, у висушених зразках крові або тканин виживає обмежений час. Вірус руйнується під дією ефіру, хлороформу, детергентів. Інактивується стандартними дезінфектантами, а саме 2 %-м розчином формальдегіду, 1 %-м розчином гіпохлориду натрію, 70 %-м етанолом. Багато стандартних засобів на основі хлору, четвертинних амонієвих сполук, формальдегіду вважаються ефективними за належних умов застосування; деякі нові або альтернативні окисні препарати (пероксидні) дали неоднозначні результати — чутливість залежить від концентрації, часу експозиції та присутності органічного матеріалу [28]. Доведена чутливість BLV до ультрафіолетового випромінювання [29]. Натомість, вірус може зберігати інфекційність тривалий час за температури 2–8 °C (умови побутового холодильника) у захищених біологічних матеріалах, таких як кров, молоко, колострум. Тобто вірус відносно нестабільний у зовнішньому середовищі порівняно з некортикальними вірусами, але наявність клітин (лімофоцитів) значно підвищує його стійкість [30]. Ураховуючи те, що BLV інактивується за нагрівання до 60 °C протягом 30 хв, пастеризація молока відіграє ключову роль в знешкодженні збудника в молочних продуктах. Слід зазначити, що заморожування не завжди гарантує негайну втрату інфекційності, але значно її знижує [29].

1.1.2 Характеристика вірусу імунодефіциту великої рогатої худоби

Вірус імунодефіциту ВРХ (*Bovine immunodeficiency virus*, BIV) належить до типових представників роду *Lentivirus* родини *Retroviridae*. Крім того, BIV характеризується однією з найбільш складних геномних організацій серед відомих збудників повільних інфекцій, що зумовлено наявністю декількох регуляторних і допоміжних генів, продукти яких беруть участь у контролі та модуляції експресії вірусних генів [31]. Геном вірусу складається з двох копій одноланцюгової РНК, що містить 8400–8500 нуклеотидів, яка може інтегруватися в клітинну ДНК сприятливих тварин [32, 33]. Основні структурні гени *gag*, *pol*, *env* забезпечують утворення капсиду, ферментів (зворотної транскриптази, інтегрази, протеази) і оболонки з глікопротеїнами [34]. Крім основних, вірус

також має додаткові регуляторні ORF гени: *vif*, *tat*, *rev*; а також два унікальні гени, притаманні лише в BIV — W та Y ORF, які розташовані в центральному регіоні між *pol* та *env* [35]. Відсутність нових повногеномних сиквенсів BIV у GenBank з 2007 р., на відміну від активного оновлення бази даних іншими ретровірусами жуйних, може свідчити про стабільний геном, обмежене вивчення або недостатній моніторинг циркуляції цього вірусу в популяціях [36].

BIV, потрапляючи до організму сприятливої тварини, інфікує переважно моноцити, макрофаги та лімфоцити. Нейропатогенні штами BIV можуть інфікувати макрофаги та мікроглію в центральній нервовій системі, як і інші лентивіруси [37]. Типовий гематологічний профіль BPX, інфікованої BIV, характеризується лімфоцитозом, лімфаденопатією та дисфункцією моноцитів і нейтрофілів. В інфікованої BPX спостерігається ураження шкіри, що не піддається терапії та менінгоенцефаліт [38]. Реплікація вірусу у моноцитах та макрофагах спричиняє порушення функції імунної системи. Як наслідок, порушуються важливі функції моноцитів, такі як вивільнення супероксидного аніона, фагоцитарна активність та хемотаксична реакція у телят, інфікованих BIV [31].

1.1.3 Характеристика спумавірусу великої рогатої худоби

Спумавірус великої рогатої худоби (*Bovine foamy virus*, BFV) є одним із збудників повільних (мінорних) інфекцій BPX. Він належить до підродини Spumaretrovirinae родини Retroviridae та є представником окремого роду *Bovispumavirus* [39]. BFV має сферичну форму, розмір 100–140 нм, а його поверхня вкрита шипоподібними білками (спайками), які відповідають за прикріплення до клітини-господаря. Електронно-прозорий нуклеокапсид містить РНК-геном та ферменти (зворотна транскриптаза, інтегразата та ін.). Збудник спумавірусної інфекції містить три основні структурні гени: *gag*, *pol*, *env*, а також регуляторні гени *bel-1* і *bel-2* (іноді позначаються як *tas*), які контролюють транскрипцію генома [40, 41]. На відміну від інших ретровірусів, експресія генома BFV відбувається не одразу після проникнення у клітину, а із затримкою. До того ж, інфекційні віріони часто формуються у вигляді цитоплазматичних вакуолей

[42]. Останні дослідження показують, що BFV кодує вірусні мікроРНК, які можуть регулювати імунні відповіді господаря [43].

Спумавірус ВРХ вирізняється від інших представників родини *Retroviridae* особливою стратегією реплікації та специфічними молекулярно-біологічними характеристиками. Глікопротеїн оболонки BFV взаємодіє з рецептором або фактором приєднання на поверхні клітин. Для BFV точний механізм цього процесу повністю не визначений. Після прикріплення вірус потрапляє всередину клітини шляхом злиття оболонки вірусу та мембрани клітини за допомогою трансмембранних компонентів оболонки вірусу [44], РНК вірусу трансформується ревертазою у дволанцюгову провірусну ДНК, яка інтегрується у геном клітини-господаря. Особливістю спумавірусів є те, що деяка кількість віріонів може містити вже дволанцюгову ДНК (тобто частково здійснена обробка до того, як вірус покине клітину) [45]. В ядрі клітини відбувається транскрипція провірусу, включаючи структурні та регуляторні гени. Регуляторні білки (*bel-1/tas*, *bel-2* тощо) відіграють значну роль у підсиленні експресії або в керуванні часовими аспектами реплікації [5]. У подальшому формуються вірусні частинки, які можуть бути вивільнені клітиною. Виділення може відбуватися через плазматичну мембрану і через внутрішньоклітинні мембранні структури, такі як ендоплазматичний ретикулум [46]. Слід зазначити, що інші пінисті віруси у різних видів тварин зазвичай пов'язані з виникненням у них імуносупресивного стану [47]. Сероконверсія за інфікування тварин спумавірусом реєструється доволі часто, крім випадків розвитку у них імунної толерантності. Загалом, вплив BFV та взаємодія його на рівні клітин імунної системи господаря є менш вивченими, ніж у деяких інших ретровірусів [20, 48].

1.1.4 Характеристика герпесвірусу великої рогатої худоби 1-го типу

Герпесвірус великої рогатої худоби 1-го типу (BoHV-1) належить до родини *Herpesviridae*, підродини *Alphaherpesvirinae*, роду *Varicellovirus*, виду *Bovine alphaherpesvirus 1*. Вірус інфікує епітелій верхніх дихальних шляхів, слизові оболонки піхви чи крайньої плоті, тканини мигдаликів і кон'юнктиви, а також може уражати CD4⁺ Т-клітини, моноцити та макрофаги [49]. BoHV-1 —

ДНК-геномний вірус, стійкий до впливу природних зовнішніх факторів. Інактивація його залежить від таких чинників, як температура, світло, вологість та рН. Стійкий до низьких температур. За температури 4 °C вірус зберігає стабільність протягом 1 місяця, за 22 °C — 50 діб, причому збудник виявляли в кормах протягом 30 діб. У разі підвищення температури життєздатність різко знижується: за температури 37 °C — 10 діб, а вже за 56 °C — 21 хв. Вірус легко інактивується багатьма органічними розчинниками, такими як хлороформ, ефір, ацетон. Також чутливий до 0,5 %-го розчину NaOH, розчину хлору (1 % за активним хлором). BHV-1 чутливий до 1 %-х фенольних похідних, 1 %-х четвертинних амонійних основ та 5 %-го розчину формальдегіду [50, 51].

На основі генетичних та антигенних характеристик вірусу виділяють три підтипи герпесвірусу BPX: BoHV-1.1 (1), BoHV-1.2a (2a) та BHV-1.2b (2b) [52]. Підтипи BoHV-1.1 і BoHV-1.2 мають відмінні епітопи білка gC, який постає як один із провідників вірулентності та тканинної вибірковості підтипів BHV-1 [53].

До BoHV-1.1 відносяться штами, відповідальні здебільшого за респіраторні ускладнення, що проявляються в формі інфекційного ринотрахеїту BPX (IPT), який характеризується головним чином ексудативним ринотрахеїтом, що вражає слизові оболонки носу, трахеї та бронхів великої рогатої худоби [54]. Другий підтип (BoHV-1.2), зазвичай, призводить до репродуктивних проблем та клінічно проявляється як інфекційний пустульозний баланопостит та інфекційний пустульозний вульвовагініт великої рогатої худоби. Герпесвірус великої рогатої худоби підтипу BoHV-1.2, у свою чергу, поділяється на BoHV-1.2a, що спричиняє аборти, та BoHV-1.2b, що, зазвичай, не вважається абортивним [55–58], статеві органи також відіграють важливу роль в інфекційному процесі. Клінічні ознаки проявляються на 2–3-тю доби і характеризуються підвищенням температури тіла до 42 °C, тьмяністю зору, гіперемією морди (хвороба червоного носа), слизисто-гнійними виділеннями з очей та носа [54]. Системне поширення інфекції може призвести до аборту внаслідок інфекції плода [59, 60]. Смертність серед інфікованих тварин складає близько 3 %. Moeller et al. (2013) повідомили, що у 2 % телят, яких надіслали на розтин, були ураження, що відповідають системній

інфекції BoHV-1 [61]. Ознаки гострої фази у інфікованих тварини, які не мають ускладнень, зазвичай зникають протягом одного місяця [62]. BoHV-1.2a є більш вірулентним, ніж BoHV-1.2b, та, зазвичай, проявляється генітальною та, зрідка, респіраторною формами у тварин. У корів BoHV-1.2a часто спричиняє аборти та тимчасове безпліддя, а у биків — ураження статевих органів у формі баланопоститів, виразок, ерозій, почервоніння статевого члену та препуцію. Слід зазначити, що герпесвірус 1-го типу варіанту 2a характеризується проявом респіраторних симптомів, притаманних BoHV-1.1 [2]. Симптоми за інфікування штамом BoHV-1.2b, характеризуються як генітальними, так і кон'юнктивальними ознаками. Проникнення вірусу в організм тварини зазвичай відбувається статевим шляхом. Симптоми проявляються анорексією, зниженням надоїв молока, двосторонніми виділеннями і запаленням кон'юнктиви, вагінальними виділеннями, набряком вульви через 3–5 діб після контакту з вірусом. У інфікованих тварин реєструють лихоманку, слизисто-гнійні вагінальні виділення, що тривають 5–8 діб, запалення слизової оболонки піхви з численними вогнищевими ділянками виразок. Захворювання може проявлятися легкою генітальною формою (гранулярний вульвіт), що є характерною для рецидиву латентної інфекції. Безпліддя та аборти не характерні, а респіраторні ознаки цієї форми не притаманні [62]. Слід зазначити, що в протипагу останньому твердженню Fulton R.W. et al. (2014) ідентифікували BoHV-1.2b від хворих тварин з респіраторною формою, що, на їхню думку, вказує на те, що він є новим вірусом, який не повністю охарактеризовано [63].

Після гострої клінічної або субклінічної форми інфекції, віріони BoHV-1 потрапляють у периферичну нервову систему, де переходять у латентний стан і присутні в організмі носія довічно, зберігаючись у нейронах трійчастого ганглію та центральній нервовій системі [64, 65]. За наявності стрес-факторів, пов'язаних з перегрупуванням, транспортуванням або іншими технологічними маніпуляціями, під впливом кортикостероїдів, імуносупресивних станів, пологів, коінфекцій або суперінфекцій вірус BoHV-1 може реактивуватися [66, 67]. У свою чергу BoHV-1 часто призводить до порушення імунної відповіді господаря,

кодуючи кілька білків (bICP0, bICP27, gG, UL21, UL49.5 та VP8), які перешкоджають ключовим вродженим противірусним імунним відповідям, у т. ч. за рахунок інфікування лімфоцитів, індуюючи апоптоз, зокрема CD4⁺ Т-клітин. Білок bICP0 є центральним фактором вірулентності BoHV-1, який одночасно активує вірусну реплікацію та пригнічує систему вродженого імунітету, зокрема інтерфероновий шлях, що забезпечує успішне зараження та патогенез у природного хазяїна — ВРХ [68]. Видалення гена UL21 призводить до різкого зниження внутрішньоклітинних і позаклітинних титрів вірусу, а також значного зменшення розміру бляшок, що свідчить про суттєві дефекти у вірусному рості та поширенні [69].

Отже, імуносупресія, спричинена BHV-1, може призвести до розвитку полімікробного захворювання, відомого як комплекс респіраторних захворювань ВРХ [58].

1.1.5 Характеристика вірусу діареї великої рогатої худоби

Вірусна діарея великої рогатої худоби (ВД) — це ензоотичне захворювання ВРХ, спричинене одноланцюговим РНК-геномним вірусом *Bovine viral diarrhea virus* (BVDV) з роду *Pestivirus* родини *Flaviviridae* [70]. BVDV — це оболонковий вірус, геном якого представлений позитивною одноланцюговою РНК. Існують два основних біологічно та генетично відмінні типи, а також численні субгенотипи вірусу [71]. Наразі відомо про два генотипи вірусу, а саме BVDV-1 та BVDV-2, які мають схожу патогенність, однак штами другого генотипу (BVDV-2) зазвичай призводять до більш тяжких спалахів хвороби з високими рівнями захворюваності й смертності [72]. У свою чергу, BVDV-1 ділять щонайменше на 21 субгенотип (1a–1u), тоді як для BVDV-2 описано чотири субгенотипи (2a–2d) [73]. У свою чергу, кожен генотип вірусу може бути представлений двома біотипами, а саме цитопатичним та нецитопатичним [74]. Саме нецитопатичні штами BVDV мають здатність перетинати плацентарний бар'єр та досягати плода [75]. Проте для розвитку персистентної інфекції вірусу ВД (вірусна діарея) необхідно ефективно обходити механізми вродженого імунітету. Одним з механізмів цього є здатність

нецитопатичних BVDV уникати індукції інтерферону [76, 77]. Цитопатичні варіанти BVDV формуються з нецитопатичних штамів лише у персистентно інфікованих тварин [78] у результаті рекомбінацій РНК. Найчастіше цей процес супроводжується появою вставок клітинної (хазяйської) РНК або ж дуплікацією власних вірусних фрагментів у ділянці генома, що відповідає за синтез білка [79]. Слід зазначити, що подальше інфікування ПІ-тварин цитопатичним штамом BVDV призводить до тяжкої, смертельної форми хвороби (Mucosal disease) через імунну толерантність до ВД ВРХ [78]. Цитопатичні штами BVDV не можуть підтримувати тривале ланцюгове поширення інфекції і не здатні спричиняти ПІ [80].

Вірус діареї ВРХ має унікальні білки, які критично впливають на здатність вірусу уникати утворення вродженого імунітету у тварин та забезпечувати персистенцію. Так білок N^{pro} — автопротеаза, пригнічує індукцію інтерферону першого типу у заражених вірусом клітинах, тим самим сприяючи уникненню вродженого імунітету [77], тоді як E^{ms} — пов'язаний з оболонкою білок, зменшує розпізнавання вірусних часточок в організмі та пригнічує індукцію інтерферону в епітеліальних клітинах дихальних шляхів [81]. Завдяки цьому BVDV індукує тимчасову або тривалу імуносупресію, що проявляється зниженням функції комплементу, дисфункцією нейтрофілів, зменшенням числа лімфоцитів та порушенням функції антигенпродукуючих клітин [82, 83]. Це сприяє виникненню суперінфекцій і підсилює клінічні прояви вторинних бактеріальних чи вірусних захворювань.

Ступінь клінічного прояву інфікування BVDV може бути дуже різноманітним, починаючи від найчастіше безсимптомних форм або легких ознак інфекції верхніх дихальних шляхів до гострого важкопротікаючого захворювання з ознаками з боку кишкової, дихальної або репродуктивної систем органів, часто ускладненою іншими збудниками [84, 85]. Клінічні наслідки інфікування вірусом BVDV тільки корів залежать від фази вагітності та типу вірусу, в залежності від чого наслідки можуть проявлятися у вигляді мертвонародження, абортів або вроджених вад розвитку. Якщо корови інфіковані не цитопатогенним BVDV у

першому триместрі вагітності, це призведе, з великою імовірністю, до народження персистентно інфікованих телят [86]. Персистентно інфіковані телята можуть або нормально розвиватися без клінічних ознак захворювання, або мати ознаки уражень слизових оболонок носоглотки та органів травлення, які спричиняють лихоманку, анорексію та діарею і призводять до загибелі протягом кількох днів або тижнів [87]. Інфікування корів вірусом BVDV здатне чинити значний негативний вплив на репродуктивну систему. Вірус порушує імунний захист запліднення, пригнічує вроджений імунний захист ендометрію, що заважає розпізнаванню вагітності маткою [88]. Крім того, вірус здатний негативно впливати на ооцити, ембріон або плід і, відповідно, спричиняти муміфікацію плоду, або призводити до органічних або системних уражень, що, у свою чергу, зумовлюють аборт чи мальформації плоду [87].

1.2 Епізоотологічні особливості вірусів, що спричиняють найбільш поширені економічно значущі хвороби великої рогатої худоби

1.2.1 Вірус ензоотичного лейкозу великої рогатої худоби

Ензоотичний лейкоз ВРХ (EBL) — хронічна вірусна хвороба ВРХ, спричинена вірусом лейкозу ВРХ (ВЛ ВРХ, *Bovine leukemia virus* (BLV)). Інфікування ВЛ ВРХ природнім шляхом відбувається лише у ВРХ, водяних буйволів і капібар [89]. Вівці виявляють високу чутливість до експериментального зараження і, на відміну від великої рогатої худоби, у них пухлини формуються частіше та у більш ранньому віці [90]. Стабільне утворення антитіл до вірусу лейкозу спостерігається після експериментального зараження у кіз, кролів, свиней та, у меншому обсязі, у коней, котів, собак, мурчаків, мишей [89], що може свідчити про можливу роль означених тварин в епізоотичному процесі за лейкозу.

Джерелом збудника інфекції є заражені ВЛ ВРХ тварини на всіх стадіях інфекційного процесу. Основним зі встановлених шляхів передачі BLV є передача вірусу через кров, головну роль в якому відіграє ятрогенний фактор. Поширенню вірусу сприяє багаторазове використання голок, інструментів для татуювання або

біркування, спільних рукавичок під час ректальних обстежень, неправильна обробка кровотеч тощо, що призводить до перехресної передачі інфікованих клітин крові, що містять вірус. Тому навіть невеликі недоліки біобезпеки в господарстві можуть призвести до поступового збільшення рівня серопозитивності в стаді [25, 91]. Саме тому, використання непастеризованого молозива та молока від серопозитивних корів для вигодовування телят — один з шляхів передачі BLV потомству [92]. Тварини з високим вірусним навантаженням є ключовими «супер-джерелами» інфекції — вони значно збільшують ризик передачі вірусу серед тварин у стаді. Якщо такі тварини не відокремлюються або не вибраковуються, це призводить до значного поширення і зростання інфікованості в стаді [93].

Питання ролі кровосисних комах у передачі BLV залишається дискусійним. Перші докази участі кровосисних комах у поширенні BLV були отримані Bech-Nielsen S. et al. (1978), які виділили життєздатні лімфоцити з кишечника сліпнів, що живилися кров'ю інфікованих корів [94]. Подальші дослідження Foil L. D. et al. (1988) експериментально довели можливість механічної передачі BLV через укуси гедзів *Tabanus fuscicostatus*, однак роль інших комах, зокрема мух, залишалася не доведеною. Подібні результати узгоджуються з концепцією, що механічна передача потребує наявності достатньої кількості інфікованих лейкоцитів у ротових частинах комах протягом короткого проміжку часу після кровосмоктання [95]. Дослідження Freitas T. and Romero C. (1991) розширили ці дані, показавши, що стайневі мухи (*Stomoxys calcitrans*), які живилися кров'ю інфікованих тварин, зберігали життєздатні лейкоцити у середній кишці та хоботку. Після інокуляції цих клітин ягнятам і телятам формувалися антитіла до вірусних білків gp51 та p25, що підтверджує здатність мух переносити інфекційний матеріал [96]. Експериментально доведено виявлення провірусної ДНК BLV у рогових мух (*Haematobia irritans*) та можливість експериментальної передачі BLV вірусонегативним телятам. Водночас, як і у попередніх роботах, комах годували *in vitro* кров'ю інфікованих тварин, що ставить під сумнів реальність цього механізму за природних умов [97]. Це потребує визначення

реального епідеміологічного значення ролі кровосисних комах у поширенні BLV серед ВРХ.

ВЛ ВРХ — ретровірус, який інфікує переважно В-лімфоцити ВРХ. Після інтеграції провірус може перебувати у латентній або мінімально реплікативній формі протягом тривалого часу. Проте, за певних умов [98] відбувається проліферація інфікованих В-лімфоцитів та розвиток персистентного лімфоцитозу [99]. Лейкоз ВРХ характеризується тривалим інкубаційним періодом. У більшості випадків інфекція у ВРХ перебігає без клінічних ознак: тварини залишаються вірусоносіями з латентною формою інфекції [100]. У подальшому, після тривалого латентного періоду, який може тривати від 3 до 8 років, приблизно в однієї третини інфікованих тварин формується незлоякісна проліферація В-лімфоцитів, та захворювання переходить у клінічну форму. Такі тварини вважаються гематологічно хворими [101]. Регулярне визначення лейкоформули серед серопозитивних тварин допомагає ідентифікувати гемхворих тварин. Характерна картина крові за лейкозу ВРХ: розвиток лейкоцитозу (загальна кількість лейкоцитів може перевищувати норму в 1,5–3 рази), абсолютний лімфоцитоз (частка лімфоцитів зростає до 60–80 % від загальної кількості лейкоцитів), поява атипових лімфоцитів [89]. У невеликій частки інфікованих корів через декілька років виникають злоякісні лімфоми в різних органах (шлунок, серце, передшлунок, лімфатичні вузли тощо). Симптоматика залежить від локалізації пухлин. Спостерігаються збільшення лімфатичних вузлів; схуднення та зниження продуктивності; ураження серця (можливі порушення ритму, серцева недостатність); ураження травного тракту (стенози шлунка або кишечника, коліки, діарея); ураження матки (безпліддя, аборти); паралічі за компресії спинного мозку [102, 103]. До характерної, за лейкозу, картини крові можуть додаватися зміни еритроцитарних показників (анемія та зниження гематокриту), а також тромбоцитопенічний синдром [104].

Інфікування тварин ВЛ ВРХ призводить до зниження загальної резистентності організму тварин, виникненням підвищеного ризику маститів і зниженням продуктивності та репродуктивних показників маточного поголів'я.

Це може ускладнювати контроль захворювання, спрямовуючи ресурси господарства на лікування інших хвороб, а не на ерадикацію лейкозу [92].

Лейкоз був успішно ліквідований у більшості країн Європи, оскільки у країнах Європейського Союзу успішно діють офіційні програми боротьби з цим захворюванням. Основними принципами цих національних програм є щорічний серологічний моніторинг стада; ізоляція та вибраковка серопозитивних тварин; контроль переміщення тварин, обов'язкова сертифікація стад, вільних від BLV [105]. Водночас сучасні дослідження свідчать про зростання поширеності інфекції в деяких країнах з розвиненою скотарською галуззю, зокрема в Колумбії, Бразилії, Японії, США та Канаді. Це може бути зумовлене відсутністю національних програм систематичного скринінгу й вибраковки серопозитивних тварин, що дозволяє BLV, залишаючись ендемічним, збільшувати серопревалентність з часом. Інтенсифікація скотарства, а саме збільшення розмірів стад, висока частота маніпуляцій, інтенсивний обмін тваринами між фермами підвищують ймовірність передачі збудника [106–110].

Станом на сьогодні ефективні вакцини чи методи лікування проти вірусу лейкозу ВРХ відсутні, що завдає значні економічні збитки у тваринницькій галузі [111].

1.2.2 Вірус імунodefіциту великої рогатої худоби

Основний природний господар BIV — велика рогата худоба (*Bos taurus*) [4], проте у стадах буйволів (*Bubalus bubalis*) виявлено молекулярні маркери інфікування BIV, що вказує на їхню здатність підтримувати тривалу, ймовірно пожиттєву, персистенцію вірусу [32]. У природних умовах за інфікування ВРХ часто спостерігається тривала персистенція вірусу без явних клінічних ознак. Багато інфікованих тварин залишаються безсимптомними носіями протягом тривалого часу. BIV може спричиняти хронічну інфекцію з періодами латентності, під час яких тварини не мають клінічних симптомів. Однак, навіть у відсутності явних ознак хвороби, інфекція може призводити до імунodefіциту та підвищення сприйнятливості тварин до інших патогенів [4, 112].

BIV виявлений у багатьох країнах світу, зокрема присутність вірусу підтверджена в стадах ВРХ Північної та Південної Америки, Азії та інших регіонів [113]. Наприклад, у Канаді в одній з досліджуваних груп серед ВРХ частка серопозитивних тварин була близько 9,6 %, причому за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) в означеному стаді було виявлено 12,6 % вірусоносіїв, що свідчить про більшу діагностичну чутливість останньої [114]. Слід зазначити, що в науковій літературі дуже мало відомостей про вплив BIV на здоров'я тварин, патогенез та шлях передачі вірусу. Достовірно підтверджено, що, оскільки вірус присутній в лейкоцитах, передача може відбуватися з кров'ю, у тому числі ятрогенним шляхом через використання контамінованих інструментів (наприклад, ректальні рукавички, голки, хірургічні інструменти) [115]. Вірус імунodefіциту ВРХ здатен долати транс-плацентарний бар'єр та спричиняти внутрішньоутробне інфікування. За даними Moody C. A. et al. (2002) встановлено, що приблизно у 27 % телят, що народжені від інфікованих корів, спостерігалася присутність провірусу BIV в перші години життя до отримання молозива [116]. Дослідження окремих науковців підтверджують наявність лейкоцитів, інфікованих BIV, у молозиві та молоці корів, серопозитивних щодо цього вірусу. Так, телята, що отримували молозиво від інфікованих корів, через певний проміжок часу після народження реагували позитивно на BIV. Це підтверджує роль молока й молозива, як одного з потенційних шляхів передачі збудника [116, 117]. Наразі немає жодного сучасного наукового доказу щодо передачі BIV через сперму, через зовнішні вектори (комахи, кліщі), аерогенно або через контакт із слизовими оболонками.

Хоча інфекція, спричинена BIV, не завжди супроводжується вираженою клінічною симптоматикою, вона може мати істотний вплив на імунну систему тварин [118]. Зокрема, перебіг хвороби нерідко характеризується розвитком субклінічних імунodefіцитних станів, які знижують ефективність імунної відповіді організму. Це, у свою чергу, підвищує сприйнятливність великої рогатої худоби до вторинних бактеріальних, вірусних та паразитарних інфекцій [119]. Наявність таких імунних порушень негативно впливає на фізіологічний стан

тварин, зокрема зменшується середньодобовий приріст маси тіла, знижується молочна продуктивність та виникають негативні ознаки загальної репродуктивної ефективності стада. У результаті циркуляція BIV в стаді ВРХ набуває економічного значення, оскільки призводить до втрат продуктивності й опосередковано спричиняє зниження рентабельності тваринництва [4, 34, 119].

Крім того, за даними Desport M. et al. (2010) найновіший представник родини *Lentivirus* — вірус хвороби Джембрана (JDV), який виявлено на Балі, генетично та антигенно є ідентичним з BIV, що унеможлиблює їх диференціацію за допомогою імунологічних методів. Означений вірус є ендемічним для аборигенної ВРХ Балі та спричиняє гостре клінічне захворювання у тварин з рівнем смертності біля 15 %. Означений факт дає підстави для припущення щодо можливої емерджентності BIV на нових територіях, що призвело до виникнення нового виду з підвищеною вірулентністю [120].

Щодо асоційованого перебігу захворювання, то до теперішнього часу немає переконливих даних про взаємодію BIV з іншими основними вірусами ВРХ, які б суттєво впливали на перебіг хвороби. Проте, іранські дослідники встановили одночасне інфікування ВРХ BIV та BVDV у 0,5 % обстежених тварин. Ці дані свідчать про можливість ко-інфекції цих вірусів у стадах, що потенційно може посилювати імунодефіцитний стан та підвищувати сприйнятливість тварин до додаткових патогенів [121]. Таким чином, хоча конкретні дослідження щодо взаємодії BIV з іншими основними вірусами великої рогатої худоби є обмеженими, наявні дані свідчать про потенційний вплив BIV на підвищення сприйнятливості тварин до інших збудників через ослаблення імунної системи.

1.2.3 Спумавірус великої рогатої худоби

Спумавірус ВРХ спричиняє персистентну інфекцію у природних хазяїв, становить науковий інтерес у ветеринарній вірусології як модель для вивчення ретровірусної інфекції з огляду її впливу на репродуктивну та імунну системи тварин [39].

Уперше BFV було ізольовано з лімфоцитів ВРХ із захворюванням на лімфосаркому як вірус, що утворює синцитії на культурах клітин [122]. За даними

літератури, BFV персистує у популяціях тварин з варіабельними показниками серопозитивності (до 30–70 %). Збудник виявляється у різних країнах світу, зокрема Європи, Азії, Америки, однак серо-епідеміологічні дані доступні лише з деяких країн через недостатню вивченість хвороби [45, 123–125].

Велика рогата худоба (*Bos taurus*) вважається природним господарем BFV. Вівці, зазвичай, можуть бути експериментально інфіковані спумавірусом BPX, однак зафіксовані випадки вірусвиділення від овець, які, ймовірно, були інфіковані природним шляхом [126]. Основним шляхом передачі BFV є слина, що зумовлює ризик поширення інфекції через спільні пасовища та прямі контакти між тваринами. Це створює умови для міжвидової передачі, зокрема від худоби до диких жуйних. За свідченням Materniak-Kornas et al. (2020) міжвидова передача вірусу від корів до диких жуйних (європейського зубра, оленів, сарн) відбувається на низькому, але стабільному рівні. У більшості випадків це призводить до обмеженої або абортівної реплікації вірусу, що зумовлює різні варіанти імунної відповіді порівняно з інфікованою BPX [127]. Доведено, що поширення спумавірусної інфекції пов'язане з тісним контактом між тваринами, а фактором передачі є слина інфікованих тварин, причому вірус у слині представлений вільними віріонами [128]. Зазвичай, молоді серонегативні тварини в межах стада інфікуються під час контакту з дорослими, що призводить до зростання серопревалентності та погіршення епізоотичної ситуації із захворювання [129].

Результати експериментальних досліджень свідчать, що ДНК BFV у вірусній та провірусній формах виявляється у лімфоцитах крові та молока. При цьому рівень копій ДНК у клітинах молока приблизно у 2,5 разу нижчий, ніж у лімфоцитах периферичної крові [130]. Слід зазначити, що у частини телят, які були експериментально інфіковані BFV, спостерігалася повна імунна толерантність до збудника, що може бути пов'язане з внутрішньоутробною інфекцією [131, 132]. Незважаючи на те, що вірус легко виділяється з тканин репродуктивних органів не доведено зниження фертильності у тварин [133].

Хоча сам по собі BFV не спричиняє клінічного прояву захворювання, збудник може бути кофактором у розвитку патологій через перехресну

трансактивацію з іншими ретровірусами ВРХ, такими як ВІВ та ВЛВ, за рахунок імуносупресивної дії на організм господаря [41, 126].

Хоча ВФВ поки не має такого епізоотичного значення як ВЛВ, існування персистуючої інфекції може мати непрямі ефекти: зниження резистентності до інших інфекцій, можливість коінфекцій, хронічні подразнення імунної системи [134].

1.2.4 Герпесвірус великої рогатої худоби 1-го типу

Герпесвірус великої рогатої худоби 1-го типу — збудник ІРТ, інфекційного вульвовагініту та інфекційного баланопоститу, є одним з найрозповсюдженіших вірусних патогенів великої рогатої худоби, що зустрічається в усьому світі. До вірусу сприйнятлива ВРХ (*Bos taurus*) та домашні буйволи (*Bubalus bubalis*) [135]. Так, за матеріалами різних дослідників доведена присутність збудника в Азії [136, 137], на африканському континенті, де серопревалентність становить 20,9–32,0 % [138] та ендемічність стад ВРХ в Південній Америці [139, 140]. Попри програми контролю в Північній Америці, що включають вакцинацію модифікованою живою (MLV) або інактивованою вакциною рівень серопревалентності дорівнював 12,3 % [63], тоді як за твердженням мексиканських науковців становив 64,4 % [141]. Щодо європейського континенту, то деякі країни Європейського Союзу (ЄС), а саме Австрія, Данія, Чеська Республіка, Німеччина, Норвегія, Фінляндія, Швеція, Швейцарія, окремі регіони Італії, Великої Британії офіційно вважаються вільними від ВоНВ-1. Країна або регіон офіційно отримує статус вільного від хвороби, якщо з 95 %-ю достовірністю 99,9 % поголів'я ВРХ є серонегативним до ВоНВ-1 без застосування вакцинації щонайменше впродовж двох років [142]. Щодо розповсюдження ВоНВ-1 серед ВРХ Польщі, то серопревалентність до вірусу реєструється на рівні 39,5 %, а наявність генетичного матеріалу ВоНВ-1 виявлено у 1 % протестованих тварин [143]. Також високий рівень циркуляції ВоНВ-1 відмічають серед ірландських молочних стад [144]. Такі країни як Франція, Бельгія, Люксембург, окремі регіони Італії впроваджують затверджену ЄС програму контролю ВоНВ-1. Нідерланди, Ірландія, Іспанія мають національні

програми з контролю захворювання. Усі програми ЄС спрямовані на ідентифікацію та ліквідацію латентно інфікованої великої рогатої худоби, з метою звільнення поголів'я від BoHV-1, згідно з Законом про здоров'я тварин (AHL) від 21 квітня 2021 р. [142, 145]. На сьогодні, комерційно доступні вакцини, що використовуються для контролю хвороби, можна розділити на дві основні категорії: традиційні вакцини (інактивовані та живі) та маркерні вакцини [146]. В ЄС дозволено вакцинацію ВРХ лише маркерними вакцинами, що відповідає стратегії DIVA (Differentiating Infected from Vaccinated Animals), яка дозволяє диференціювати інфікованих польовими ізолятами вірусу від вакцинованих тварин. Слід зазначити, що стратегією DIVA, яка спирається на вакцинацію вакцинами з делецією одного з несуттєвих вірусних глікопротеїнів gE, з подальшим контролем серопозитивності поголів'я, диференціацією зразків, видаленням серопозитивних до польових ізолятів тварин, є доцільним інструментом в умовах із низькою інфікованістю BoHV-1. Загальна серопревалентність gE-позитивних тварин до 5 %, дозволяє видалити інфікованих тварин зі стада, їх забій може бути більш економічно доцільною та ефективною стратегією [59, 147]. У разі, якщо циркуляція польових ізолятів вірусу зареєстрована в більшості господарств, доцільним є впровадження стратегії вакцинації. Отже, для покращення епізоотологічної ситуації щодо захворювання необхідно застосовувати відповідну стратегію з урахуванням її економічної доцільності та рівня серопозитивності стада [146].

Основними джерелами вірусу є хворі тварини та тварини-реконвалесценти, що є позитивними носіями збудника BoHV-1. Первинне зараження великої рогатої худоби супроводжується різними клінічними проявами, такими як інфекційний ринотрахеїт, аборти, інфекційний пустульозний вульвовагініт та системна інфекція у новонароджених [2]. Вірусовиділення відбувається з мокротинням при кашлі, назальними ексудатами, виділеннями зі статевих органів, спермою, фетальними рідинами. Означенні матеріали можуть передаватися шляхом непрямого контакту через забруднені поверхні або речі, або шляхом прямого контакту з інфікованими тваринами [146]. За даними Kahrs R. F. (1977),

найпоширенішим шляхом зараження BoHV-1 є безпосередній контакт між інфікованою та неінфікованою тваринами. Інші шляхи горизонтальної передачі включають: передачу під час штучного запліднення зі спермою, що містить вірус, або контакт з інфікованим биком, аерозольну передачу на короткі відстані. Вірус також може передаватися вертикальним шляхом, від матері до теляти [148]. Новонароджені телята від вакцинованих корів, зазвичай, мають імунітет до BoHV-1 за умови випоювання молозива від них [149]. Також важливими шляхами передачі вірусу є людський фактор, зокрема ятрогенний. До того ж, кімнатні мухи (*M. domestica*) є фактором механічної передачі збудника IPT, у разі їх скупчення у тваринницьких приміщеннях [150].

Останнім часом науковці приділяють велику увагу альтернативним резервуарам вірусу в дикій природі, як джерелу збудника для свійських тварин. Так, найвища серопревалентність щодо BoHV-1 спостерігалася серед популяції європейських зубрів в Польщі (50,27 %) [143], у диких жуйних Сербії (20,85 %) [151]. Крім того, BoHV-1 зареєстрований серед популяції оленя європейського (*Cervus elaphus*) [152]. Таким чином, дикі жуйні можуть вважатися природним резервуаром збудника IPT. Доведена роль єгипетських дромедарів як резервуару BoHV-1 для подальшого поширення іншим видам тварин [153]. За твердженням Gür S. et al. (2019) кози є більш чутливими до інфекції BoHV-1, ніж вівці, і відіграють важливу роль як можливий резервуар вірусу при контролі та ліквідації захворювання у ВРХ [154].

Респіраторні захворювання ВРХ щорічно завдають збитків американській скотарській промисловості на понад один мільярд доларів [58]. Негативний вплив BoHV-1 на репродуктивну систему характеризується втратами за рахунок збільшення інтервалів між отеленнями, зниження рівня ефективного запліднення та випадками ранньої ембріональної смертності, які залишаються непоміченими або недіагностованими [155]. Tuncer-Göktuna P. et al. (2016) зазначають, що економічний вплив абортів з причини BoHV-1 серед племінної ВРХ є однією з найбільших проблем у тваринництві [156]. Стада з серопревалентністю BoHV-1 1–49 % мають вищий ризик абортів та знижений індекс осіменіння (кількість

осіменіння за вагітність) у корів [157]. Бики, інфіковані BoHV-1, є джерелом збудника інфекції. Аналіз оцінки якості сперми від биків, інфікованих вірусом, демонстрував збільшення аномалій сперматозоїдів, зниження їхньої рухливості, життєздатності та концентрації [158].

Інфікування корів BoHV-1 негативно впливає на надой молока, що призводить до зменшення рентабельності ферм [159-162]. Непрямі економічні збитки від герпесвірусу 1-го типу складаються з низки протиепізоотичних заходів, що спрямовані на попередження та контроль захворювання. Насамперед це карантинні заходи під час купівлі тварин, переміщені та впроваджені заходів контролю серопревалентності стада та вакцинації.

Широке поширення вірусу серед ВРХ, значні економічні збитки для скотарства, що спричинені втратами від захворювання тварин, у т. ч. на вторинні інфекційні хвороби, а також витратами на впровадження заходів оздоровлення стада та ерадикації BoHV-1 свідчать про необхідність ретельного контролю захворювання, зокрема під час переміщення тварин [163].

1.2.5 Вірусна діарея великої рогатої худоби

BVDV уражує широкий видовий спектр тварин, включаючи ВРХ, овець, кіз, свиней, оленів, верблюдів та інших парнокопитних тварин [164, 165].

Основним джерелом поширення BVDV, як в середині стад, так і на вільних від ВД фермах, є персистентно інфіковані тварини. [166]. Ці тварини були інфіковані внутрішньоутробно в першому триместрі тільності, тому їхня імунна система не розпізнає BVDV як чужорідний агент, та, відповідно, не здатна виробляти специфічні антитіла до антигенів вірусу [167]. Означені тварини весь час виділяють велику кількість вірусу, тому є постійним джерелом зараження інших тварин [168]. Тварини, які не мають поствакцинальних антитіл та раніше не мали контакту з BVDV, є сприйнятливими. Упродовж інкубаційного періоду (від декількох діб до декількох тижнів) тварини є латентно інфікованими та не виділяють вірус у навколишнє середовище. Телята від корів-реконвалісцентів отримують пасивний імунітет з молозивом, який тримається до 6–8 місяців [169, 170]. Оскільки BVDV може передаватися між різними видами тварин, включаючи

свиней, овець, кіз та різних диких тварин [171], вони теж можуть бути джерелом інфекції, а сумісне їх утримання та випасання, а також контакт з дикими тваринами — значним фактором ризику [172].

Chamorro M. F. et al. (2011) виявили наявність генетичного матеріалу BVDV у рогових мух, зібраних із ВРХ, проте не підтвердили ефективну передачу інфекції від персистентно інфікованих до сприйнятливих тварин. Означене дослідження не продемонструвало підтвердження векторної ролі членистоногих у поширенні вірусу серед сприйнятливих тварин [173].

BVDV дуже широко розповсюджений та завдає значної шкоди тваринництву в багатьох країнах світу [174–178]. Економічні збитки, що наносяться скотарству від вірусної діареї ВРХ, складаються із заходів щодо профілактики захворювання та прямих втрат. Заходи з контролю ВД можуть бути впроваджені на національному рівні (Норвегія, Ірландія, Данія, Швейцарія, Франція та Великобританія), на регіональному рівні (Великобританія, Німеччина, Австрія, Сполучені Штати) або на рівні окремих фермерських господарств [167]. Так, за оцінками ірландських учених, збитки в галузі м'ясного тваринництва з причини ВД сягали 32–41 євро на одну голову на рік. У той час, як вигоди від ліквідації BVDV в Ірландії перевищують витрати у 5 разів на молочних фермах та у 14 разів — у м'ясній галузі [179]. За свідченнями Тао J. et al. (2013) поширеність інфекції, спричиненої BVDV, серед свиней значно зросла за останні кілька років, що призвело до збільшення економічних збитків для свинарства [165].

Інфекція, що спричинена вірусом діареї ВРХ, може призводити до вимушених забоїв худоби, абортів, затримок росту. Крім того, у стадах де реєструвалися спалахи інфекції вірусної діареї, спостерігався значний вплив на репродуктивні показники стада, що характеризувались зміною показників середнього інтервалу від отелення до запліднення та середньої кількості ефективних запліднень. Циркуляція збудника серед поголів'я корів призводить до зниження середньодобового надою молока, що є критично важливим для прибутковості молочних ферм [169].

На сьогодні в світі існує багато підходів щодо контролю BVDV та формування стад, вільних від збудника. Основними елементами яких є формування імунітету на рівні стада, видалення персистентно інфікованих тварин, систематичні діагностичні дослідження та проведення регулярних заходів з дезінсекції, дератизації та дезінфекції [70]. З метою формування групового імунітету широко використовується вакцинація за допомогою інактивованих та атенуйованих вакцин. Слід зазначити, що застосування інактивованих вакцин проти BVDV є найбільш безпечним, проте потребує багаторазового введення з причини низької імуногенності препаратів. На противагу, атенуйовані вакцини формують тривалий імунітет, але їх використання для окремих груп тварин обмежене та вони більш небезпечні в епізоотичному розумінні [180]. Застосування інактивованих вакцин не спричиняє утворення неструктурованого білка р80 в організмі тварин на відміну від атенуйованих вакцинних штамів та польових ізолятів BVDV, що широко використовується для виявлення тварин, інфікованих польовим вірусом, у яких виявляють антитіла до білка р80 [70].

Доведено, що значна частка персистентно інфікованих тварин у стаді значно підвищує ризики передачі вірусу здоровим тваринам [85]. Саме тому рання ідентифікація ПІ-телят є основним елементом програм боротьби з хворобою [166]. Багаторічний досвід показує, що найкращу ефективність з викорінення вірусної діареї ВРХ дають систематичні, добре скоординовані програми контролю захворювання на національному або регіональному рівнях. Тоді, як добровільні програми на рівні окремих ферм часто призводять до короткочасного ефекту [181].

1.3 Біологічні властивості вірусів діареї, ринотрахеїту, лейкозу, імунодефіциту та спумавірусу великої рогатої худоби

Вивчення біологічних властивостей вірусів *in vitro* та *in vivo* відіграє ключову роль при розумінні того, як вірус взаємодіє з клітиною господаря — наприклад, які клітини господаря він може інфікувати, як змінюється клітинний цикл, які клітинні сигнальні шляхи задіяні [182]. Саме розуміння біології вірусу в умовах *in vitro* надає підґрунтя для подальших досліджень *in vivo* та розробки

протівірусних стратегій. Саме за допомогою використання культури клітин можна визначити віруліцидні властивості хімічних речовин та їх сполук, визначити дозозалежність, цитотоксичність та механізм дії [4, 183, 184]. Це сприяє отриманню математичних і статистичних моделей вірусної динаміки, які можна екстраполювати до більш складних біологічних систем [185].

1.3.1 Біологічні властивості вірусу лейкозу великої рогатої худоби

ВЛ ВРХ переважно інфікує В-лімфоцити великої рогатої худоби, але має широку здатність інфікувати *in vitro* клітини овець, кіз, собак, кажанів, приматів людини [186, 187]. Вивчення BLV у культурі клітин дозволяє визнавати особливості вірусної реплікації, механізми передачі, вимоги до клітин-хазяїв, роль рецепторів, а також технічні засоби оцінки вірусної активності [188]. У більшості випадків інфікування культур клітин відбувається через співкультивування з BLV-інфікованими донорськими клітинами або через внесення вірусвміщуючих рідин [186]. BLV зазвичай ефективніше передається через контакт клітини з клітиною (cell-to-cell), ніж через вільні вірусні частинки (cell-free), оскільки в останньому випадку потрібні концентровані вірусні супернатанти або специфічні умови внесення вірусу [189].

Найбільш поширеними культурами клітин для культивування ВЛ ВРХ є лінії FLK-BLV (клітини нирки ембріону вівці хронічно інфіковані BLV) та BLV-bat2 (клітин кажана персистентно інфіковані BLV). Ці перещеплювані культури клітин експресують вірусні білки та активно виділяють вірус [190]. Beier D. et al. (2004) було створено нову клітинну лінію, що продукує BLV, під назвою PO714 [191]. З метою підвищення продукції вірусу FLK-BLV культивують у середовищі DMEM без додавання бичачої сироватки [192]. Найвищий рівень продукції BLV досягається на 6–8-му доби пасажування, тому саме в цей період доцільно проводити відбір вірусного матеріалу [190].

Деякі людські клітинні лінії (злоякісні та доброякісні) виявляються сприйнятливими до BLV та залишаються стабільно інфікованими протягом кількох місяців [187]. Перещеплювані лінії культур клітин нирки вівці (NB-2) та нирки теляти (NT) мають більшу чутливість до BLV ніж легені ембріону корови

(ЛЕК) та коронарні судини теляти (КСТ), і відповідно дають вищі титри вірусу [193]. Особливістю ВЛ ВРХ за культивування його в культурі клітин є відсутність характерної цитопатичної дії (ЦПД) збудника або його слабка вираженість. Утворення синцитіїв — один з найзначніших морфологічних проявів вірусу, хоча й характерний не для всіх клітинних ліній [194]. До того ж, не всі культури клітин, які можуть бути інфіковані BLV (тобто у них можна виявити вірус або антигени), здатні продукувати вірус стабільно або у великій кількості [186]. BLV здатний змінювати поведінку епітеліальних клітин молочної залози *in vitro*, знижуючи їхню здатність синтезувати білки, пов'язані з хромосомними структурами [195].

З метою отримання рекомбінантних антигенів ВЛ ВРХ використовуються *E. coli*, *Saccharomyces cerevisiae* [196]. Olivero-Deibe N. et al. (2021) здійснили трансфекцію клітин *Drosophila* S2 експресійними плазмідами, що несуть вірусні частки *Gag* та *Env* BLV, у результаті чого було отримано стабільні клітинні лінії, здатні синтезувати обидва типи вірусних білків. Запропонований підхід розглядається як перспективна основа для створення вакцинних препаратів проти BLV [197].

1.3.2 Біологічні властивості вірусу імунодефіциту великої рогатої худоби

Головною умовою ефективної ізоляції BIV є швидке виділення лімфоцитів зі зразків стабілізованої крові, молока тощо, та подальше їх співкультивування з первиннотрипсинізованими фетальними або перещеплюваними лініями, придатними для BIV [198]. Перещеплювані культури клітин, які здатні підтримувати повний цикл реплікації вірусу імунодефіциту ВРХ — це клітини тимусу собаки (Cf2Th), клітинні лінії котячого походження, а саме СС8 та лінія клітин нирки сирійського хом'ячка (ВНК) [199–201]. BIV у культурах клітин призводить переважно до слабкої, фокусної та відстроченої ЦПД, основним характерним проявом якої є утворення синцитіїв, поряд із зниженням проліферації й іноді апоптозом. Для достовірного підтвердження продуктивної

інфекції необхідне поєднання морфологічного, імунохімічного та молекулярного контролю [200, 202].

1.3.3 Біологічні властивості спумавірусу великої рогатої худоби

Спумавірус ВРХ добре розмножується в первинних культурах клітин м'язів ембріону ВРХ (FBM), та деяких перещеплюваних лініях, наприклад, клітин нирки ВРХ (MDBK), нирки сирійського хом'ячка (ВНК-21) та клітин тимусу собаки (Cf2Th). У культурі клітин ВРХ спричиняє характерний ЦПД — формування пінистих вакуолей у цитоплазмі (звідси назва «*foamy virus*») та злиття клітин у симпласти. За спільного співкультивування лейкоцитів ВРХ з культурами клітин FBM та MDBK вже через 4–5 діб спостерігають ЦПД вірусу у понад 80% клітин моношару. Тоді як внесення культуральної рідини з клітинної лінії, де було зафіксовано ЦПД, не спричиняло цитопатичного ефекту протягом 10 діб спостереження [45, 203, 204].

У лабораторних тварин ВРХ не спричиняє захворювання і зазвичай проявляє обмежену або нестабільну реплікацію. Так, у лабораторних мишей та щурів спумавірусна інфекція, як правило, стабільно не проявляється, оскільки вірус має видові обмеження [205].

Зараження кролів в експериментальних умовах підтвердило, що реплікація ВРХ відбувається обмежено, без прояву клінічних ознак, а вірус виявляють у незначній кількості, що підтверджується низьким рівнем сероконверсії. Таким чином, кролів можна розглядати як допоміжну модель для серологічних імунобіологічних досліджень [126, 206]. Доведено інфікування спумавірусом ВРХ приматів, хоча стабільної персистенції збудника *in vivo* зафіксовано не було. Це дозволяє вважати ВРХ відносно безпечним для людини та приматів [45].

1.3.4 Біологічні властивості герпесвірусу 1-го типу великої рогатої худоби

З метою виділення вірусу може використовуватися різний матеріал, а саме назальні та кон'юнктивальні змиви, сперма, тканини плода. ВоНВ-1 здатний розмножуватися лише в окремих типах клітин, тому що не всі з них мають

потрібний набір білків для його проникнення й подальшої реплікації [49]. Під час культивування BoHV-1 на культурах клітин виявляють характерну ЦПД збудника: округлення, загибель клітин, відшарування моношару від поверхні, утворення синцитіїв та скупчення округлих клітин у вигляді грон винограду. Розмір пошкодження («вікон», «бляшок») моношару клітин, що утворюються під дією BoHV-1 на пряму корелює з вірулентністю збудника [207].

Найпоширенішою перещеплюваною культурою клітин для культивування BoHV-1 вважається MDBK, до якої збудник швидко адаптується та підтримує стабільну інфекційну активність [207–209]. Слід зазначити, що інфікування клітин MDBK BoHV-1 одночасно з пасажем (в суспензію клітин) дає вищі титри вірусу через 24 та 48 год після інфікування для більшості штамів, ніж зараження вже сформованого моношару. [210]. Під час пасажування герпесвірусу 1-го типу у клітинах трахеї телят (TrT) спостерігаються титр вірусу в середньому на 1,0–1,5 lg нижчими, що є підтвердженням більш високої продуктивності реплікації вірусу в клітинах лінії MDBK [211]. Описане інфікування лінії клітин нирок великої рогатої худоби Razi (RBK) [212], клітин нейробластоми людини (SH-SY5Y), миші (Neuro-2A) [213]. Слід зазначити, що Steukers L. et al. (2012) вважають найкращою моделлю для вивчення патогенезу BoHV-1 експлантат слизової оболонки верхніх дихальних шляхів BPX [214].

Ruiz-Saenz J. et. al. (2012) стверджують, що моноклональні антитіла не дозволяють ефективно розрізняти штами BoHV-1, оскільки їхні антигенні структури майже ідентичні у різних ізолятів [207]. Натомість Xu J. et al. (2018) повідомляють про створення рекомбінантного імунотоксину BoScFv-PE38, здатного специфічно розпізнавати клітини, інфіковані BoHV-1, пригнічувати вірусну реплікацію та спричиняти загибель інфікованих клітин, що робить його перспективним кандидатом для розробки нових противірусних терапевтичних засобів [215].

1.3.5 Біологічні властивості вірусу діареї великої рогатої худоби

Вірус діареї BPX вражає широкий спектр тканин в організмі господаря [164]. BVDV реплікується в епітеліальній тканині слизової оболонки рота та

носа), центральній нервовій системі [216], периферичній крові, кістковому мозку та фіксованій лімфоїдній тканині [217]. Крім того, вірус може інфікувати всі основні соматичні клітини репродуктивного тракту, наприклад ооцити [218].

У залежності від наявності ЦПД віруса діареї за культивування його на культурі клітин усі штами BVDV можна розділити на цитопатичний та нецитопатичний біотиби [219]. Однією з найпоширеніших культур клітин для досліджень вірусу *in vitro* є перещеплювані клітини MDBK [220, 221], описане культивування вірусу на первинній культурі адгезивних клітин епітелію носових ходів BPX (BTu) та суспензійній клітинній лінії В-клітин лімфоцитів BPX (BL-3) [72]. Вірус проявляє свій цитопатичний ефект, зокрема на клітинних лініях отриманих від мавп. Так, за культивування цитопатичного штаму BVDV на культуру клітин нирки зеленої мавпи (Vero) вже на 3–5-ту доби спостерігається руйнація мембран клітин, утворення клітин, які мають округлу форму, що свідчить про втрату адгезії та підготовку клітин до апоптозу або некрозу. На місці кліткового лізісу утворюються пустоти (вікна) та знаходяться фрагменти клітин, що свідчить про вірусну активність, яка на 10-ту добу культивування призводить до 100 % ЦПД [222].

Культивування вірусу BVDV на перещеплюваній культурі клітин нирки кроля (RK-13) призводить до появи природно ослаблених (атенуйованих) штамів вірусу, які можна використовувати у розробці та виробництві вакцин [223].

За співкультивування *in vitro* штамів різних генотипів BVDV спостерігається конкурентне виключення, оскільки штами BVDV-2a домінують та подавляють штами BVDV-1a та BVDV-1b, що слід враховувати під час формування вакцинозалежного імунітету [72].

Ураховуючи тропізм BVDV до широкого спектру тканин тваринного походження, збудник є одним з найпоширеніших контамінантів клітинних культур та, відповідно, імунобіологічних препаратів [224, 225].

1.4 Діагностика вірусних хвороб великої рогатої худоби

1.4.1 Діагностика мінорних інфекцій великої рогатої худоби

Для ранньої діагностики ензоотичного лейкозу ВРХ використовуються серологічні, молекулярно-генетичні та гематологічні методи. Найбільш поширеним і стандартизованим на сьогодні методом діагностики лейкозу ВРХ є виявлення специфічних антитіл у сироватці крові чи молоці за допомогою методу імуноферментного аналізу. Метод ІФА, завдяки своїй чутливості та специфічності, рекомендований Всесвітньою організацією з охорони здоров'я тварин (WOAH) для скринінгу поголів'я ВРХ [89]. У попередні роки, з метою широкомасштабного моніторингу хвороби, використовувалася реакція імунодифузії в агаровому гелі (РІД), яка поступається чутливістю методу ІФА, але й досі використовується у багатьох країнах, у тому числі в Україні [226].

Окрім серологічних методів діагностики лейкозу ВРХ велике діагностичне значення при лейкозі набула полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР), за допомогою якої виявляють провірусну ДНК ВЛ ВРХ у зразках біологічного матеріалу (зазвичай у зразках стабілізованої крові). За допомогою ПЛР в реальному часі (РТ-ПЛР) можна проводити діагностику хвороби з кількісним виявленням генетичного матеріалу вірусу, що має велике значення під час проведення епізоотологічних та наукових досліджень [98].

Як додатковий метод діагностики лейкозу використовують імуноблотинг (Western blot) — застосовується як підтверджувальний метод, зазвичай, для наукових досліджень [227].

Гематологічний метод дослідження лейкозу ВРХ залишається важливим інструментом, оскільки він дозволяє виявляти тварин з клінічним проявом хвороби, а саме гематологічно хворих тварин, які є найбільш небезпечними з епізоотологічної точки зору [104].

Для виявлення циркуляції ВІВ в стаді і підтвердження інфікування тварин застосовують серологічні, молекулярно-генетичні та вірусологічні методи досліджень. Серологічна діагностика імунодефіциту ВРХ за допомогою імуноферментного аналізу (ІФА) та РІД спрямована на виявлення специфічних

антитіл до вірусних антигенів (наприклад, до білків *env* або *gag*). Слід зазначити, що означені методи є відносно простими та можуть бути придатними для проведення широкомасштабного скринінгу хвороби. Але слід враховувати біологічну особливість вірусу, який характеризується сероконверсією у доволі віддалені терміни після інфікування, тобто поява антитіл після інфікування ВРХ не завжди корелює з наявністю вірусу чи рівнем вірусного навантаження. Означений факт може призводити до отримання хибнонегативного результату [114].

На відміну від серологічних методів дослідження, ПЛР дозволяє виявляти провірусну ДНК або РНК вірусу у досліджуваному біологічному матеріалі, є високочутливим методом, який дозволяє виявляти латентно інфікованих тварин [228, 229]. Використання молекулярного секвенування дозволяє визначити варіант вірусу, мутації гена *env*, регуляторних ділянок, проводити вивчення еволюції вірусу, створення маркерів [230].

Імуноблотинг використовується з метою підтвердження імунної відповіді, локалізації білків вірусу в тканинах, дослідження експресії вірусних білків [198]. Вірусвиділення з подальшим культивуванням його *in vitro* здебільшого використовується в фундаментальній науці під час вивчення біології збудника. Саме складність, довготривалість, велика вартість та потреба у відповідних клітинних лініях та умовах біобезпеки обмежують використання означеного діагностичного методу в системі рутинної діагностики хвороби [4].

Оскільки спумавірусна інфекція у ВРХ, як і всі мінорні інфекції, протікає без клінічних проявів, діагноз встановлюється лише лабораторними методами. Серологічна діагностика проводиться з використанням реакції імунодифузії в агаровому гелі та методу ІФА. РІД є найбільш дешевим методом виявлення специфічних антитіл до BFV, який, як недолік має недостатню чутливість. Саме тому, метод ІФА є найпоширенішим інструментом для виявлення специфічних антитіл до антигенів вірусу, що дозволяє визначити поширеність хвороби у популяції ВРХ з високою точністю та специфічністю [122, 231]. Реакція нейтралізації застосовується дуже рідко, оскільки BFV спричиняє слабку

продукцію нейтралізуючих антитіл в організмі ВРХ, що, напевно, пов'язано з здатністю поширення вірусних частинок у крові, молоці, слині, а не тільки передачею через контакт клітина до клітини [232]. Вірусвиділення в клітинних лініях (MDBK та ін.) дає характерний цитопатичний ефект у вигляді пінистих клітин та симпластоутворення [203].

Найбільш інформативними антигенами для використання в серологічній діагностиці є білки *Gag* та *Bet*, тоді як *Env* має низьку діагностичну цінність через слабку імунну реактивність. Загалом використання серологічних методів для діагностики спумавірусної інфекції ВРХ на фоні зручності для рутинних досліджень мають обмеження, зокрема пов'язані з низьким рівнем антитіл та можливих перехресних реакцій. Саме тому ПЛР стала основним інструментом у виявленні ВРХ, завдяки її високій чутливості та специфічності. Використання різних модифікацій ПЛР (Nested-PCR, qPCR, multiplex) дає змогу не лише ідентифікувати інфікованих тварин, а й оцінювати вірусне навантаження та відстежувати поширення інфекції [127, 203, 233, 234].

1.4.2 Діагностика вірусів, що спричиняють комплекс респіраторних захворювань великої рогатої худоби

Референтною реакцією для виявлення антитіл до BoHV-1 вважається реакція нейтралізації (РН), що дозволяє не лише ідентифікувати серопозитивних тварин, а й використовувати її для порівняння титрів антитіл. Однак, РН трудомістка та потребує роботи з живим BoHV-1 в умовах лабораторії, на відміну від ІФА, що позбавлений цих недоліків та підходить для скринінгу великої кількості зразків [235–237]. Конкурентний ІФА та непрямий ІФА часто використовуються для аналізу сироватки крові на антитіла до BoHV-1 під час масового моніторингу. Непрямий ІФА використовується найчастіше, оскільки він займає менше часу для отримання результатів, має високу чутливість та більш дешевий у порівнянні з конкурентним ІФА, а також зручний для тестування більшої кількості зразків сироватки на виявлення антитіл до BoHV-1 [238, 239]. Тест системи ІФА, розроблені на основі глікопротеїну gB, дозволяють виявляти загальні антитіла до вірусу ІРТ, незалежно від джерела інфекції [240]. Тоді як з

метою виявлення тварин, інфікованих епізоотичними штамми вірусу, використовують непрямий ІФА, який дозволяє виявляти специфічні антитіла до глікопротеїну Е (gE) ВоНВ-1. Означена тест-система ІФА дозволяє розрізняти інфікованих тварин та імунізованих маркерними вакцинами, розробленими на основі вірусу з видаленням gE, що в свою чергу дозволяє успішно застосовувати стратегію DIVA [55].

З метою виявлення вірусу ІРТ в зразках біологічного матеріалу використовують реакцію імунофлуоресценції (РІФ), яка дозволяє швидко виявляти антигени в зразках клінічного та патологічного матеріалу. Проте останнім часом все більшого поширення набуває ПЛР діагностика ІРТ, яка є більш чутливою порівняно з РІФ [241]. Використання ПЛР аналізу в реальному часі з метою детекції збудника інфекційного ринотрахеїту є одним з найбільш точних та чутливих методів діагностики. Виявлення ВоНВ-1 у клінічних зразках відбувається з чутливістю $\geq 99\%$ та специфічністю $87,19\%$ [242, 243]. Для ізоляції ВоНВ-1 зазвичай використовують перещеплювані культури клітин та курячі ембріони, до яких вірус добре адаптується [244].

Таким чином, лабораторна діагностика ВоНВ-1 ґрунтується на комплексному підході. Для індикації збудника найбільш інформативними є ПЛР та вірусвиділення. Для епізоотологічного моніторингу та оцінки ефективності вакцинації використовують серологічні методи, зокрема стратегічно важливий при заходах контролю захворювання ІФА, з диференціацією за gE, який дозволяє реалізувати принцип DIVA-діагностики. Комбіноване застосування різних методик забезпечує високу чутливість, специфічність і дозволяє реалізувати програми контролю та ерадикації ІРТ у ВРХ.

Через складний патогенез та здатність спричиняти персистентну інфекцію лабораторна діагностика ВВДВ є важливим компонентом, необхідним для розробки та впровадження заходів контролю та профілактики хвороби [245].

Відповідно, впроваджені програми контролю ВВДВ за особливостями діагностичних заходів спрямовані або на моніторинг поширення вірусу та оцінку ефективності протиепізоотичних заходів, або на виявлення персистентно-

інфікованих тварин. Головною умовою виявлення персистентно-інфікованих тварин є дослідження клінічного матеріалу від усіх новонароджених телят протягом перших днів їх життя. При впровадженні заходів контролю захворювання тварин на вірусну діарею важливе значення мають засоби діагностики, які б дозволяли диференціювати тварин, інфікованих епізоотичним штамом BVDV від вакцинованої рогатої худоби [84].

Кров є найпоширенішим матеріалом для виявлення BVDV у тварин, але також можна використовувати інші зразки, такі як мазки з ротової порожнини, біопсія шкіри (взята з вуха при міченні тварин — вушної виїмки), молоко [246]. Найбільш поширеними методами виявлення інфікованих тварин, що використовуються в більшості програм контролю вірусної діареї є ІФА та ПЛР у реальному часі. Слід зазначити, що останній вимагає ретельного підбору праймерів через тісний генетичний зв'язок і перехресну реактивність BVDV з вірусом прикордонної хвороби овець (BDV) та, відповідно, ризику отримання хибних результатів [166].

Як альтернативний молекулярно-генетичний метод діагностики BVDV запропоновано рекомбіназну полімеразну ампліфікацію (RPA) — це новий, швидкий, чутливий, вискоелективний метод ампліфікації нуклеїнових кислот, який можливо використовувати в польових дослідженнях, в ізотермічних умовах. Означений метод характеризується відсутністю перехресної реактивності з іншими поширеними вірусами ВРХ. Для одночасного виявлення BVDV та BoHV-1 було розроблено подвійний RPA-аналіз [247].

Як і у випадку з BoHV-1, реакція нейтралізації вважається «золотим стандартом» серологічної діагностики BVDV, за допомогою якої можна чітко диференціювати антитіла до вірусу, незважаючи на перехресну реактивність. Попри недоліком методу, а саме трудомісткість, довготривалість та потребу у відповідних рівнях біозахисту, означений метод дозволяє визначити ефективність заходів контролю, зокрема за допомогою вакцинації [248]. Натомість, використання імуногістохімічного аналізу на біопсійних зразках шкіри ВРХ

(вушних виїмок), як легкодоступному для відбору біологічному матеріалі, є надійним та зручним методом масового тестування телят у ранньому віці [249].

1.5 Роль наночасток в біології

Наночастинки металів привертають значну увагу завдяки своїм особливим оптичним, хімічним, електричним та каталітичним властивостям, які можна корегувати залежно від природи поверхні, розміру, форми тощо. Ці кристали використовуються в різних галузях, таких як каталіз, сенсори, електронні компоненти, антимікробні засоби в галузі охорони здоров'я тощо [250–254]. Наночастинки (від 1 до 100 нм) мають унікальні фізичні та хімічні властивості, що робить їх придатними для застосування в широкому спектрі наукових і технологічних галузей [255]. Ряд наночастинок виявили значну антибактеріальну активність як щодо грамнегативних, так і грампозитивних бактерій, що свідчить про їх можливе потенційне застосування в дезінфекційній практиці [256]. Наночастинки металів стали ефективними інструментами для боротьби з різними резистентними мікробами. Численні дослідження підкреслили їхній потенціал у боротьбі з антибіотикорезистентними грибками та бактеріальними штамами. Розуміння механізмів дії цих наночастинок, включаючи оксид заліза, золото, оксид цинку та срібло, є центральним напрямом досліджень у спільноті наук про життя [257–259].

Наноматеріали використовують для виявлення та відстеження вірусів, а також для застосовування під час розробки протівірусних препаратів. Тобто нанокompозити дозволяють науковцям отримати фундаментальні знання щодо біології вірусів та сприяють зменшенню негативного впливу вірусної інфекції, зокрема на організм тварин [260].

Однією зі знакових подій в медицині стало використання ліпідних наночастинок для доставки мРНК-вакцин проти SARS-CoV-2, які з того часу довели свою високу ефективність проти важкого перебігу COVID-19 і відіграли величезну роль у пандемії з моменту її поширення в усьому світі [261].

Наночастинки є різноманітною групою матеріалів, що відрізняються за хімічною природою, структурою та функціональністю. Їхня здатність взаємодіяти

з вірусами зумовлює широкий спектр потенційних протівірусних застосувань [262]. Синтетичні наночастки виготовляють із біосумісних полімерів (наприклад, PLGA, поліетиленімін, поліетиленглікольні кон'югати) або природних полімерів (хітозан, альгінат) та найчастіше використовують для контрольованого вивільнення протівірусних препаратів та антигенів вакцин. Наночастинки на основі хітозану проявляють протівірусну дію завдяки катіонному заряду, що взаємодіє із негативно зарядженими поверхнями вірусів, інгібуючи прикріплення до клітин [263]. У той час, як наночастинки на основі поліетиленгліколю забезпечують пролонговане вивільнення антигенів і використовуються у ветеринарних вакцинах як носії для транспортування антипротівірусних препаратів, вакцинних антигенів або нуклеїнових препаратів (мРНК), зокрема проти ВоНВ-1 [264]. Загалом, у напряму вакцинології полімерні наноматеріали здатні одночасно активувати гуморальну та клітинну ланки імунної відповіді, що зумовлено їхніми ад'ювантними властивостями та підвищеною ефективністю презентації антигенів імунній системі [265]. Наночастинки на основі ліпідів включають ліпосоми, твердоліпідні наночастки та сучасні ліпідні наночастки (LNPs). Конструкція ліпідних наночастинок дозволяє широко застосовувати їх для доставки нуклеїнових кислот, що підтвердив клінічний успіх мРНК-вакцин проти SARS-CoV-2, виготовлених з використанням саме цього класу наночастинок. Проте для повторення у ветеринарній сфері цієї технології перепонами є висока вартість, холодний ланцюг та адаптація рецептур під особливості сільськогосподарських тварин [266]. Катіонні наноструктури на основі четвертинних амонієвих сполук (ЧАС) мають виражену мембранотропну дію, руйнують ліпідні оболонки вірусів. Вони проявляють широкий спектр активності проти оболонкових вірусів [267, 268]. Вірусоподібні частки і рекомбінантні білкові наночастки імітують морфологію імуногенних вірусів без реплікативного матеріалу. Вони активно вивчаються, як платформи для розробки вакцин проти вірусів тварин, включаючи BLV і ВоНВ-1 [269]. Графен-оксид, фулеренові похідні та нанотрубки, які відносять до вуглецевих наноматеріалів, можуть взаємодіяти з вірусними білками, та перешкоджати їх взаємодії з клітинними

рецепторами. Так, деякі модифіковані фулерени пригнічують активність зворотної транскриптази у ретровірусів [270]. Слід зазначити, що біосумісність і безпека таких матеріалів потребують ретельної оцінки, а практичні застосування у ветеринарній медицині поки що обмежені [271].

Наночастки на основі металів, насамперед Ag, Au, Mn, Fe, Co, Cu та Zn та їх оксиди (ZnO, TiO₂, CeO₂ тощо) — одна з найбільш вивчених груп наноматеріалів із доведеними антивірусними ефектами *in vitro* [272–275]. Ефективність цих наночастинок визначається їх розміром та концентрацією. Крім того, атомна маса на поверхневому шарі частинки стимулює характеристики таких ресурсів. Оскільки розмір частинок зменшується пропорційно до загальної кількості атомів матеріалу, частка атомів на поверхні частинки зростає, посилюючи їх протимікробну дію [276, 277]. Загалом, механізми їхньої дії багатокомпонентні: пряме зв'язування з вірусними поверхневими білками з блокуванням адгезії, порушення цілісності оболонки оболонкових вірусів, локальне генерування реактивних форм кисню і окислювальний пошкоджувальний вплив на білки й нуклеїнові кислоти [278]. Відомо, що наночастинки на основі металів мають неспецифічні механізми бактеріальної токсичності (вони не зв'язуються зі специфічним рецептором у бактеріальній клітині), що не тільки ускладнює розвиток резистентності у бактерій, але й розширює спектр антибактеріальної активності. Як результат, переважна більшість досліджень ефективності наночастинок на основі металів, проведених досі, показали багатообіцяючі результати [279–281].

Слід зазначити, що використання наночастинок у поєднанні з ультразвуком є перспективним для дезінфекції води [282]. Деякі, дослідники рекомендують додавати наночастинки Zn та Ag, що покращує ефективність дезінфекції води [283, 284]. Повідомляється, що гібридна система подвійного УФ-опромінення та наночастинок ZnO, ZnTiO₃, MgO та CuO проявляє посилену антимікробну активність щодо *E. coli* порівняно з УФ-опроміненням або наночастинками окремо [285]. Наночастинки срібла вважаються найефективнішими протимікробними агентами серед наноматеріалів на даний момент і, як

повідомлялося, інактивують віруси, грибки та найпростіші [286–288]. Застосування наночасток на основі срібла ґрунтується на здібностях безпосередньо зв'язуватися з вірусними глікопротеїнами, та блокувати прикріплення та проникнення вірусу в клітини. Доведено їхню віруліцидну ефективність проти РНК- і ДНК-вірусів [289–291]. Результати показують, що монодисперсні AgNPs є гарними інструментами для контролю бактеріальних патогенів (*Legionella pneumophila*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* та *Clostridium perfringens*), що передаються через воду, з мінімальним ризиком потрапляння в навколишнє середовище [292]. Різні дослідження показали, що AgNPs викликають оксидативний стрес, дисфункцію білків, порушення мембран та пошкодження ДНК у бактерій, що зрештою призводить до їхньої загибелі. Також було виявлено, що AgNPs змінюють адгезію бактеріальних клітин, запобігаючи утворенню біоплівки [293]. Загалом, наявність антибіоплівкових властивостей доведена у наночастинок оксидів металів (CuO, Fe₃O₄, TiO₂, ZnO, MgO та Al₂O₃) та їх нанокompозитів [294].

Наночастинки оксиду заліза виявилися найефективнішим (99 %) засобом для знищення *E. coli* та *S. aureus* у суспензії [295].

Завдяки низькій цитотоксичності наночастки на основі золота часто застосовуються як носії для вакцин та молекул лікарських засобів [296]. Крім того, наночастинки золота мають антимікробні властивості проти грамнегативних та грампозитивних бактерій [297].

Експериментально доведено, що водні дисперсії нанокристалічного CeO₂ знижують репродукцію вірусу везикулярного стоматиту (VSV), при 24-годинному попередньому контакті з клітинами культур L929 і EPT [298]. Наночастки на основі оксиду церію (CeO₂-NPs) мають унікальні антиоксидантні та імуномодулюючі властивості [299] та на теперішній час є одним з найперспективніших напрямком для впровадження нанобіоматеріалів на основі оксидів металів [300]. Наночастки церію вирізняються здатністю до редокс-циклу Ce³⁺/Ce⁴⁺, що забезпечує як антиоксидантні, так і, залежно від конкретної форми й умов, прооксидантні властивості [301]. Експериментальні дослідження показали,

що певні форми $\text{CeO}_2\text{-NPs}$ зменшують інфекційні титри ряду оболонкових вірусів після короткої експозиції, проте ефект залежить від поверхневого заряду, розміру та покриття частинок [302]. Це робить їх перспективними для дослідження проти оболонкових вірусів, до яких відносять ретровіруси, герпесвіруси та пестівіруси, вірусна персистенція яких тісно пов'язана з імунною дисфункцією [303]. У терапевтичній сфері наночастки на основі оксиду церію привертають особливу увагу завдяки здатності виконувати антиоксидантні функції, що робить їх придатними для застосування у протизапальній терапії та у якості засобів радіопротекції клітин [304]. Завдяки простоті модифікації поверхні, наночастки були створені таким чином, щоб долати гематоенцефалічний бар'єр, що відкриває перспективи їх застосування у терапії нейродегенеративних хвороб [305]. У ряді наукових робіт продемонстровано, що означені наночастинки можуть не лише пригнічувати ріст бактерій, а й чинити дозозалежний цитотоксичний вплив на пухлинні клітини, зокрема HeLa, клітини раку молочної залози MCF-7, що свідчить про їхній потенціал у протипухлинній терапії [306–308]. Слід зазначити, що антибактеріальна ефективність $\text{CeO}_2\text{-NPs}$ підтверджена *in vitro* щодо *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* та *Enterobacter* spp. [309–310].

Загалом, на біологічні властивості розмір, морфологію, ступінь окиснення ($\text{Ce}^{3+}/\text{Ce}^{4+}$) наночасточок суттєво впливає вибір методу синтезу, що є критично важливим для їхнього застосування. Існує кілька основних підходів до синтезу наночастинок оксиду церію (CeNPs), які відрізняються умовами проведення реакції, стабілізуючими агентами та кінцевими властивостями наноматеріалу. Найбільш поширеними є методи осадження з розчину [304], гідротермального та сольвотермального синтезу [311] та синтезу із використанням полімерних або органічних стабілізаторів (наприклад, поліакрилової кислоти, цитратів, поліетиленгліколю) [300]. На сьогодні актуальною є розробка «зелених» методів синтезу, заснованих на використанні рослинних екстрактів або біомолекул, як відновників та стабілізаторів, що знижує токсичність та екологічні ризики наночасток [312].

Слід зазначити, що наноматеріали, розроблені для біомедичних цілей, потребують перевірки на цитотоксичність та загальну біосумісність [313]. На рівень цитотоксичності наноматеріалів можуть впливати різні фактори, зокрема їхній склад, молекулярна структура та розмір, тоді як прояви токсичності пов'язані з активацією механізмів, що призводять до прямого некрозу, індукованого апоптозу або антитіл-опосередкованого імунного кліренсу [314, 315]. Стандартні методи оцінки цитотоксичності ґрунтуються на виявленні таких ознак, як наявність ушкоджених чи загиблих клітин, порушення цілісності клітинної мембрани, утворення специфічних маркерів клітинної загибелі та зміни у клітинному метаболізмі [316, 317]. Так, за свідченням Kim I. S. et al. (2010) CeO_2 спричиняв ушкодження клітинних мембран і пригнічував колонієутворення в довготривалій перспективі, причому вираженість цих ефектів відрізнялася залежно від типу клітин — епітелію легень людини, карциноми A549 та нормальних клітин L-132 *in vitro* [318].

Слід зазначити, що на сьогодні існує занепокоєння щодо розвитку стійкості бактерій до наночастинок та їх шкідливого впливу через накопичення в навколишньому середовищі [319].

1.6 Характеристика та біоцидні властивості сучасних дезінфектантів

Планове та якісне проведення ветеринарно-санітарних заходів на будь яких тваринницьких підприємствах є запорукою сталого епізоотичного благополуччя поголів'я та отримання якісної та безпечної продукції [320–324]. Планування загальногосподарських та ветеринарно-санітарних заходів повинно проводитись з урахування виробничих та екологічних чинників, що суттєво різняться у різних кліматичних зонах. Заходи біобезпеки відіграють ключову роль у мінімізації ризику занесення та поширення інфекційних агентів. У рамках зовнішньої та, особливо, внутрішньої біобезпеки важливу роль відіграють процедури очищення та дезінфекції [325–327]. Якість проведення дезінфекційних заходів у тваринництві напряду залежить від властивостей та характеристик деззасобу, що застосовується. На сьогодні ринок дезінфектантів містить понад шістдесят

засобів, які зареєстровано та активно впроваджено у виробництво. При цьому імпорتنі та вітчизняні засоби складають по 50 % існуючого асортименту [328].

Повідомляється, що мікроорганізми різних видів та штамів проявляють різну резистентність до одного і того ж дезінфікуючого препарату. Чутливість мікробіоми до дії протимікробного засобу залежить від вмісту у ньому активної речовини, а також експозиції [329]. Тривале та безконтрольне застосування протимікробних засобів зумовило формування резистентності до їх дії у багатьох представників мікробного світу [330]. Поява сталої стійкості мікробіоми до хімічних сполук є серйозною загрозою для безпеки життя та здоров'я, а також для раціонального розподілу ресурсів через зниження ефективності дезінфікуючих засобів [331–333]. Резистентність до антимікробних засобів виникає через внутрішні або набуті механізми [334]. Складні взаємодії між мікроорганізмами можуть впливати на утворення багатовидових біоплівки та стійкість до дезінфікуючих засобів, що є актуальною проблемою безпеки та якості харчових продуктів [335].

Експериментальна оцінка бактерицидної дії восьми дезінфікуючих засобів на ізоляти санітарно-показових мікроорганізмів показала, що пероксимоносульфат знищував 19 із 19 ізолюваних штамів за 15 хв, а четвертинні амонієві сполуки знищували лише 3 з 19 штамів [336]. Інші науковці повідомляють, що досліджені польові ізоляти *E. coli* були чутливими до дії формальдегіду, бензалконію хлориду та препаратів на основі надощтової кислоти та перекису водню, що вказує на те, що практичне використання цих дезінфікуючих засобів не призвело до селекції стійких мікроорганізмів [337].

Хімічні дезінфектанти, що застосовуються у тваринництві, відносяться до різних груп, серед яких найбільш поширеними є хлорні, альдегідні, кислотні засоби. Так, у процесі очищення доїльних апаратів найчастіше використовують гіпохлорит натрію (80,0 %) та гідроксид натрію (60,0 %) як їдкі миючі засоби, а також фосфорну кислоту (81,3 %) як кислотний продукт [338]. Спосіб дезінфекції з використанням хлористої кислоти є високоефективним методом, який пропонують застосовувати для передхірургічного втручання [339]. Одними з

найбільш поширених та ефективних деззасобів є сполуки, що вміщують у якості діючої речовини альдегіди, зокрема глутаровий [340]. За кількісним суспензійним тестом відповідно до європейського стандарту EN1656 доведено високу ефективність використанням дезінфекційних засобів CID20 та Virocid (CID Lines, Іпер, Бельгія) [341].

Так, визначено ефективні режими та розроблено способи застосування трьох дезінфікуючих засобів, до складу яких, за різного поєднання, входять четвертинні амонієві сполуки, полігексаметиленгуанідин гідрохлорид, глутаровий альдегід та інші речовини [342]. За дії на організм лабораторних тварин альдегідних дезінфектантів у дозі LD₅₀ документовано гемодинамічний механізм смерті як прояв генералізованої форми гострої недостатності кровообігу [343]. Рекомендовано проводити дезінфекцію вінілполісилоксанових та поліефірних поверхонь спреєм з 0,5 % глутаральдегіду [344]. Еластомерні відбитки рекомендується дезінфікувати 0,5 % розчином гіпохлориту натрію або 2 % глутаральдегідом методом занурення протягом 10 хв [345]. Доведено, що інактивація безоболонкових вірусів за дії глутаральдегіду відбувається за п'ять хвилин при температурі 20 °C [346]. Одновідсотковий розчин глутарового альдегіду знищує парвовірус свиней та вірус псевдосказу свиней за експозиції від 4,5 год [347]. Було виявлено, що використання 10 % формаліну протягом 7 діб або 2,5 % глутаральдегіду в 0,1 М какодилатному буфері протягом 2 діб інактивує вірус східного кінського енцефаліту та його геномну РНК [348]. Петлі BC та DE, які скупчуються на п'ятикратній осі симетрії та є найбільш відкритими на зовнішній поверхні віріонів, є основними реактивними ділянками для глутарового альдегіду [349].

Розроблена композиція яка складається з глутаральдегіду та дидецилдиметиламонію броміду. Механізм його дії полягає у пошкодженні клітинної мембрани мікроорганізму та витоку внутрішньоклітинних компонентів [350]. Поліуретан, просочений глутаральдегідом, зумовлює зменшення кількості *E. coli* на 99,9 % протягом 2 год та аналогічного зменшення кількості *S. aureus* протягом 1 години [351]. Поряд з цим описано новий механізм толерантності у

мікроорганізмів до глутаральдегіду, заснований на активації альдегідредуктази YqhD за допомогою YqhC [352].

Поряд із застосуванням глутарового альдегіду як дезінфектанту, його використовують для консервування біологічного матеріалу з подальшим його використанням у лабораторній діагностиці [353]. Розроблений новий засіб дезінфекції, який є ефективним за низьких температур навколишнього середовища при вмісті діючих речовин (глутаровий альдегід, формальдегід) у концентрації 0,5 % та антифризу у концентрації 20,0 %. Він діє бактерицидно на культури *Campylobacter fetus* ssp. *venerealis* LBV та *Campylobacter fetus* ssp. *fetus* LBF у концентрації 0,5 % за експозиції 30 хв за температури до мінус 20 °C [354]. Альдегідний дезінфікуючий засіб, що вміщує дидецилдиметиламоній хлорид (2,25 %), бензалконій хлорид (8,0 %), глутаровий альдегід (15,0 %), ортофосфорну кислоту, неіоногенні поверхнево-активні речовини, воду, проявляє дезінвазійну активність щодо тест-культури яєць *T. canis* у концентрації 2,0–4,0 % за температури $20 \pm 0,5$ °C та експозиції 3–24 год. Хлорний засіб, що вміщує дихлорантин, диметилгідантоїн (12,4–16,4 %), диспергатор (9,0–12 %), неіоногенні поверхнево-активні речовини, інгібітор корозії, наповнювач, проявляє дезінвазійну активність щодо тест-культури яєць *T. canis* у концентрації 3,0–4,0 % за експозиції 3–24 год [355]. Визначено віруліцидні властивості інноваційного дезінфікуючого препарату (суміш ЧАС — 25,0 %, глутаровий альдегід — 11,0 %, ізопропіловий спирт, неіоногенні ПАВ) щодо вірусів грипу птиці та ньюкаслської хвороби. Встановлено, що препарат знезаражує тест-об'єкти (дерево, метал, кахель, тканина), контаміновані даними збудниками в концентрації 0,1 % за експозиції 30 хв [356]. Доведено, що даний засіб проявляє дезінвазійні властивості щодо тест-культури яєць *Ascaris suum* при застосуванні у концентрації 4,0 % за температури $18-20 \pm 0,5$ °C та експозиції 3 год [357]. Встановлено, що віруліцидні властивості альдегідний препарат ДЗПТ-2 проявляє у концентрації 0,5 % за діючою речовиною (вірус ньюкаслської хвороби) та 1,0 % за діючою речовиною (збудник вірусної діареї великої рогатої худоби) за експозиції дії 30 хв [358].

Українськими дослідниками встановлено, що нанокompозит Ag-Zn-Cu з концентрацією металів 367,2, 287,76 та 4,8 мг/л відповідно, а також нанокompозит Ag-Zn-Cu з концентрацією металів 151,2, 287,76 та 12,0 мг/л проявляють бактерицидні властивості щодо тестових мікроорганізмів [359. 360]. При цьому за результатами визначення гострої токсичності на щурах нанокompозити віднесено до VI класу токсичності (речовини відносно нешкідливі — $LD_{50} > 15000,0$ мг/кг маси тіла), а за ступенем небезпечності до IV класу (малонебезпечні речовини — $LD_{50} > 5000,0$ мг/кг) [361].

Поряд із застосуванням традиційних хімічних засобів дезінфекції встановлено ефективність застосування фізичних чинників з метою знезараження цілої низки патогенів. Визначено оптимальні режими застосування імпульсного УФ-стерилізатора високої потужності під час знезараження дерев'яних, пластикових та металевих поверхонь, що були заражені спорами збудника сибірки у концентрації $1,0 \times 10^8$ спор/см³. Встановлено, що за режиму 15 імпульсів на металевій поверхні спостерігалася редукція спор на lg 4,0 [362]. Ряд науковців вважає, що радіочастотна енергія має потенціал як альтернатива для дезінфекції стічних вод тваринницьких ферм перед переробкою [363].

Для проведення профілактичної та вимушеної дезінфекції при туберкульозі сільськогосподарських тварин ефективним є застосування ортофосфорної та азотної кислоти [364]. Більшість дезінфікуючих засобів рекомендовано застосовувати за відсутності тварин. Проте деякі сполуки на основі ефірних олій у концентрації 0,3 % у дозі 50 см³ на 1 м³ повітря з експозицією 60 хв проявляють високу бактерицидну активність та забезпечують надійну санацію повітря в приміщенні, а також не є токсичним для тварин [365]. Розроблений новий дезінфікуючий засіб «Бондармін» до складу якого увійшли пероксомоносульфат калію — 50 %, сульфанол — 5,0 %, адипінова кислота — 25 %, натрій хлорид — 20 %. Дезінфектант «Бондармін» проявляє бактерицидні властивості у концентрації 1,0 % за експозиції 3 години щодо мікобактерій [366.]. Дезінфікуючий препарат, до складу якого входить перекис водню (8,0–10 %), оцтова кислота (10 %), надоцтова кислота (5,0–7,0 %), стабілізуючі добавки, вода,

забезпечує повне знищення санітарно-показових мікроорганізмів за застосування у концентрації 0,05 % — 60 хв, 0,1 % — 30 хв, 0,15 % — 10 хв [367].

Myronchuk V. O. et al. (2025) повідомляють про теоретично обґрунтовану й практично апробовану схему й технологію застосування засобу, що містить пробіотичні мікроорганізми, для дезінфекції тваринницьких приміщень [368]. Порівнюючи біоцидну дію різних засобів встановлено, що автоклавування є більш ефективним та дієвим способом порівняно із застосуванням глютарового альдегіду та УФ-випромінювання [369].

Таким чином, індивідуальний підхід та планове навчання на фермі є необхідними для покращення рівня біобезпеки. Поряд з цим увага повинна приділятися до наявності резистентних мікроорганізмів, зокрема щодо ризику поширення їх серед людей [370]. Вважається, що ефективність дезінфекції та миття залежить не тільки від вибору дезінфікуючого засобу, а від сукупного впливу всіх змінних самого процесу, особливо від виконавця [371].

1.7 Узагальнення та висновки з огляду літератури

Узагальнюючи наведені дані, можна стверджувати, що ретровіруси великої рогатої худоби поширені у всьому світі. Незважаючи на те, що вірус лейкозу ВРХ добре досліджений і перебуває під державним контролем в Україні, залишається потреба у постійному нагляді та вдосконаленні діагностичних методів для повної ліквідації інфекції. Щодо спумавірусу та вірусу імунodefіциту ВРХ, то, попри їх значне глобальне поширення та високі показники серопозитивності у стадах, ці патогени й досі залишаються недостатньо вивченими. Дані про їх циркуляцію серед поголів'я ВРХ у тваринницьких господарствах України наразі відсутні. Крім того, з огляду на здатність ретровірусів формувати латентні інфекції та чинити імуносупресивний вплив на організм тварин, роль цих збудників у розвитку коінфекцій досі вивчена неповною мірою.

Збудники пневмоентеритів ВРХ, а саме віруси інфекційного ринотрахеїту ВРХ та вірус діареї ВРХ характеризуються глобальним поширенням і зумовлюють значні економічні втрати у тваринництві. Завдяки своїй здатності формувати персистентні інфекції та істотно пригнічувати імунну систему тварин,

ці віруси є ключовими етіологічними чинниками багатокomпонентної патології, відомої як комплекс респіраторних захворювань ВРХ. На жаль, в Україні відсутні систематичні моніторингові дослідження щодо поширення ВоНВ-1 та ВВДВ, а також не розроблена єдина державна програма контролю та профілактики цих інфекцій.

Саме недостатність даних щодо рівня поширення вірусних збудників економічно значущих хвороб ВРХ, участі гетерологічних видів тварин та членистоногих в епізоотичному процесі є важливою перепорою при удосконаленні стратегії контролю інфекційних хвороб в скотарстві України. Визначення рівня сероконверсії до відповідних вірусних антигенів дає можливість встановити факт перенесеної або прихованої інфекції, що дозволить оцінити потенційні економічні збитки та оптимізувати витрати на профілактику та боротьбу з вірусними хворобами.

Дослідження вірусів *in vitro* та *in vivo* дозволяє встановити оптимальні умови їх репродукції, тривалість виживання та фактори, що впливають на інактивацію та особливості передачі. На цьому фоні удосконалення біотехнологічних підходів з отримання високоактивного вірусного матеріалу та отримання препаратів з вираженими віруліцидними властивостями дозволить розробляти заходи контролю та впроваджувати специфічні та неспецифічні профілактичні стратегії.

Використання в цьому контексті наночасток металів та препаратів для дезінфекції набуває нового значення. В науковій літературі багато повідомлень про виражені віруліцидні властивості наночасток Ag, Au, Mn, Fe, Co, Cu та Zn та їх оксидів, а також різних груп хімічних дезінфектантів (хлорні, альдегідні, кислотні тощо), однак даних щодо їх ефективності саме проти збудників економічно значущих інфекцій ВРХ недостатньо.

Виходячи з вищенаведеного, для вивчення поширення економічно значущих хвороб ВРХ вірусної етіології та встановлення біологічних особливостей їх збудників, наші дослідження були спрямовані на:

- проведення аналізу епізоотичної ситуації щодо лейкозу ВРХ в скотарських господарствах України та Європи;
- встановлення поширення спумавірусу та вірусу імунодефіциту, як збудників мінорних інфекцій, в неблагополучних щодо лейкозу великої рогатої худоби господарствах;
- визначення епізоотичної ситуацію щодо інфекційного ринотрахеїту та вірусної діареї ВРХ в окремих господарствах України;
- встановлення ролі членистоногих в механічному поширенні вірусів лейкозу, інфекційного ринотрахеїту та вірусної діареї ВРХ;
- проведення аналізу антигенпродукуючих властивостей різних субліній культури клітин FLK-BLV при використанні поживних середовищ різного складу;
- вивчення чутливості різних перещеплюваних культур клітин до вірусів інфекційного ринотрахеїту, імунодефіциту та спумавірусної інфекції ВРХ;
- встановити можливість використання кролів, як гетерологічного виду тварин, для вивчення мінорних інфекцій ВРХ;
- вивчення віруліцидних властивостей хімічних речовин на віруси інфекційного ринотрахеїту та вірусної діареї ВРХ.

РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Робота виконувалась упродовж 2021–2025 років у лабораторії вивчення лейкозу та лабораторії вірусології ННЦ «ІЕКВМ».

2.1 Епізоотологічний метод

Епізоотична ситуація щодо лейкозу ВРХ, інфекційного ринотрахеїту та вірусної діареї в країнах Європи визначалась за результатами аналізу даних Всесвітньої організації з охорони здоров'я тварин (WOAH) станом на січень 2025 року [372]. Візуалізацію результатів аналізу епізоотичної ситуації щодо означених вірусних хвороб ВРХ в Європі проводили за допомогою онлайн ресурсу MapChart [373]. Аналіз поширення збудника лейкозу ВРХ в Україні та ефективності різних методів діагностики захворювання проводили за допомогою даних, отриманих з Держпродспоживслужби (ДПСС) та Державного науково-дослідного інституту лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи (ДНДЛДВСЕ), за 2019–2024 рр., на підставі чого були визначені показники інтенсивності епізоотичного процесу, а саме серопревалентність та інфікованість тварин ВЛ ВРХ [374, 375]. Аналіз результатів серологічного моніторингу лейкозу ВРХ за допомогою різних методів дослідження (РІД та ІФА) в різних регіонах України проводили шляхом опрацювання відповідних даних за 2019–2024 рр., отриманих з ДНДЛДВСЕ. Співвідношення чисельності великої рогатої худоби в господарствах усіх форм власності та кількості проведених серологічних досліджень на лейкоз визначали за результатами отриманих з ДНДЛДВСЕ та Державної служби статистики України даних [376]. Безпосередньо у 18 тваринницьких господарствах скотарського напрямку 10 областей України, а саме Харківської, Полтавської, Кіровоградської, Сумської, Одеської, Черкаської, Чернігівської, Херсонської, Миколаївської та Запорізької, аналіз епізоотичної ситуації щодо вірусних хвороб ВРХ проводили шляхом безпосередніх виїздів фахівців ННЦ «ІЕКВМ» та проведенням клініко-епізоотологічного обстеження стада. За результатами аналізу планів протиепізоотичних заходів у господарствах визначали кратність проведення

серологічних і гематологічних досліджень на лейкоз, впровадження вакцинопрофілактики, особливо проти вірусних хвороб ВРХ. В умовах господарств визначали результативність діагностичних досліджень на лейкоз та ефективність впроваджених протилейкозних оздоровчих заходів. Також під час клінічних оглядів реєстрували випадки захворювання тварин, особливо до 3-місячного віку, з проявом респіраторного та діарейного синдрому. До того ж, урахували наявність вульвовагінітів у корів і нетелей. За результатами проведених обстежень приймалось рішення про відбір зразків біологічного матеріалу для дослідження їх в умовах лабораторії.

2.2 Відбір проб біологічного матеріалу

Отримання сироватки крові ВРХ для серологічних досліджень. Зразки сироватки крові для дослідження на лейкоз ВРХ відбирали від тварин 16 господарств 8 областей України, а для дослідження на наявність специфічних антитіл до вірусів ІРТ та ВД — 18 господарств 9 областей України. Кров від тварин відбирали з яремної або підхвостової вен за допомогою стерильного шприца чи вакуумної системи для забору крові з дотриманням правил асептики та антисептики за загальноприйнятою методикою [377]. Сироватку крові отримували шляхом відстоювання або центрифугуванням за 1 500 об./хв впродовж 10 хв та досліджували за допомогою серологічних методів. У разі необхідності зразки консервували шляхом заморожування за температури мінус 18 °С та досліджували пізніше.

Отримання біологічного матеріалу від тварин для дослідження вірусологічними, серологічними та молекулярно-генетичними методами. Для визначення циркуляції вірусів ІРТ та ВД у стадах ВРХ 18 господарств 9 областей України від тварин відбирали зразки біологічного матеріалу. Для прижиттєвої діагностики ІРТ та ВД використовували клінічний матеріал від хворих і підозрюваних на захворювання тварин, а саме змиви та зішкріби з кон'юнктиви, вагінальні та носові змиви, виділення з носової порожнини, статевих органів, очей, які відбирали стерильними свабами [378]. З метою проведення вірусологічних і молекулярно-генетичних досліджень останні занурювали в

невелику кількість середовища DMEM (BioWest, Франція), яке містило 100 ОД/см³ пеніциліну та 100 мкг/см³ стрептоміцину [379]. Зразки клінічного матеріалу доставляли для дослідження в охолоджену стані. Для посмертної діагностики захворювання ВРХ на ІРТ та ВД використовували зразки патологічного матеріалу, які доставляли до лабораторії в замороженому стані. Визначення наявності генетичного матеріалу BLV, BIV та BFV проводили в зразках стабілізованої етилендіамінтетрауксусною кислотою крові ВРХ, яку відбирали від корів та нетелей 12 господарств 9 областей України [377].

Збори членистоногих для виявлення генетичного матеріалу збудників вірусних хвороб ВРХ. Збори членистоногих проводили в умовах неблагополучних щодо лейкозу, інфекційного ринотрахеїту та вірусної діареї ВРХ господарствах Ізюмського та Нововодолазького р-ну Харківської, Чорнухинського р-ну Полтавської, Конотопського р-ну Сумської та Сосницького р-ну Чернігівської областей. Неблагополуччя означених господарств було доведено за допомогою серологічних методів (РІД та ІФА — для вірусу лейкозу ВРХ та РІФ — для збудників ІРТ та ВД). Додатково проводили збори членистоногих в умовах природних стацій та прилеглих до помешкання людей територій Дергачівського району (біля смт Прудянка) Харківської області, Чаплинського району (біля смт Асканія-Нова) та Білозірського району (біля с. Олександрівка та с. Станіслав) Херсонської області, Вознесенського району (біля с. Актове) Миколаївської області. Збори кровосисних двокрилих проводили за допомогою світлової пастки CDC 1212 Blacklight trap, яку розміщували у тваринницьких приміщеннях або на території вигульних майданчиків ферм на висоті 1,5–2 м якомога ближче до тварин та активували щонайменше за годину до заходу сонця [380]. Збори великих двокрилих, а саме мух, гедзів та оводів проводили шляхом їх відлову з живителів за допомогою сачка. Усіх зібраних комах фіксували в 70 %-му етанолі, розміщали у маркованих контейнерах, які в подальшому транспортували до лабораторії, де комах ідентифікували та зберігали в умовах низькотемпературної камери (мінус 80 °С) до проведення молекулярно-генетичних досліджень [381]. З метою виявлення та ідентифікації генетичного матеріалу вірусних збудників,

формували пули членистоногих за видовими признаками. Сформовану групу (пул) членистоногих переносили у стерильну фарфорову ступку з піском, додавали 1,0 см³ стерильного буферного сольового розчину (pH 7,4) і ретельно перетирали до утворення гомогенної маси. Гомогенат переносили до пробірки типу Eppendorf та центрифугували протягом 5 хв за швидкості 5 тис. об./хв. Отриманий супернатант зберігали за температури мінус 80 °С до екстракції нуклеїнової кислоти [382].

2.3 Серологічні методи

Виявлення специфічних антитіл до вірусу лейкозу ВРХ в сироватці крові. Дослідження проб сироватки крові ВРХ старше 6-місячного віку проводили з 18 тваринницьких господарств 9 областей України. Упродовж 2021–2025 рр. було досліджено 64 672 зразки сироватки крові від тварин за допомогою реакції імунодифузії (РІД) та імуноферментного методу діагностики (ІФА) за загальноприйнятими методиками [26]. Для постановки РІД використовували «Набір компонентів рідких стабілізованих для серологічної діагностики лейкозу великої рогатої худоби в реакції імунодифузії (РІД)», виробництва ТОВ «НДП «Ветеринарна медицина»» (м. Харків) згідно з листівкою-вкладкою виробника. Облік результатів реакції проводили через 48 год за умов інкубації зразків за температури 22~24 °С. Дослідження сироваток крові ВРХ за допомогою ІФА проводили з використанням тест-системи Ingezim BLV Compac 2.0 (INGENASA, Іспанія), що спрямовані на виявлення специфічних антитіл до вірусу лейкозу ВРХ методом блокувального твердофазного ІФА, тест-системи «ID Screen® BLV Competition» (IDvet, Франція) для виявлення антитіл до gp51 вірусу лейкозу ВРХ методом конкурентного твердофазного ІФА та IDEXX Leukosis Serum Screening (IDEXX, США) для виявлення антитіл до вірусу лейкозу ВРХ методом непрямого ІФА згідно з інструкціями виробника.

Виявлення специфічних антитіл до вірусу інфекційного ринотрахеїту та вірусної діареї ВРХ у сироватці крові.

Серологічні дослідження щодо виявлення специфічних антитіл до вірусів інфекційного ринотрахеїту та вірусної діареї ВРХ проводили шляхом дослідження

265 зразків сироватки крові від тварин 18 тваринницьких господарств 9 областей України, а саме Харківської, Кіровоградської, Сумської, Черкаської, Чернігівської, Запорізької, Одеської, Херсонської та Миколаївської. Виявлення специфічних антитіл до вірусів інфекційного ринотрахеїту [383, 384] проводили за допомогою імуноферментного методу діагностики. Специфічні антитіла до вірусу інфекційного ринотрахеїту в сироватці крові ВРХ виявляли методом непрямого ІФА за допомогою тест-систем IDEXX Trachitest Serum Screening Ab Test (IDEXX, Франція) та ID Screen® IBR Indirect (IDvet, Франція), згідно з інструкціями виробників. Антитіла до вірусу діареї ВРХ виявляли непрямим методом ІФА за допомогою тест-системи IDEXX BVDV Total Ab X3 Test (IDEXX, Франція) згідно з інструкцією виробника.

Виявлення антигенів вірусу ІРТ та ВД за допомогою реакції імунофлюоресценції (РІФ)

З кожного зразка патологічного матеріалу, який надійшов для дослідження (легені, трахея, носові перетинки), відокремлювали невеликий шматочок та робили зріз з поверхні, підсушували за допомогою фільтрувального паперу та робили відбиток на предметне знежирене скло. Аналогічно робили відбитки змивів зі слизових оболонок респіраторного, шлунково-кишкового тракту та статевих органів. Виготовлені мазки-відбитки підсушували за кімнатної температури та фіксували в ацетоні за температури мінус $18,0 \pm 0,2$ °C протягом 30–60 хв.

Зафіксовані мазки-відбитки після підсушування на повітрі впродовж 3–5 хв переносили до вологої камери й фарбували специфічними флуоресцентними імуноглобулінами ІРТ та ВД, виробництва ТОВ «НДП «Ветеринарна медицина» (м. Харків). Після інкубації пофарбованих зразків впродовж 30 хв за температури $37,0 \pm 0,5$ °C скельця промивали дистильованою водою, а в подальшому тричі по 10 хв — у фосфатно-сольовому буферному розчині. Мазки просушували на повітрі й досліджували за допомогою люмінесцентного мікроскопу за збільшенням $\times 40$ та окулярі $\times 10$ в синьо-зеленому спектрі променів за довжиною

хвилі 490–510 нм. Облік реакції проводили за інтенсивністю флуоресцентного світіння клітин.

2.4 Молекулярно-генетичні методи

Молекулярно-генетичні дослідження з індикації генетичного матеріалу збудників вірусу лейкозу, інфекційного ринотрахеїту, вірусної діареї, імунодефіциту ВРХ та спумавірусної інфекції проведені в умовах лабораторії молекулярної діагностики ННЦ «ІЕКВМ» за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). Дослідженню піддавали пули членистоногих, зразки стабілізованої крові, а також клінічний та патологічний матеріал від ВРХ, підозрюваного на захворювання ІРТ та ВД.

Ідентифікація генетичного матеріалу вірусу ІРТ за допомогою ПЛР

Ампліфікацію специфічного фрагмента ДНК вірусу ІРТ ВРХ проводили за допомогою специфічних олігонуклеотидних праймерів і ферменту Таq-полімерази з подальшою візуалізацією результатів ампліфікації шляхом горизонтального гель-електрофорезу [385]. Реакцію ампліфікації для виявлення генетичного матеріалу вірусу ІРТ проводили з використанням набору «Thermo Scientific Maxima Hot Start Green PCR Master Mix (2X)» (Thermo Scientific, Литва) та праймерних систем, що фланкують ділянку глікопротеїну Е-гена довжиною 325 п. н. герпесвірусу 1-го типу (BoHV-1 gE_F GCCAGCATCGACTGGTACTT; BoHV-1 gE_R GCACAAAGACGTAAAGCCCG). Ампліфікацію проводили за наступним термічним профілем: денатурація впродовж 40 циклів по 30 с за температури 95 °С, відпал праймерів впродовж 40 циклів по 30 с за температури 57 °С, елонгація впродовж 40 циклів по 30 с за температури 72 °С та фінальний етап елонгації впродовж 10 хв за температури 72 °С одноразово. Аналіз продуктів ампліфікації проводили у 1,5 %-му агарозному гелі в електрофоретичній камері за напруги 10 В/см протягом 45 хв. Облік результатів проводили з використанням етидіуму броміду з використанням УФ-трансілюмінатора та фотокамери з виведенням зображення на монітор комп'ютера. Зразки, що показували смугу, яка відповідає продукту ампліфікації 325 п. н., вважалися позитивними.

Ідентифікація генетичного матеріалу вірусу ВД за допомогою ПЛР

Для ампліфікації обраного фрагмента кДНК ВД ВРХ використовували набір «Thermo Scientific Maxima Hot Start Green PCR Master Mix (2X)» (Thermo Scientific, Литва) та систему специфічних олігонуклеотидних праймерів 324 (ATGCCC(T/A)TAGTAGGACTA) та 326 (TCAACTCCATGTGCCATGTAC) [386] і ферменту Таq-полімерази з подальшою візуалізацією результатів ампліфікації шляхом горизонтального гелі-електрофорезу [387]. Для проведення випробувань за допомогою ПЛР використовували зразки кДНК, отримані шляхом проведення зворотної транскрипції РНК за допомогою ферменту ревертази, екстрагованої із біологічного матеріалу. Ампліфікацію проводили за наступною програмою: денатурація впродовж 37 циклів по 30 с за температури 95 °С, відпал праймерів — 37 циклів по 30 с за температури 55 °С, елонгація — 37 циклів по 30 с за температури 72 °С та фінальна елонгація впродовж 1 циклу, 10 хв за температури 72 °С.

Аналіз продуктів ампліфікації здійснювали у 1,5 %-му агарозному гелі в електрофоретичній камері протягом 45 хв.

Наявність смужки амплікону на доріжці випробуваного зразка, який відповідав за електрофоретичною рухливістю позитивному контролю з довжиною 288 п. н., свідчила про присутність генетичного матеріалу вірусу діареї ВРХ в досліджуваному зразку.

Ідентифікація генетичного матеріалу вірусу лейкозу великої рогатої худоби

Для дослідження зразків стабілізованої ЕДТА (етилендіамінтетраоцтова кислота) крові ВРХ використовували набір DreamTaq Green PCR Master Mix (ThermoFisher, США) та праймери BLV-env-3/BLV-env-4, специфічні фрагмента гена *env* вірусу лейкозу ВРХ [26, 27]. Екстракцію загальної ДНК проводили за допомогою спін-колонок та реагентів з набору IndiSpin QIAcube HT Pathogen Kit (Німеччина). Зворотну транскрипцію та отримання провірусної ДНК проводили з використанням ревертази MMLV згідно з рекомендаціями виробника. Ампліфікацію проводили за наступним термічним профілем: 2 хв денатурації за 94 °С; 30 циклів по 30 с за 95 °С, 30 с за 58 °С та 60 с за 72 °С; з елонгацією на

завершальному етапі 4 хв за 72 °С. Аналіз продуктів ампліфікації ПЛР-аналізу проводили за допомогою горизонтального гель-електрофорезу у 1,5 %-му агарозному гелі в електрофоретичній камері (напруга 10 В/см) протягом 45–50 хв. Зразки, які показували смугу, що відповідає продукту ампліфікації 444 п. н., вважалися позитивними. Як позитивний контрольний зразок використовували культуру FLK-BLV, що містить вірус лейкозу ВРХ.

Ідентифікація генетичного матеріалу спумавірусу великої рогатої худоби

У роботі використовували дві пари праймерів, а саме Int 1 (TGGACAGGAGAGGAGAGGAA) / Int 2 (GCAGTGCCAGTGAGATGTGT) — зовнішня пара, довжина продукту ампліфікації 430 п. н. та Int 3 (TCCCGCCTAGCTGATAGA) / Int 4 (CAAACCTGAAATGGCTTGGT) — внутрішня пара, довжина амплікону 241 п. н., що фланкують ген *pol* BFV. Версію ПЛР було обрано для виявлення провірусної ДНК BFV відповідно до рекомендацій М. Materniak-Kornas et al. (2017) [231]. ПЛР-реакцію проводили за наступних умов: 94 °С протягом 3 хв та 35 циклів за 94 °С протягом 45 с, 55 °С протягом 45 с та 72 °С протягом 1 хв, із завершальним етапом елонгації за 72 °С протягом 10 хв. Аналіз продуктів ампліфікації ПЛР-аналізу проводили за допомогою горизонтального гель-електрофорезу у 1,5 %-му агарозному гелі в електрофоретичній камері.

Ідентифікація генетичного матеріалу вірусу імунодефіциту великої рогатої худоби

Детекцію провірусної ДНК вірусу імунодефіциту ВРХ здійснювали з використанням праймерів консервативного домену зворотної транскриптази гена BIV *pol* (прямий праймер 5'-GATTTTAGGGGAATTAAATAA-3') та (зворотний праймер 5'-ACCCATCCTTGTGGTAGAACT-3') цільовою мішенню яких був регіон гена *pol* вірусу BIV довжиною 235 п. н. та RT (прямий 5'-ATGCTAATGGATTTTAGGGGA-3' та зворотній, 5'-AACGCCATTTCTTGGGTGTG-3') цільовою мішенню яких був регіон гена *pol* вірусу довжиною 495 п. н. [116]. Ампліфікацію здійснювали з використанням 1 циклу за температури 94 °С протягом 10 хв та 34 циклів за температури 94 °С протягом 30 с, 55 °С протягом 30 с та 72 °С

протягом 2 хв, а потім 1 цикл за температурі 72 °C протягом 5 хв. Візуалізацію результатів ПЛР-аналізу проводили методом горизонтального гель-електрофорезу у 1,5 %-му агарозному гелі. Зразки, що показували смугу, що відповідає продукту ампліфікації 370 п. н., вважалися позитивними. Версію ПЛР було обрано для виявлення провірусної ДНК ВІВ відповідно до рекомендацій авторів.

2.5 Гематологічні та біохімічні методи

З метою визначення клінічної стадії захворювання у інфікованих вірусом лейкозу ВРХ тварин, які утримувались в господарствах Полтавської, Запорізької, Сумської та Харківської областей, проведено гематологічне дослідження стабілізованої крові. Було проведено підрахунок відносного вмісту лейкоцитів у 110 зразках цільної крові від корів, що позитивно реагували на лейкоз за дослідження серологічними методами. За результатами визначення відносної кількості лейкоцитів було проведено виведення лейкоформул у зразках зі збільшеним рівнем лейкоцитів [388].

Гематологічні дослідження стабілізованої ЕДТА крові проводили за допомогою світлового мікроскопу шляхом підрахунку формених елементів лейкоцитарної фракції (лімфоцитів, базофілів, паличко- та сегментоядерних нейтрофілів, атипових та молодих форм означених клітин) та визначення їх співвідношення. Препарати крові фарбували за методом Романовського-Гімза [389]. Визначення швидкості осадження еритроцитів (ШОЕ) та встановлення рівню гемоглобіну проводили за класичною методикою [390]. Визначення рівня загального білка та глобулінів проводили спектрофотометрично за біуретовою реакцією [391], вміст альбумінів і глобулінів досліджували нефелометричним методом з використанням фосфатних буферів [392], циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) середньої молекулярної маси — за методом Гриневича та Алферова. Визначення кількості серомукоїдів проводили методом Веймера та Мошина [393].

2.6 Вірусологічні методи

2.6.1 Культивування перещеплюваних культур клітин

У роботі використовували перещеплювані культури клітин, які зберігались в кріобанку ННЦ «ІЕКВМ» за температури мінус 196 °С.

Вивчення впливу різних рецептур поживних середовищ на активність отриманого лейкозного антигену для реакції імунодифузії (РІД) проводили шляхом напрацювання перещеплюваної культури клітин нирки ембріону вівці хронічно інфікованої вірусом лейкозу ВРХ (FLK-BLV). У роботі використовували 5 субліній означеної культури клітин, а саме FLK-50/100, FLK-71, FLK-SBBL, FLK-Pol та FLK-D12VP. Означені перещеплювані сублінії клітин FLK-BLV використовували після попереднього їх розведення до низької клоногенної щільності на полістиролових планшетах та отримання клонів із підвищеною антигенпродукуючою активністю [394]. Культивування субліній перещеплюваної культури клітин FLK-BLV проводили у скляних культуральних флаконах за температури 37 °С впродовж 3–7 діб з використанням поживних середовищ різного складу з додаванням 10 % сироватки крові ВРХ [395]. Як поживні використовували середовища DMEM з високим вмістом глюкози з L-глутаміном без пірувату натрію (виробництва BioWest, Франція та Sigma-Aldrich, США), середовище 199 з солями Хенкса та L-глутаміном (Sigma-Aldrich, США), RPMI-1640 Medium з L-глутаміном, бікарбонатом натрію (Sigma-Aldrich, США). Як ростостимулюючий компонент для культивування перещеплюваної лінії клітин *in vitro* використовували фетальну сироватку крові великої рогатої худоби, стерилізовану фільтрацією (BioWest, Франція).

Визначення впливу різних рецептур поживних середовищ на антигенпродукуючі властивості перещеплюваної лінії клітин FLK-BLV проводили шляхом виготовлення мікросерій антигену для діагностики лейкозу в РІД. Антигени виготовляли шляхом діалізу вірусвміщуючої рідини (200 см³) кожного зразка через діалізну плівку проти 50 % поліетиленгліколю з молекулярною вагою 6000 (ПЕГ-6000). З цією метою напрацьовану вірусну біомасу розміщували в стерильну діалізну плівку та заливали ПЕГ-6000, з

подальшим розташуванням на 16 год за температури 4–8 °С. У подальшому отриманий концентрат розміщували в фосфатно-буферному сольовому розчині з рН 7,2–7,4 на 2 год для ресуспендування. Отриманий антиген використовували для постановки РІД за методом граничних розведень.

Для оцінки активності отриманих антигенів урахували об'єм культуральної рідини кожної сублінії до концентрації, кратність концентрації, об'єм отриманого антигену та його активність з позитивною контрольною сироваткою крові ВРХ

2.6.2 Співкультивування перещеплюваних культур клітин з біологічним матеріалом, що вміщував BIV та BFV

Задля вивчення адаптаційної здатності культур клітин до інтеграції польових ізолятів збудників BFV та BIV використано дві перещеплювані культури клітин — легені ембріона корови (ЛЕК) та коронарні судини теляти (КСТ), які отримані з кріобанку ННЦ «ІЕКВМ». Культивування перещеплюваних культур клітин проводили за допомогою поживного середовища, що складалось з 90 % середовища DMEM, що містить 4,5 г/л глюкози) та L-глутамін, бікарбонатом натрію (Sigma-Aldrich, США) та 10 % фетальної сироватки крові ВРХ (BioWest, Франція). Також було додано пеніцилін 100 ОД/см³ та стрептоміцин 100 мкг/см³. Вищезгадані культури клітин були адаптовані до культурального посуду впродовж 4 пасажів після тривалого зберігання за температури мінус 196 °С. За досягнення заповнення моношару культури клітин 75 % (24–48 год росту) інфікували їх досліджуваними вірусами (BIV та BFV), а ростове середовище було замінено на суміш суспензії короткостроково культивованих лімфоцитів та підтримуючого середовища в рівних частинах [200]. Пересів культур проводили з інтервалом 4–5 діб.

Короткостроково культивовані культури лімфоцитів, що містили польові ізоляти збудників BFV та BIV, отримували зі стабілізованої ЕДТА крові корів-донорів, де за допомогою молекулярно-генетичних методів дослідження (ПЛР) було виявлено генетичний матеріал вірусів. З цією метою кров відбирали в стерильну ємність з антикоагулянтом та в умовах лабораторії проводили

виділення лімфоцитів на градієнті тріомбасту [396]. Для цього кожену пробу крові розводили до рівного співвідношення фосфатно-буферним сольовим фізіологічним розчином (ФБС), pH 7,2, та додавали пеніцилін 100 ОД/см³. Отриманий зразок об'ємом 8,0 см³ нашаровували на розчин тріомбасту з густиною 1,075, який попередньо вносили в центрифужні градуйовані пробірки по 2,0 см³. У подальшому зразки центрифугували за режиму 1 000 об./хв 40 хв та переносили відшаровані лімфоцити в іншу пробірку. Далі промивали відшаровані лімфоцити забуференим фізіологічним розчином з додаванням антибіотика та центрифугували за режиму 1 000 об./хв впродовж 10 хв та ще один раз використовуючи середовище DMEM за вищезазначеного режиму. Отриманий об'єм суспензії лімфоцитів доводили до 10,0 см³ середовищем DMEM та підраховували кількість живих клітин за допомогою вітального барвника — 0,1 %-го розчину трипанового синього [397]. Отриману суспензію лімфоцитів перевіряли на відсутність контамінації бактеріальною та грибною мікрофлорою згідно з вимогами ДСТУ 4483-2005 [398]. З метою підвищення реплікації вірусу проводили короткострокове культивування отриманих лімфоцитів ($3,5 \times 10^6$ кл/см³) у середовищі, до складу якого входило 90 % середовища DMEM, 10 % фетальної сироватки крові ВРХ з додаванням 100 ОД/см³ пеніциліну.

Після інфікування перещеплюваних культур клітин ЛЕК та КСТ вірусвміщуючим матеріалом BIV та BFV проводили контролювання стану моношару на рівні кожного пасажу за допомогою світлової мікроскопії. Як контроль виступали культуральні флакони з неінфікованими культурами клітин ЛЕК та КСТ. На рівні кожного пасажу зразки перещеплюваної культури клітин піддавали дослідженню молекулярно-генетичним методом (ПЛР) для виявлення генетичного матеріалу збудників BIV та BFV.

2.6.3 Вивчення чутливості перещеплюваних ліній клітин до ізоляту BoHV-1

Для проведення роботи використовували ізолят герпесвірусу першого типу, отриманий із легень теляти з клінічними ознаками бронхопневмонії. Ідентифікацію вірусу ІРТ в патологічному матеріалі проводили за допомогою

реакції імуофлуорисценції та полімеразної ланцюгової реакції. Перещеплювана культура клітин нирки теляти (НТ) була використана для ізоляції вірусу з патологічного матеріалу легень загиблої тварини. Для цього гомогенізували шматочки легень, додавали ФБС утворюючи 10 %-ву суспензію та центрифугували за 3 000 об./хв упродовж 20 хв. Далі в надосадову рідину вносили по 200 ОД/см³ бензилпеніциліну натрієвої солі та 200 мкг/см³ стрептоміцину сульфату та фільтрували через фільтр 0,22 мкм. Після інкубації за 4,0–8,0 °С протягом 4 год отриману суспензію використовували для інфікування культури клітин НТ у пропорції 1:10. Суспензію вносили на 24-годинний сформований моношар (85–95 %) інкубували протягом 60 хв за температури 37,0 ± 0,5 °С. Далі надосадову рідину видаляли й замінювали її підтримуючим поживним середовищем для клітинної культури — DMEM без сироватки крові. Як контроль використовували інтактну культуру клітин НТ. Інкубацію проводили протягом 5–6 діб за температури 37,0 ± 0,5 °С. Контроль цитопатичного ефекту, що чинить ізолят вірусу BoHV-1, здійснювали щоденно за допомогою світлового інвертованого мікроскопу за збільшення × 40 [399]. Підтвердження наявності генетичного матеріалу вірусу IPT проводили за допомогою ПЛР [385].

Дослідження чутливості перещеплюваних культур клітин до виділеного ізоляту вірусу IPT проводили за допомогою клітинних ліній нирки вівці (NB-2), Madin-Darby Bovine Kidney (MDBK), трахеї теляти (TrT) та легень ембріону корови (ЛЕК). Ростове поживне середовище готували шляхом поєднання середовищ DMEM та 199 в рівних пропорціях з додаванням 10 % інактивованої фетальної сироватки крові великої рогатої худоби, пеніциліну 100 ОД/см³ та стрептоміцину 100 мкг/см³. Підтримуюче середовище містило всі вищеназвані компоненти в тих же співвідношеннях за винятком сироватки крові. Чутливість досліджуваних культур клітин до ізоляту BHV-1 визначали фіксуючи прояв цитопатичної дії вірусу на моношар (округлення клітин, утворення їх конгломератів у вигляді «виноградного грона» відшарування їх від поверхні, деструкції моношару) у відсотках (25–50–75–100 %). Оцінку цілісності клітинної мембрани проводили після обробки трипановим синім (0,2 %) (за відсутності

забарвлення клітин) [397]. Визначення інфекційної активності ізоляту BoHV-1 проводили за цитопатичним ефектом. Вірусвміщуючий матеріал, отриманий з інфікованої BoHV-1 культури клітин нирки теляти, вносили на одnodобовий моношар клітинних ліній за множинності інфікування від 0,125 до 0,00125 ТЦД₅₀/клітину з подальшою інкубацією у 96-лункових полістиролових планшетах за 37 °C і 5 % CO₂. Розрахунок титру інфекційної активності вірусу проводили відповідно до методу Ріда та Менча [207, 399].

2.6.4 Визначення чутливості кролів до спумавірусу та вірусу лейкозу великої рогатої худоби

Дослідження проводили на кролях живою вагою 2,0–2,5 кг. З метою визначення чутливості тварин та можливої репродукції вірусів BLV та BFV було сформовано по дві групи тварин, по 5 голів кожна, для дослідження кожного вірусу, а саме дослідна та контрольна.

Тваринам дослідних груп (по 5 голів) вводили підшкірно 1,0 см³ стабілізованої ЕДТА крові великої рогатої худоби, інфікованої збудником лейкозу або спумавірусом ВРХ. Тваринам контрольних груп (по 5 голів) вводили аналогічну кількість фосфатно-буферного фізіологічного розчину.

З метою вивчення впливу інокуляції біологічного матеріалу від інфікованих BLV та BFV тварин-донорів на організм кролів від тварин дослідних та контрольних груп кожні 15 діб відбирали зразки сироватки та стабілізованої крові. Одночасно проводили спостереження за клінічним станом тварин.

Гематологічні дослідження стабілізованої ЕДТА крові проводили за допомогою світлового мікроскопу шляхом підрахунку формених елементів лейкоцитарної фракції (лімфоцитів, базофілів, паличко- та сегментоядерних нейтрофілів, атипичних та молодих форм означених клітин) та визначення їх співвідношення. Препарати крові фарбували за методом Романовського-Гімза [389]. Додатково на кожному етапі визначали швидкість осадження еритроцитів (ШОЕ) та рівень гемоглобіну [390].

Визначення рівня загального білка та глобулінів у крові інфікованих BFV кролів проводили спектрофотометрично за біуретовою реакцією. [391], вміст

альбумінів і глобулінів досліджували нефелометричним методом з використанням фосфатних буферів [392], циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) середньої молекулярної маси — за методом Гриневича та Алферова, серомукоїдів — за методом Веймера та Мошина [393].

Виявлення провірусної ДНК спумавірусу ВРХ проводили за допомогою двох пар праймерів, а саме Int 1 (TGGACAGGAGAGGAGAGGAA) / Int 2 (GCAGTGCCAGTGAGATGTGT) — зовнішня пара, довжина ампліфікованого фрагмента — 430 п. н. та Int 3 (TCCCGCCTAGCTGATAGA) / Int 4 (CAAACSTGAAATGGCTTGGT) — внутрішня пара, ампліфікат довжиною 241 п. н., що фланкують ген *pol* BFV.

Визначення наявності специфічних антитіл до вірусу лейкозу ВРХ в сироватці крові кролів, яким інокульовано біологічний матеріал від інфікованої ВЛ ВРХ корови, проводили за допомогою реакції імунодифузії з використанням «Набору компонентів рідких стабілізованих для серологічної діагностики лейкозу великої рогатої худоби в реакції імунодифузії (РІД)» виробництва ТОВ «НДП «Ветеринарної медицини» (м. Харків).

Детекцію провірусної ДНК вірусу лейкозу здійснювали з використанням пари праймерів BLV-env 3-4 згідно з рекомендаціями ВОАН [27], яка фланкує фрагмент гена *env* BLV довжиною 444 п. н. Ревертазу MMLV використовували для отримання ДНК шляхом зворотної транскрипції згідно з інструкціями виробника. Візуалізацію результатів ПЛР-аналізу проводили шляхом горизонтального гель-електрофорезу у 1,5 %-му агарозному гелі.

2.6.5 Біоетика

Експериментальні дослідження на тваринах проведені відповідно до Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей [400], Порядку проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах [401], Загальних етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (20 вересня 2001 р., Київ) [402].

2.6.6 Вивчення протівірусної дії наночасток оксиду церію на моделі збудника вірусної діареї великої рогатої худоби

У роботі використовували виробничий штам вірусу діареї великої рогатої худоби (ВД ВРХ) «ВК-1» з інфекційною активністю $7,7 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$ (інв. № 49 в депозитарії ННЦ «ІЕКВМ», депонований за № 594 в ДНКІБШМ) після відновлення інфекційної активності впродовж 6 послідовних пасажів. Перещеплювана культура клітин, чутлива до вірусу діареї ВРХ, що використана в роботі — легені ембріону корови (ЛЕК), отримана з кріобанку ННЦ «ІЕКВМ». Засівна концентрація клітин перещеплюваної лінії становила 3×10^5 клітин/ см^3 . Як ростове поживне середовище використовували середовище ДМЕМ та 199 (ТОВ «НДП «Ветеринарна медицина», Україна) у рівних співвідношеннях з додаванням 10 % нативної інактивованої сироватки крові великої рогатої худоби (ВРХ) та антибіотиків (пеніциліну $100 \text{ ОД}/\text{см}^3$ та стрептоміцину $100 \text{ мкг}/\text{см}^3$). Культивування перещеплюваної культури клітин проводили за стандартною методикою [403].

За результатами репродукції вірусу на чутливій культурі клітин (характерний цитопатичний ефект) отримано вірусовмісний матеріал, наявність BVDV в якому підтверджували за допомогою методу імунофлюоресценції (РІФ) у відповідності до інструкції виробника (ТОВ «НДП «Ветеринарна медицина», м. Харків), а його генетичного матеріалу — за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) з використанням систем праймерів 324 (ATGCCC(T/A)TAGTAGGACTA) та 326 (TCAACTCCATGTGCCATGTAC) [387, 386]. Встановлення інфекційної активності вірусу діареї ВРХ штам «ВК-1» (до та після обробки CeO_2) проводили шляхом виявлення цитопатичного ефекту (ЦПД) у інфікованій культурі клітин ЛЕК. Розрахунок титру інфекційності вірусу проводили за методом Ріда та Менча [399] та виражали в тканинних цитопатичних дозах в $1,0 \text{ см}^3$, що спричиняють загибель 50 % зараженої культури клітин ($\text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$).

Отримання водного розчину оксиду церію було проведено в Інституті мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України шляхом розчинення

3,73 г гептагідрату хлориду церію (III) і 2,0 г лимонної кислоти у 20 см³ дистильованої води. За безперервного перемішування цей розчин швидко додавали до водного розчину аміаку, виготовленого шляхом змішування 10 г концентрованого аміаку (Sigma, США) і 100 см³ дистильованої води. Розчин перемішували протягом 5 год з подальшим кип'ятінням, унаслідок чого було отримано 100 см³ 0,1 М оксиду церію.

Визначення цитотоксичної концентрації (CC₅₀) препарату, що вміщував оксид церію (CeO₂) проводили на перещеплюваній культурі клітин легень ембріону корови, у його кінцевих концентраціях 0,172, 0,086, 0,057, 0,043 та 0,034 мкг/см³. Робочі розведення препарату, що вміщував CeO₂, виготовляли на підтримуючому поживному середовищі DMEM. Визначення цитотоксичної дії препарату проводили шляхом видалення ростового поживного середовища зі сформованого моношару та заміною його на підтримуюче, що вміщувало відповідну концентрацію CeO₂. На кожне розведення препарату використовували по 5 зразків перещеплюваної культури клітин ЛЕК. Як контроль використовували культуру клітин (5 зразків) зі сформованим моношаром на підтримуючому поживному середовищі, яке не вміщувало CeO₂. Цитотоксичний вплив різних концентрацій оксиду церію оцінювали візуально через 24, 48 та 72 год за допомогою інвертованого мікроскопу, ураховуючи зміни морфології клітин та порушення цілісності моношару. Цілісність мембрани клітин визначали використовуючи розчин трипанового синього з концентрацією 0,2 % (за відсутності забарвлення клітин) [397]. Ступінь прояву цитотоксичного ефекту CeO₂ оцінювали в хрестах (від «++++» до «-»), де «-» — повна відсутність дегенерації клітин, «+» — порушення морфології клітин та цілісності моношару не більше 25 %, «++» — уражено не більше 50 % клітин моношару, «+++» — не більше 75 % клітин моношару та «++++» — повна дегенерація клітин та руйнування моношару. CC₅₀ оксиду церію визначали як його концентрацію, яка призводила до руйнування 50 % клітин моношару за рахунок цитотоксичності.

Для дослідження противірусної ефективності використовували концентрації оксиду церію (ураховуючи гранично допустиму концентрації, ГДК), яка не

спричиняла загибелі клітин в моношарі перещеплюваної лінії ЛЕК та розвитку морфологічних змін в вищезначених клітинах.

Після визначення гранично допустимої концентрації CeO_2 , нетоксичної для перещеплюваної культури клітин ЛЕК, проведено визначення протівірусної ефективності препарату шляхом одночасного внесення різних його концентрацій з вірусом діареї ВРХ штам «ВК-1» після сумісної їх інкубації [404]. Для стандартизації вірусної суспензії та інфікування клітин моношару використовували $100 \text{ ТЦД}_{50}/\text{см}^3$ вірусу ВД [405]. Попередньо проводили обробку штаму «ВК-1» різними концентраціями оксиду церію у пропорції 1:1. З цією метою робили суміш різних концентрацій CeO_2 та вірусу діареї ВРХ штам «ВК-1» з кінцевою інфекційною активністю $100 \text{ ТЦД}_{50}/\text{см}^3$, інкубували їх впродовж 40 хв за температури 37°C . З моношару клітин перещеплюваної лінії зі 100 %-во сформованим моношаром видаляли ростове поживне середовище, промивали триразово його середовищем DMEM та вносили 1:10 об'єму суміші препарат-вірус. Зразки інкубували впродовж 60 хв за температури 37°C , а у подальшому видаляли суміш препарат-вірус з моношару, триразово промивали його середовищем DMEM та вносили підтримуюче ростове середовище. Інкубацію зразків проводили за температури 37°C .

На кожне розведення препарату використовували по 5 зразків перещеплюваної культури клітин ЛЕК. Під час проведення визначення ефективності CeO_2 в різних концентраціях використовували наступні контрольні зразки ($n = 5$): контроль культури клітин на підтримуючому середовищі (КК); контроль $100 \text{ ТЦД}_{50}/\text{см}^3$ вірусу діареї ВРХ штам «ВК-1» на культурі клітин ЛЕК (КВ); контроль цитотоксичної дії відповідних концентрацій оксиду церію на культурі клітин ЛЕК.

Облік результатів дослідження проводили за результатами 100 % ЦПД вірусу діареї штам «ВК-1» в клітинах моношару ЛЕК у зразках контролю $100 \text{ ТЦД}_{50}/\text{см}^3$ вірусу (КВ) [406].

Визначення протівірусної ефективності CeO_2 проводили шляхом встановлення IC_{50} -концентрації препарату, яка пригнічує вірус індукований

цитопатичний ефект (ЦПД) у 50 % клітин моношару [407]. Ураховували стан моношару, його цілісність, зміну морфології клітин у відповідних контролях та дослідних зразках, що вміщували різні концентрації препарату. Оцінку ЦПД вірусу, по аналогії з цитотоксичною концентрацією, проводили в хрестах (від «++++» до «—»). Життєздатність клітин визначали за цілісності їх мембрани, використовуючи вітальне фарбування 0,2 %-м розчином трипанового синього (відсутність забарвлення клітин).

Після визначення показників цитотоксичної та інгібуючої концентрації CeO_2 для встановлення протівірусної ефективності препарату розраховували індекс селективності (SI), як співвідношення CC_{50} до IC_{50} [14, 408].

2.6.7 Оцінка віруліцидної дії дезінфікуючого засобу щодо вірусів великої рогатої худоби

Вивчення віруліцидних властивостей дезінфікуючого засобу, який складається з суміші четвертинних амонієвих сполук (ЧАС) — 25,0 %, глутарового альдегіду — 11,0 %, ізопропілового спирту, неіоногенних ПАР проводили на РНК (ВД ВРХ) та ДНК (ІРТ ВРХ)-вмісних вірусах ВРХ у відповідності методів визначення та оцінки показників безпечності та якості дезінфікуючих, мийно-дезінфікуючих засобів, що застосовуються під час виробництва, зберігання, транспортування та реалізації продукції тваринного походження [409] та іншими чинними методичними підходами [410].

Для проведення досліджень використовували виробничий штам вірусу інфекційного ринотрахеїту великої рогатої худоби (ІРТ ВРХ) «Молдавський» з інфекційною активністю $8,1 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$ (інв. № 43 в депозитарії ННЦ «ІЕКВМ», депонований за № 591 в ДНКІБШМ) та виробничий штам вірусу діареї великої рогатої худоби (ВД ВРХ) «ВК-1» з інфекційною активністю $7,7 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$ (інв. № 49 в депозитарії ННЦ «ІЕКВМ», депонований за № 594 в ДНКІБШМ). Як біологічний тест-об'єкт для репродукції штамів вірусів використовували перещеплювані лінії культур клітин нирки теляти (НТ) та нирки вівці (НВ-2), отримані з Кріобанку ННЦ «ІЕКВМ». Напрацювання перещеплюваних ліній клітин проводили на поживних середовищах DMEM та 199 у пропорції 1:1 з

додаванням 10 % нативної інактивованої сироватки крові ВРХ (ТОВ «НДП «Ветеринарна медицина», Україна) та антибіотиків (пеніциліну 100 ОД/см³ та стрептоміцину 100 мкг/см³). Культивування перещеплюваної культури клітин проводили за стандартною методикою [403].

Дослід з визначення віруліцидних властивостей дезінфікуючого засобу проводили в три етапи. Перший етап передбачав визначення цитотоксичної дії препарату для культур клітин, другий — визначення віроцидної дії препарату суспензійним методом, а третій — визначення віруліцидної дії засобу на тест-об'єктах.

На першому етапі досліджень проводили визначення цитотоксичної дії дезінфектанту на перещеплюваних лініях культур клітин НТ та НВ-2, які є чутливими біологічними системами для культивування вірусів ВРХ [411]. Для цього готували робочі розчини дезінфікуючого засобу в концентраціях 0,001, 0,01, 0,1, 0,25 та 0,5 %. Слід зазначити, що розведення дезінфектанту готували на 0,2 М фосфатно-сольовому буфері (ФСБ). У досліді використовували однодобові культури клітин НТ та НВ-2, які вирощували у пробірках з 2,0 см³ ростового поживного середовища, що складалося зі 45,0 % середовища ДМЕМ, 45,0 % середовища 199, 10 % нормальної сироватки крові ВРХ та антибактеріальних препаратів (гентаміцину сульфату та розчин тилозину). Перед проведенням досліду з пробірок з виповненим моношаром видаляли ростове середовище, замінюючи його на підтримуюче, що складалось з 50,0 % середовища ДМЕМ та 50,0 % середовища 199, з додаванням антибактеріальних препаратів. На кожне розведення препарату використовували по 5 пробірок перещеплюваних культур клітин НТ та НВ-2. Крім цього, використовували по 5 пробірок кожної з вищеназваних культур клітин як контрольні. Для подальшого дослідження використовували ту концентрацію розчину дезінфектанту, яка не спричиняла загибелі клітин в моношарі перещеплюваних ліній та розвитку будь-яких морфологічних змін в вищезначених клітинах. На підставі проведених досліджень урахували максимальну концентрацію деззасобу, яка не призводила до розвитку деструкційних змін в моношарі, а також обирали перещеплювані

культури клітин, які краще витримували контакт з досліджуваним препаратом та були чутливими до вірусів, що досліджувались.

Після встановлення нетоксичної для перещеплюваної культури клітин дози проводили дослід з визначення віруліцидних властивостей дезінфікуючого засобу суспензійним методом [412]. Для цього готували робоче розведення дезінфектанту, яке було не токсичним для культури клітин та не спричиняло її загибелі. Для дослідження використовували віруси з відомої інфекційною активністю — штам вірусу ІРТ ВРХ «Молдавський» ($8,1 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$) та штам вірусу ВД ВРХ «ВК-1» ($7,7 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$). Усі вірусні суспензії стандартизували за інфекційною активністю — $100 \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$ та використовували в об'ємі $9,0 \text{ см}^3$, з додаванням $1,0 \text{ см}^3$ дезінфікуючого засобу (кінцеві концентрації 0,001, 0,01, 0,1, 0,25 та 0,5 %). Отриману суміш інкубували протягом 20, 40 та 60 хв за різних температурних умов (10, 20 та 37°C) після чого суміш вірус-дезінфектант вносили у об'ємі $0,2 \text{ см}^3$ в пробірки з відповідною однодобовою культурою клітин зі 100 % сформованим моношаром та підтримуючим середовищем. На кожне розведення препарату, на кожну часову тривалість інкубації та її температурний режим використовували по 5 пробірок відповідної перещеплюваної культури клітин. Під час проведення дослідження використовували наступні контролю:

1. Контроль культури клітин на підтримуючому середовищі;
2. Контроль $100 \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$ кожного вірусу, що використовувався для визначення віруліцидних властивостей дезінфікуючого засобу (збудники інфекційного ринотрахеїту, вірусної діареї);
3. Контроль цитотоксичної дії препарату на культуру клітин, яка використовувалась для основного дослід.

Спостереження та облік результатів досліджень проводили щодобово протягом 72 год. Щоденно враховували стан моношару, його цілісність, зміну морфології клітин у відповідних контролях та дослідних пробірках, що вміщували суміш вірусу та дезінфікуючого засобу та інкубувались за різних режимів.

З метою визначення віруліцидної дії дезінфікуючого засобу на тест-об'єктах (дерево, кахель, метал, скло, пластик, бавовна) проводили контамінацію вірусами

тест-об'єктів, що досліджуються, та обробляли їх відповідним робочим розчином дезінфікуючого засобу та витримували за температури 20 °C впродовж 20, 40 та 60 хв. Після цього робили змиви з тест-об'єктів, отриману рідину центрифугували за 1 000 об./хв впродовж 15 хв. Отриманий надосад використовували для ізоляції вірусів на чутливих культурах клітин в пробірках (по 5 пробірок за кожною експозицією). Як і під час проведення дослідження суспензійним методом, проводили контроль культури клітин та вірусів у пробірках (по 5 пробірок). Спостереження та облік результатів досліджень проводили щодобово протягом 4 діб. Позитивною віруліцидна активність препарату вважалась за умов відсутності в чутливих культурах клітин на 4-ту добу порушень цілісності моношару та змін морфології клітин [412].

2.7 Статистичні методи

Статистичну обробку результатів дослідження по дослідним та контрольним групам тварин проводили за t-критерієм Стьюдента [413, 414]

Статистичну обробку даних вивчення цитотоксичної та протівірусної дії наночасток церію проводили методами непараметричного аналізу (представлені у вигляді медіани та інтерквартильних інтервалів вибірки) [415]. Дані візуалізували у графіках boxplot через непараметричний аналіз Краскела-Уоліса ANOVA та медіанний тест. Обробку даних проводили з використанням програмного забезпечення «Statistica» та онлайн калькулятора CC_{50} та IC_{50} ресурсу AAT Bioquest [416].

РОЗДІЛ 3 РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1 Епізоотологічні особливості вірусів, що спричиняють найбільш поширені економічно значущі хвороби великої рогатої худоби

Віруси є одними з найпоширеніших збудників інфекційних хвороб тварин. Вони характеризуються високою адаптивністю до середовища існування та різними шляхами передачі — через безпосередній контакт, біологічні рідини, а також опосередковано через інвентар, корми чи комах-переносників. Багато вірусів відзначаються здатністю до тривалої персистенції в організмі тварини, що ускладнює діагностику та контроль інфекцій. Крім того, деякі з них стійкі у зовнішньому середовищі, витримуючи вплив низьких температур, висушування та змін рН, що підвищує ризик їхнього поширення у тваринницьких господарствах [28, 70, 86, 93].

Важливою особливістю вірусних інфекцій є їхній вплив не лише на продуктивність та здоров'я тварин, а й на економіку господарств загалом. Інфіковані тварини часто стають довічними носіями, виділяють збудник у довкілля та є джерелом зараження для інших особин. До того ж, за рахунок виникнення імуносупресивних станів у тварин з причини негативного впливу вірусів, знижується ефективність засобів специфічної профілактики інших інфекційних хвороб та, як наслідок, це створює серйозні труднощі у впровадженні заходів контролю та ліквідації спалахів [2, 3, 111, 163].

Найбільше епізоотичне значення в цьому контексті мають наступні вірусні економічно значущі хвороби ВРХ: ензоотичний лейкоз великої рогатої худоби [3] — це хронічне інфекційне захворювання пухлинної природи, збудником якого є ретровірус (*Bovine Leukemia Virus*) та яке характеризується неопластичним розростанням клітин крові та лімфи внаслідок неконтрольованого їх розмноження та ділення; спумавірусна інфекція ВРХ, спричинена ретровірусом *Bovine Foamy Virus*, який може впливати на імунну систему та підвищувати сприйнятливість ВРХ до інших інфекцій [47]; імунодефіцит ВРХ, етіологічним агентом якого є ретровірус *Bovine Immunodeficiency Virus*, який споріднений із

вірусом імунодефіциту людини та спричиняє імуносупресію, що призводить до вторинних інфекцій [58]; вірусна діарея ВРХ, яку спричиняє пестівірус *Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV)*, інфікування яким супроводжується імунодефіцитним станом, запаленнями слизових, абортами та загибеллю тварин; інфекційний ринотрахеїт-пустульозний вульвовагініт (баланопостит) — вірусна хвороба ВРХ, спричинена *Bovine Herpesvirus 1*, яка проходить у респіраторній, генітальній, кератокон'юнктивній, нервово-енцефальній або шкірній формах і вражає тварин будь-якої породи, статі та віку. Усі означені хвороби ВРХ характеризуються виникненням імуносупресивного стану та їх збудники персистують в організмі господаря протягом усього його життя [59, 60, 76].

3.1.1 Визначення епізоотичної ситуації щодо лейкозу великої рогатої худоби в Україні та Європі

За результатами аналізу даних Всесвітньої організації з охорони здоров'я тварин визначено, що лейкоз ВРХ залишається одним з найпоширеніших інфекційних захворювань ВРХ в Європі (рис. 3.1).

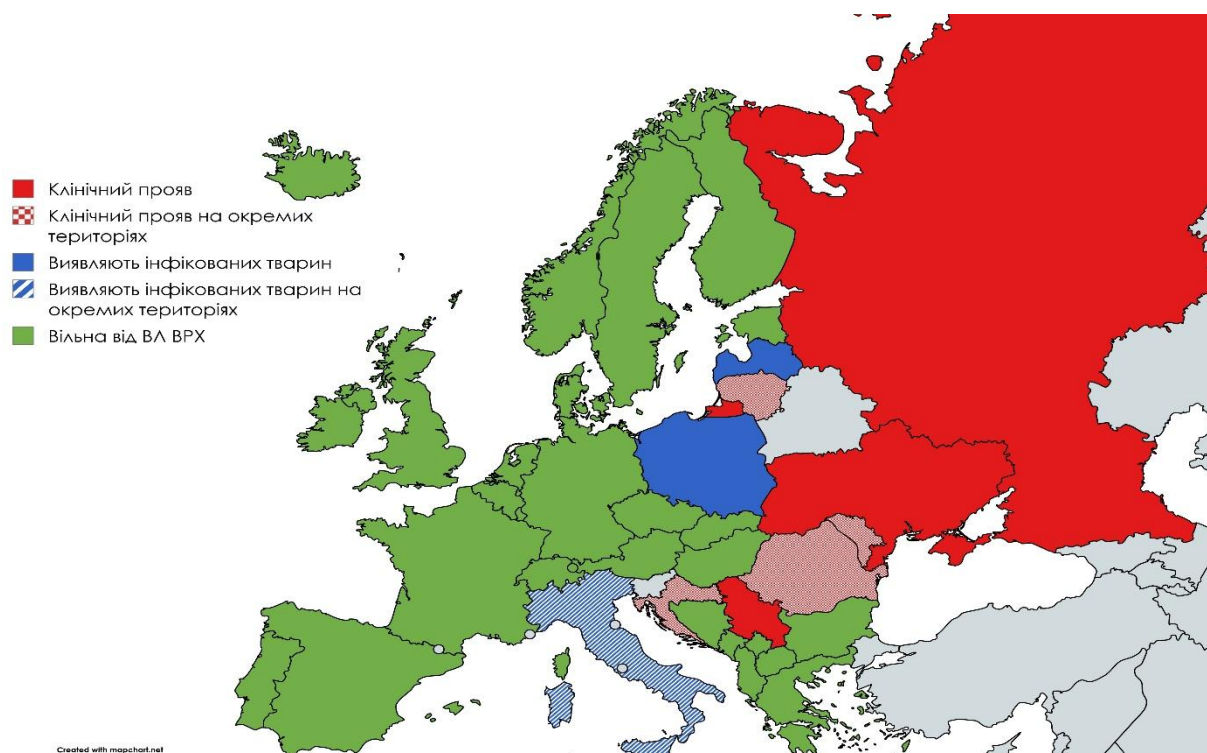


Рис. 3.1. Візуалізація епізоотичної ситуації щодо лейкозу ВРХ в країнах Європи за допомогою MapChart (за даними WOAH, 01.2025 р.).

Якщо в окремих країнах Європи, таких як Данія, Австрія, Бельгія, Великобританія, Нідерланди, Норвегія, Словаччина, Словенія, Іспанія, Фінляндія, Чехія та інші, захворювання остаточно викорінено, то в ряді країн, а саме — Латвія, Литва, Польща, Сербія, Хорватія, Румунія, Молдова, рф та Україна на січень 2025 року ще реєструються стада, де виявляються інфіковані вірусом тварини. Причому, на території рф, Сербії та України такі випадки характеризуються наявністю хворих тварин з клінічними ознаками, на території Литви, Хорватії, Молдови та Румунії — хворих тварин на обмеженій території, а на території Латвії та Польщі — інфікованих тварин, на території Італії інфіковані тварини реєструються в окремих регіонах. Слід зазначити, що в останні 6 років на фоні помітної стабілізації епізоотичної ситуації в країнах європейського континенту відмічалось деяке погіршення благополуччя тваринництва з лейкозу в 2022–2023 рр., що проявлялось збільшенням на 52 % кількості нових випадків захворювання (рис. 3.2).

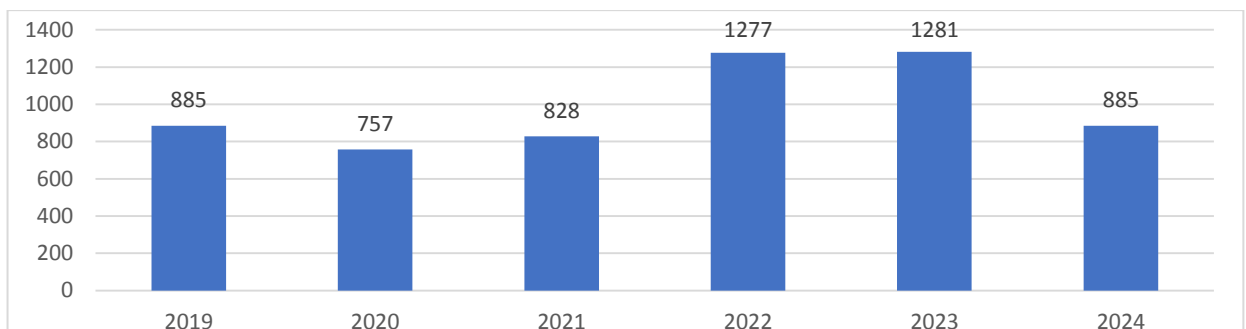


Рис. 3.2. Чисельність нових неблагополучних пунктів в країнах Європи (за даними WOAH, 01.2025 р.).

За поглибленого аналізу даних щодо означеного питання нами було встановлено, що збільшення кількості нових випадків захворювання ВРХ на лейкоз за вищезначений період здебільшого відбувалось за рахунок країн Східної Європи (рис. 3.3). З представлених даних видно, що найбільший рівень господарств, де виявляли нові випадки захворювання на лейкоз ВРХ, реєстрували в рф та Румунії. Найбільший інтерес у цьому контексті спричиняє погіршення епізоотичної ситуації щодо лейкозу в рф, яке збігається з початком широкомасштабної військової агресії проти України та може свідчити про нехтування протиепізоотичними заходами в країні.

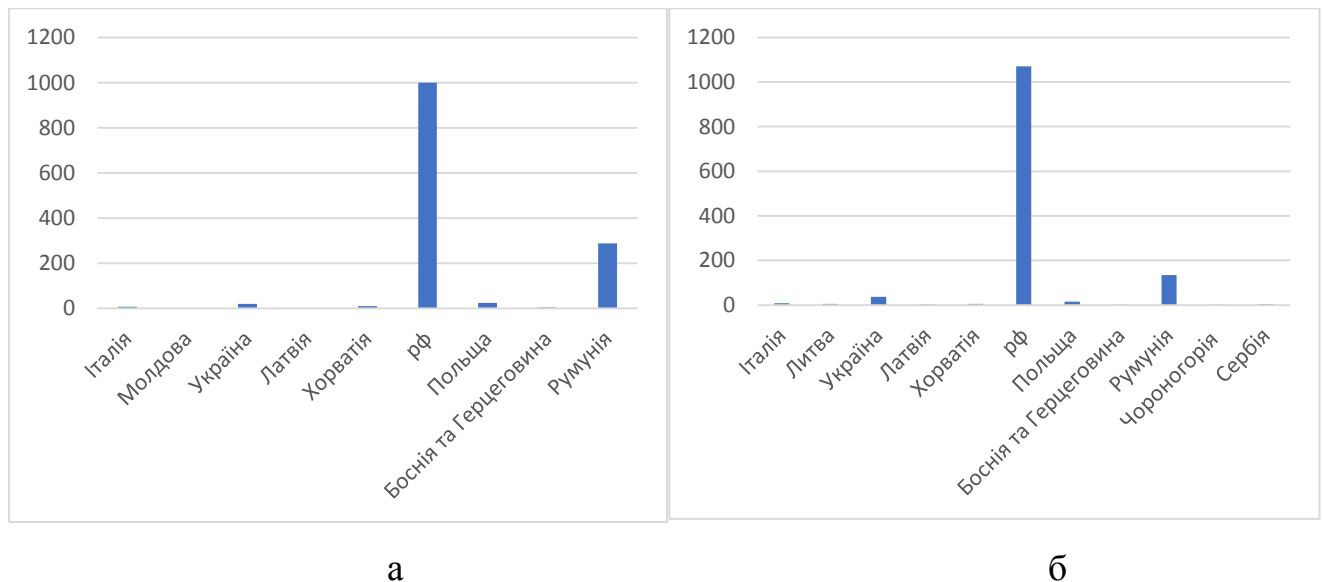


Рис 3.3. Чисельність нових неблагополучних пунктів в 2022 р. (а) та в 2023 р. (б) в окремих країнах Європи (за даними WOAH, 01.2025 р.).

Зважаючи на безконтрольне переміщення тварин, техніки та людей за останні три роки це може становити значний ризик у поширенні захворювання ВРХ на лейкоз на територію України, зокрема на тимчасово окуповані регіони, та, у свою чергу, до погіршення епізоотичної ситуації в нашій країні.

Що стосується країн ЄС, то, здебільшого на території більшості з них (крім Румунії) спостерігається стала епізоотична ситуація з помірною тенденцією до зменшення чисельності виникнення нових неблагополучних пунктів з лейкозу, що свідчить про ефективність запроваджених там заходів контролю, які переважно передбачають впровадження політики «стемпінг-аут» або модифікованого «стемпінг-аут».

За результатами аналізу даних серологічного моніторингу на лейкоз (дані регіональних лабораторій ветеринарної медицини України (табл. 3.1), визначено, що інфіковані тварини впродовж 2023–2024 рр. не виявлялись лише в Закарпатській, Івано-Франківській та Львівських областях. Негативні результати отримані з територій Донецької, Луганської, Запорізької та Херсонської (2023–2024 рр.) областей не можуть вважатись достовірними у зв'язку з тимчасовою окупацією означених регіонів унаслідок військової агресії рф.

Таблиця 3.1

Аналіз результатів серологічного моніторингу щодо лейкозу в різних регіонах в Україні за допомогою РІД та ІФА
(за даними ДНДІЛДВСЕ)

Область	2023						2024					
	ІФА			РІД			ІФА			РІД		
	Проведено досліджень	Реагувало позитивно	%	Проведено досліджень	Реагувало позитивно	%	Проведено досліджень	Реагувало позитивно	%	Проведено досліджень	Реагувало позитивно	%
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Вінницька	71201	147	0,21	57313	194	0,34	72715	161	0,22	51115	136	0,27
Волинська	53857	9	0,02	50575	232	0,46	50168	267	0,53	43656	399	0,91
Дніпро-петровська	25866	65	0,25	52731	440	0,83	26836	104	0,39	36707	259	0,71
Донецька	2563	0	0	2394	6	0,25	0	0	0	3292	18	0,55
Житомирська	43158	62	0,14	40767	161	0,39	42536	36	0,08	31697	161	0,51
Закарпатська	920	0	0,00	34620	0	0	1000	0	0	27310	0	0
Запорізька	1421	3	0,21	4198	1	0,02	1558	0	0	3657	3	0,08
Івано-Франківська	14615	0	0	28717	0	0	20864	0	0	14657	0	0
Київська	89489	243	0,27	47978	214	0,45	81737	84	0,10	28259	157	0,56
Кіровоградська	22286	159	0,71	25469	59	0,23	20955	9	0,04	17206	31	0,18

Продовження табл. 3.2

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Луганська	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Львівська	19437	0	0	69098	0	0	20039	0	0	54416	0	0
Миколаївська	13474	23	0,17	23880	23	0,10	15463	77	0,50	19975	27	0,14
Одеська	10431	601	5,76	38210	274	0,72	15919	575	3,61	40568	192	0,47
Полтавська	107045	108	0,10	26427	249	0,94	115096	120	0,10	18955	134	0,71
Рівненська	19764	115	0,58	35891	868	2,42	20129	57	0,28	30665	402	1,31
Сумська	54200	39	0,07	15839	213	1,34	45123	0	0	15667	286	1,83
Тернопільська	30806	20	0,06	42648	13	0,03	30540	0	0	45365	7	0,02
Харківська	35399	743	2,10	11046	359	3,25	34531	443	1,28	11384	897	7,88
Херсонська	475	0	0,00	5498	0	0	2384	187	7,84	5417	18	0,33
Хмельницька	67257	5	0,01	64804	23	0,04	72263	8	0,01	55025	48	0,09
Черкаська	93898	47	0,05	10307	61	0,59	92807	113	0,12	10165	25	0,25
Чернівецька	6630	9	0,14	21149	3	0,01	7065	23	0,33	20209	3	0,01
Чернігівська	76950	512	0,67	26700	604	2,26	68626	1763	2,57	23190	535	2,31
м. Київ	0	0	0	19	2	10,53	0	0	0	0	0	0
Всього	861142	2910	0,34	736278	3999	0,54	858354	4027	0,47	608557	3738	0,61

Щодо інших регіонів України, то як свідчать дані табл. 3.1, інфіковані тварини виявлялись у кожній з областей, причому як за умов проведення серологічної диспансеризації за допомогою РІД, так і за допомогою ІФА.

Кількість досліджених тварин та рівень серопозитивності в різних регіонах України був неоднорідним та залежав як від епізоотичної ситуації в регіоні, так і від наближення до зони бойових дій, та, відповідно, рівня оздоровчих протилейкозних заходів у попередні роки. Так, за умов дослідження в Харківській області, яка знаходиться в зоні бойових дій, 45 914 тварин за умов наявних на січень 2025 р. 82 700 голів ВРХ виявляли 1 340 голів інфікованих ВЛ ВРХ, причому 897 голів за допомогою ІФА та 443 — за допомогою РІД, що відповідає рівню превалентності 1,62 %. Слід враховувати, що інфікованість тварин у тій чи іншій області не завжди є коректною, з причини того, що дослідженню не піддається все сприйнятливє поголів'я, а тенденція до його зниження спостерігається кожного року. Так, на прикладі Харківської області, чисельність поголів'я ВРХ у порівнянні з 2021 р. була на рівні 61,6 %. Аналогічна ситуація щороку спостерігається і в інших регіонах України та країні в цілому (рис. 3.4).

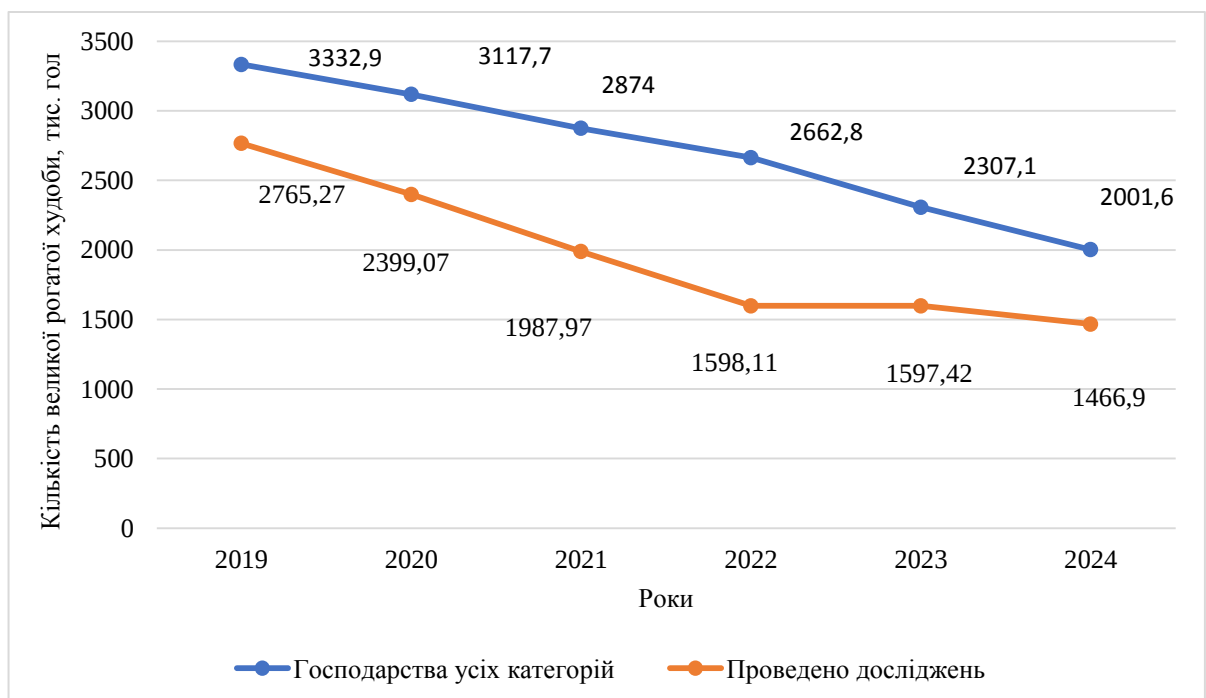


Рис 3.4. Співвідношення чисельності поголів'я великої рогатої худоби в господарствах усіх форм власності України та чисельності тварин, досліджених на лейкоз (за даними ДНДІЛДВСЕ та Державної служби статистики України).

З даних, наведених на рис. 3.4, можна побачити, що тенденція до зменшення кількості проведених серологічних досліджень на лейкоз в Україні знаходиться в прямій залежності від чисельності поголів'я ВРХ за той же період. Але розрахувавши частку поголів'я, що досліджено на лейкоз впродовж 2019–2024 рр. та чисельності ВРХ, яка утримується у тваринницьких господарствах всіх форм власності в Україні, ми дійшли висновку, що в Україні відбувається зниження цього показника щорічно. Так, у 2019 р. було досліджено на лейкоз 82,9 % тварин, що утримуються в Україні, у 2020 р. — 76,9 %, у 2021 р. — 69,0 %, у 2022 р. — 60,0 %, у 2023 р. — 69,2 % та у 2024 р. — 73,3%. Якщо зниження чисельності проведених досліджень у 2022–2024 рр. ще можна пояснити військовою агресією рф, то у 2019–2021 рр. цього зробити не можна.

За результатами проведеного аналізу ефективності різних серологічних методів діагностики лейкозу, що використовуються в Україні щодо результативності протилейкозних заходів, установлено зниження рівня використання РІД та зростання ролі ІФА під час проведення заходів контролю захворювання впродовж 2019–2024 рр. (рис. 3.5).

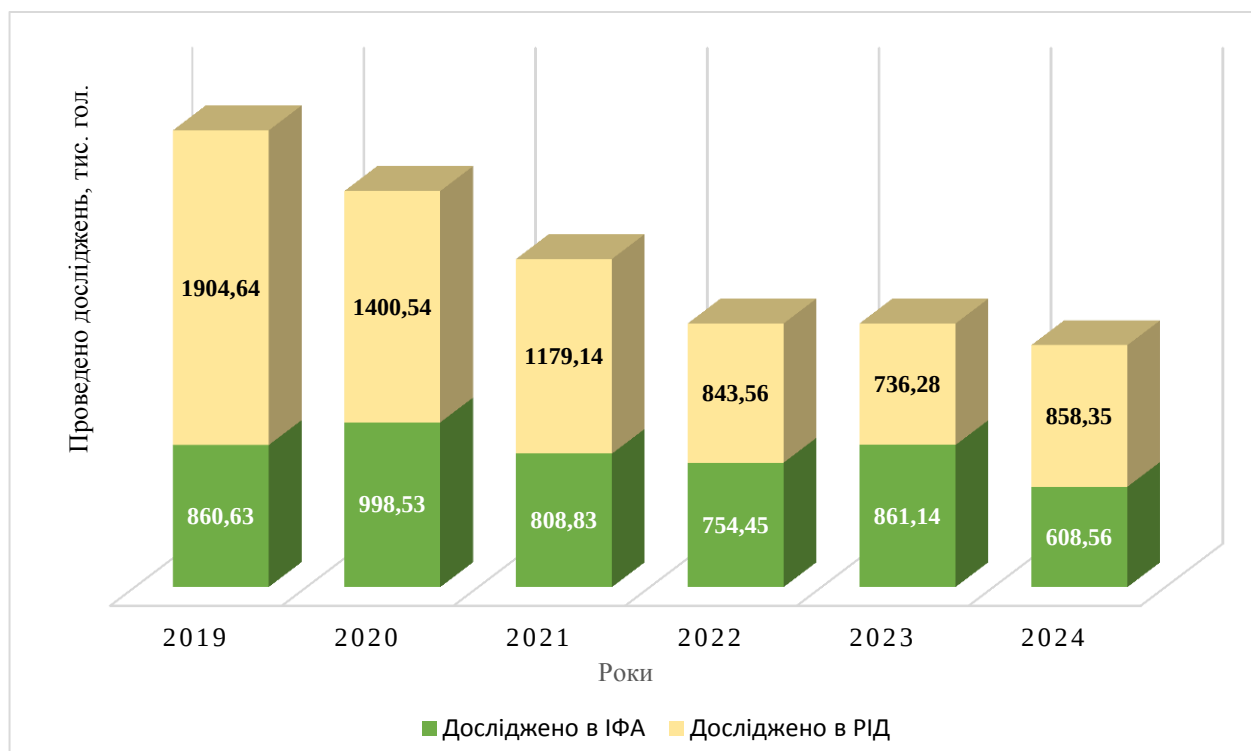


Рис. 3.5. Співвідношення проведених серологічних досліджень на лейкоз за допомогою ІФА та РІД в Україні (за даними ДНДІЛДВСЕ).

Аналізуючи отримані дані, ми враховували, що дослідження тварин на лейкоз у скотарських підприємствах та фермерських господарствах відбувається здебільшого за допомогою ІФА, тоді як дослідження тварин у присадибних господарствах населення України відбувається за допомогою РІД. У 2024 р. чисельність ВРХ у підприємствах та фермерських господарствах становила 49,5 %, що перевищувало аналогічний показник 2023 р. на 8,3 %, — це свідчить про перерозподіл ВРХ в Україні у порівнянні з попередніми роками з присадибних до підприємств та фермерських господарств.

Проведеним аналізом нами встановлено, що з 2019 до 2021 р. переважним методом дослідження лейкозу в Україні був РІД, починаючи з 2022 р., коли ми спостерігали майже паритет між означеними методами діагностики, у подальшому ми фіксуємо зростання ролі імуноферментного методу діагностики лейкозу ВРХ.

Щодо ефективності означених методів серологічної діагностики лейкозу ВРХ та їх вплив на епізоотичну ситуацію щодо захворювання в Україні, можна стверджувати, що за умов широкомасштабного запровадження ІФА в систему контролю лейкозу в Україні на перших етапах ми спостерігали зростання рівня серопревалентності до вірусу лейкозу (2019–2020 рр.) з поступовим зниженням цього показника з кінця 2020 до початку 2022 р.

Починаючи з 2022 р. (початок повномасштабного вторгнення), рівень серопревалентності до ВЛ ВРХ за використання обох методів дослідження мав тенденцію до збільшення. Це може бути пов'язано з якістю впровадження протилейкозних оздоровчих заходів та проведенням діагностичних досліджень, особливо на території східних та південних областей України.

Виявлення інфікованих тварин за допомогою РІД до 2022 р. знаходилося на більш-менш сталому рівні, зі збільшенням частки інфікованих тварин в проміжок 2022–2024 рр. з вищезначених причин (рис. 3.6).

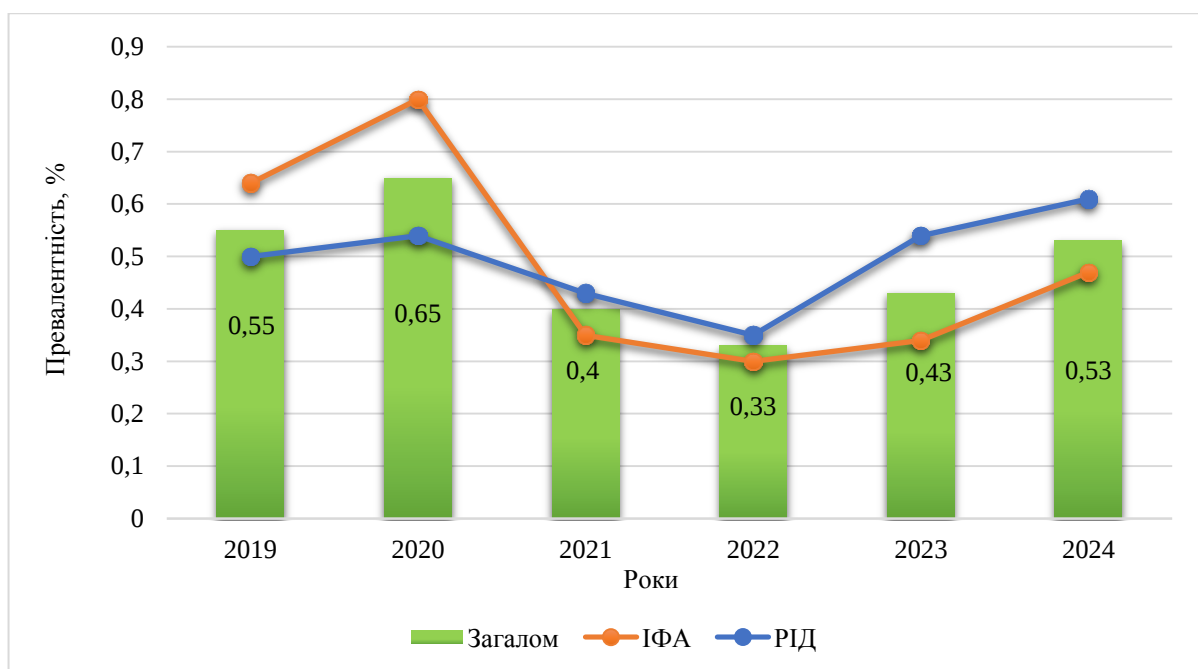


Рис. 3.6. Серопревалентність до вірусу лейкозу ВРХ визначена за допомогою методів ІФА та РІД в господарствах України різних форм власності (за даними ДНДІЛДВСЕ).

Що стосується методу ІФА, то після значного зростання у 2019–2020 рр. показника інфікованості, за його широкомасштабного впровадження в лабораторну практику України, виявлення інфікованих тварин мало стало тенденцію до зниження, з урахуванням особливостей 2022–2024 рр. Це пов'язано зі значно вищим порогом чутливості ІФА у порівнянні з РІД, та відповідно дозволяє виявляти інфікованих ВЛ ВРХ тварин набагато раніше, знижуючи ризики інфікування здорових тварин у стаді. Саме тому, починаючи з 2021 р. спостерігається зниження частки інфікованих тварин у господарствах, де оздоровчі заходи проводяться за допомогою методу ІФА.

Загалом, можна констатувати, що використання методу ІФА є більш ефективним у порівнянні з РІД в системі контролю лейкозу ВРХ. З метою зниження економічного навантаження на проведення означених заходів в Україні доцільним є проведення комбінованих досліджень зразків сироватки крові від тварин, а саме використання РІД на перших етапах впровадження протилейкозних заходів з подальшим дослідженням умовно благополучних тварин та контроль благополучних господарств за допомогою ІФА.

Що стосується загальних даних щодо превалентності тварин до вірусу лейкозу ВРХ, то ми можемо стверджувати про деяке покращення епізоотичної ситуації щодо лейкозу до 2022 р., зокрема завдяки впровадженню ІФА. За досліджуваний період означений показник знизився з 0,65 % (2020 р.) до 0,33 % (2022 р.). Далі погіршення епізоотичної ситуації щодо захворювання спостерігали за рахунок військової агресії рф, та рівень серопревалентності на 01.01.2025 р. становив 0,53 %.

Щодо результатів досліджень з поширення збудника лейкозу, проведених безпосередньо в господарствах окремих регіонів України, то нами було здійснено серологічний моніторинг ВРХ 16 господарств 8 областей України за допомогою РІД та ІФА (табл. 3.2).

Таблиця 3.2

**Результати серологічного дослідження сироватки крові
ВРХ окремих регіонів України (09.2021–08.2025 рр.)**

№ з/п	Область	Господарство	Всього досліджено, проб	Серопозитивних, проб		Інфікованість, %
				РІД	ІФА	
1	2	3	4	5	6	7
1.	Харківська	Чугуївський р-н, господарство № 2	148	1	н/д	0,68
2.			138	0	н/д	0
3.			490	11	н/д	2,24
4.			776	12	н/д	1,55
5.		Чугуївський р-н, господарство № 1	332	0	н/д	0
6.			147	0	н/д	0
7.			121	0	н/д	0
8.			100	1	н/д	1,00
9.			429	4	н/д	0,93
10.			58	0	н/д	0
11.			34	0	н/д	0
12.			37	0	н/д	0
13.			81	0	н/д	0
14.			316	3	н/д	0,95
15.			22	0	н/д	0
16.			89	1	н/д	1,1
17.			86	0	н/д	0
18.			132	5	н/д	3,7

1	2	3	4	5	6	7
19.	Харківська	Чугуївський р-н, господарство № 1	179	3	н/д	1,7
20.			280	2	н/д	0,7
21.			98	0	н/д	0
22.			315	8	н/д	2,5
23.			162	0	н/д	0
24.			48	0	н/д	0
25.			311	1	н/д	0,3
26.			8	н/д	0	0
27.			36	1	н/д	2,7
28.			103	0	н/д	0
29.			178	0	н/д	0
30.			370	0	н/д	0
31.			338	4	н/д	1,18
32.			12	н/д	0	0
33.			2	0	н/д	0
34.			430	н/д	2	0,46
35.		Всього	4854	33	2	0,72
36.		Ізюмський р-н	680	2	н/д	0,29
37.			434	0	н/д	0
38.			362	н/д	0	0
39.		Всього	1476	2	н/д	0,13
40.		Беристинський р-н	147	1	н/д	0,68
41.			107	н/д	11	10,28
42.			844	169	н/д	20,02
43.		Всього	1098	167	11	16,21
44.	Всього по області		8202	214	13	2,77
45.	Полтавська	Чорнухинський р-н	123	н/д	35	28,46
46.			25	н/д	5	20,0
47.			30	н/д	11	36,67
48.			147	53	н/д	36,05
49.			122	26	н/д	21,31
50.			209	н/д	98	46,89
51.			37	н/д	11	29,73
52.			43	н/д	10	23,3
53.			75	н/д	23	30,7
54.			41	н/д	8	19,5
55.			5	н/д	0	0
56.			74	н/д	0	0
57.			41	н/д	0	0
58.			38	н/д	12	31,58
59.			223	н/д	67	30,04

1	2	3	4	5	6	7
60.	Полтавська	Чорнухинський р-н	123	32	0	26,02
61.			102	н/д	0	0
62.			53	н/д	0	0
63.			34	н/д	0	0
64.			5	н/д	2	40
65.		Всього	1150	111	282	34,17
66.		Кременчуцький р-н	74	н/д	0	0
67.			41	н/д	0	0
68.			1207	10	н/д	0,83
69.			1161	5	н/д	0,43
70.		Всього	2483	15	0	0,60
71.		Миргородський р-н	6	н/д	0	0
72.		Всього	6	н/д	0	0
73.	Всього по області		3639	126	282	11,21
74.	Кіровоградська	Олександрійський р-н	4518	46	н/д	1,02
75.			232	0	н/д	0
76.			246	2	н/д	0,81
77.			279	7	н/д	2,51
78.			4612	28	н/д	0,61
79.			4505	25	н/д	0,55
80.			4763	21	н/д	0,44
81.			4730	0	н/д	0
82.			5016	н/д	0	0
83.			5465	0	н/д	0
84.			5511	0	н/д	0
85.		Всього	39877	129	0	0,32
86.	Всього по області		39877	129	0	0,32
87.	Сумська	Конотопський р-н, господарство № 1	174	н/д	34	19,54
88.			138	5	н/д	3,62
89.			145	2	н/д	1,38
90.			150	2	н/д	1,33
91.			10		0	0
92.			174	27	н/д	15,52
93.		Всього	791	36	0	4,55
94.		Конотопський р-н, господарство № 2	1046	1	н/д	0,1
95.			1117	1	н/д	0,09
96.			1014	0	н/д	0
97.			1815	0	н/д	0
98.			1340	н/д	0	0
99.			1258	н/д	0	0

1	2	3	4	5	6	7
100			1326	н/д	0	0
101		<i>Всього</i>	8916	2	0	0,02
102	Всього по області		9707	38	0	0,39
103	Одеська	Болградський р-н	190	8	н/д	4,21
104			118	3	н/д	2,54
105			166	н/д	3	1,8
106			125	н/д	1	0,8
107			<i>Всього</i>	599	11	4
108	Всього по області		599	11	4	2,5
109	Чернігівська	Сосницький р-н	235	0	н/д	0
110			232	0	н/д	0
111		<i>Всього</i>	467	0	н/д	0
112		Крюківський р-н	50	н/д	4	0
113		<i>Всього</i>	50	н/д	4	8
114	Всього по області		526	0	4	0,76
115	Херсонська	Чаплинський р-н, господарство № 1	1201	н/д	0	0
116			1273	н/д	0	0
117		<i>Всього</i>	2474	н/д	0	0
118		Чаплинський р-н, господарство № 2	1507	1	н/д	0,07
119		<i>Всього</i>	1507	1	0	0,07
120	Всього по області		3981	1	0	0,02
121	Запорізька	Пологівський р-н	615	12	н/д	1,95
122		<i>Всього</i>	615	12	н/д	1,95
123	Всього по області		615	12	н/д	1,95
124	ВСЬОГО		64672	531	303	1,29

За результатами проведеної роботи визначено, що інфікованість тварин в окремих господарствах України становить від 0,07 до 46,89 %, що залежало від рівня впровадження оздоровчих заходів у господарствах та кратності проведення серологічних досліджень. Високий рівень серопревалентності серед тварин окремих господарств, зокрема підприємства Чорнухинського р-ну Полтавської області, може бути пов'язаний з перетримкою інфікованих ВЛ ВРХ тварин в умовах окремої молочно-товарної ферми та багатократного дослідження сироватки крові від них та молодняку старше 6-місячного віку, отриманого від корів неблагополучної ферми. Загалом, слід зазначити, що середня інфікованість поголів'я ВРХ за період 2021–2025 рр. (64 672 голів) становила 1,29 %. Отримані

нами дані по окремим областям України свідчать про понад удвічі вищу серопревалентність у ВРХ у порівнянні з моніторинговими дослідженнями ДНДІЛДВСЕ (1,29 та 0,53 % відповідно), що підтверджує нашу думку про необхідність підвищення кратності серологічних досліджень на лейкоз в господарствах України з використанням різних методів (РІД та ІФА).

З метою визначення клінічної стадії захворювання інфікованих ВЛ ВРХ тварин, що утримуються в господарствах Чорнухинського р-ну Полтавської обл., господарстві № 1 Конотопського р-ну Сумської обл., Пологівського р-ну Запорізької обл., Чугуївського та Ізюмського районів Харківської обл. проведено гематологічне дослідження стабілізованої крові від тварин. За результатами дослідження 110 зразків цільної крові, ураховуючи підвищення відносного вмісту лейкоцитів, нами було ретельно досліджено 21 зразок з виведенням лейкоформули (табл. 3.3).

Таблиця 3.3

**Результати гематологічного дослідження крові від інфікованої
ВЛ ВРХ тварин господарств Полтавської, Сумської,
Запорізької та Харківської областей**

Область, район, де розташоване господарство	№ твар.	Лейк, %	Нейтрофіли, %				Лімф, %	Результат
			П	С	Е	М		
1	2	3	4	5	6	7	8	9
Полтавська обл., Чорнухинський р-н	9106	12,5	2	22	7	3	66	—
	9256	11,2	2	29	8	1	60	—
	2677	12,2	—	27	7	2	65	—
	9682	13,0	2	19	6	1	72	г/хвора
	9300	12,8	—	16	2	1	81	г/хвора
	9260	13,6	1	25	8	3	63	—
Сумська обл., Конотопський р-н, господарство № 1	4006	13,3	1	27	4	3	65	—
	4052	12,2	1	23	6	4	66	—
	4013	12,6	—	12	6	1	81	г/хвора

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Харківська обл., Чугуївський р-н	1253	12,0	2	30	6	2	60	—
	1211	13,0	—	23	9	5	63	—
Харківська обл., Борівський р-н	4612	13,2	1	26	8	5	60	—
	4625	12,0	—	28	4	4	64	—
	4805	12,8	2	25	3	2	68	—
	4828	12,6	1	24	7	3	65	—
Запорізька обл., Пологівський р-н	2612	13,8	—	12	2	2	84	г/хвора
	2642	11,6	1	30	6	1	62	—
	2615	12,4	2	24	4	2	68	—
	2631	12,8	—	13	6	5	76	г/хвора
	2681	13,0	1	13	3	2	81	г/хвора
	2600	12,8	2	22	4	6	66	—

За результатами проведеної роботи встановлено, що в господарствах, де тривалий час перетримувались інфіковані ВЛ ВРХ тварини, частка хворих тварин з гематологічним проявом захворювання був на рівні 5,45 %.

Таким чином, результати аналізу свідчать, що впровадження політики «стемпінг-ауту» та її модифікованих форм у країнах ЄС є ефективним інструментом боротьби з лейкозом ВРХ, що підтверджується викоріненням хвороби в окремих регіонах та стабільним зниженням кількості нових випадків. Водночас зростання кількості неблагополучних пунктів у 2022–2023 рр. на 52 %, переважно у країнах Східної Європи (російська федерація, Румунія), може бути пов'язане з ослабленням протилейкозних заходів і наслідками воєнних дій.

Визначено, що впродовж 2019–2024 рр. в Україні спостерігається тенденція до зниження на 9,6–22,9 % досліджуваної на лейкоз ВРХ, яка утримується в господарствах усіх форм власності, що призвело до поступового збільшення рівня

серопревалентності починаючи з 2022 р. до 0,53 % на тлі попереднього сталого зниження цього показника у 2019–2022 рр. з 0,65 до 0,33 %.

Установлено, що за умов широкомасштабного впровадження методу ІФА в систему контролю лейкозу в скотарстві України, на перших етапах спостерігали зростання рівня серопревалентності до вірусу лейкозу до 0,8 % (2019–2020 рр.) з поступовим зниженням цього показника з кінця 2020 до початку 2022 р. до 0,3 %. Використання методу ІФА, у порівнянні з РІД, під час проведення протилейкозних заходів дозволяє знизити ризики інфікування тварин ВЛ ВРХ, прискорити оздоровлення господарств за рахунок ранньої діагностики та більшої чутливості методу.

За результатами власних досліджень упродовж 2021–2025 рр. сироваток крові від 64 672 голів ВРХ 16 господарств 5 областей України було встановлено, що рівень серопревалентності в них становив від 0,07 до 46,5 % та залежав від етапу та якості впроваджених протилейкозних заходів. Загальний рівень серопревалентності до BLV в означених господарствах становив 1,29 %, що понад удвічі перевищувало загальні дані Держпродспоживслужби по Україні. За результатами проведених гематологічних досліджень інфікованих ВЛ ВРХ тварин встановило, що у 5,45 % з них реєстрували клінічний прояв захворювання (гематологічна форма).

3.1.2 Поширення збудників мінорних інфекцій великої рогатої худоби (імунодефіциту та спумавірусної інфекції) у неблагополучних щодо лейкозу господарствах України

Зважаючи на те, що відсутня офіційна інформація щодо циркуляції вірусів імунодефіциту та спумавірусної інфекції ВРХ в світі та в Україні зокрема, нами були проведені означені скринінгові дослідження в окремих господарствах України. Протягом 2021–2022 рр. було проведено епізоотичне обстеження 7 тваринницьких господарств Кіровоградської, Полтавської, Сумської, Черкаської та Харківської областей. З метою виявлення генетичного матеріалу збудників лейкозу, інфекційного імунодефіциту та спумавірусної інфекції ВРХ у тварин старше 6 місяців було відібрано зразки стабілізованої крові. Зразки відбирались

рандомно від корів з різних груп та приміщень. Так, від тварин господарства Олександрійського р-ну Кіровоградської області було відібрано 10 зразків, від тварин господарства Чорнухинського р-ну Полтавської області — 15, господарства № 1 Конотопського р-ну Сумської області — 10, Золотоніського р-ну Черкаської області — 15, Ізюмського р-ну — 15, Чугуївського — 15 та Берестинського районів Харківської області — 10. У кожному з цих господарств упроваджувались заходи з оздоровлення поголів'я від лейкозу, які передбачали регулярні серологічні дослідження зразків від ВРХ, починаючи з шестимісячного віку, з подальшим видаленням серопозитивних тварин зі стада. Рівень інфікованості на різних етапах впровадження протилейкозних оздоровчих заходів в означених господарствах був на рівні від 0,7 до 30,7 %. Результати проведення молекулярно-генетичних досліджень, спрямованих на виявлення генетичного матеріалу вірусів лейкозу, імунодефіциту та спумавірусної інфекції ВРХ, наведено в табл. 3.4.

Таблиця 3.4

Результати молекулярно-генетичного дослідження проб крові від корів господарств окремих областей України на наявність генетичного матеріалу збудників мінорних вірусних інфекцій (відбір проб 2021–2022 рр.)

Область	Район	Кількість (n)	Виявлено генетичний матеріал		
			BLV	BFV	BIV
Кіровоградська	Олександрійський	10	1	2	1
Полтавська	Чорнухинський	15	4	1	0
Сумська	Конотопський, господарство № 1	10	0	1	1
Черкаська	Золотоніський	15	2	1	0
Харківська	Ізюмський	15	0	0	1
	Чугуївський	15	3	2	0
	Берестинський	10	0	1	0

Аналізуючи результати, наведені в табл. 3.4, встановлено, що у 20 % зразків стабілізованої крові від тварин господарства Чугуївського р-ну Харківської області та 26,7 % зразків від тварин господарства Чорнухинського р-ну Полтавської області виявлено генетичний матеріал вірусу BLV. Тоді як у зразках від тварин ферми Олександрійського р-ну Кіровоградської області та господарства Золотоніського р-ну Черкаської області ідентифіковано генетичний матеріал збудника лейкозу в 10 і 13 % випадків відповідно. У зразках, отриманих від тварин з господарств Ізюмського та Берестинського районів Харківської області, а також господарства № 1 Конотопського р-ну Сумської області, генетичний матеріал вірусу BLV був відсутній. Це пояснюється тим, що протилейкозні заходи в означених господарствах були на завершальному етапі та довели свою ефективність.

Що стосується виявлення генетичного матеріалу вірусів BIV та BFV у великої рогатої худоби, важливо зазначити, що у господарстві № 1 Конотопського р-ну Сумської області були виявлені тварини саме з цими інфекціями. У трьох інших випадках тварини з ферм Чорнухинського р-ну Полтавської області, Золотоніського р-ну Черкаської області та Чугуївського р-ну Харківської області були інфіковані збудниками лейкозу та спумавірусу. На фермі Олександрійського р-ну Кіровоградської області виявлені тварини, що інфіковані збудниками лейкозу, імунодефіциту великої рогатої худоби та спумавірусної інфекції.

З метою подальшого вивчення поширення збудників імунодефіциту та спумавірусної інфекції серед ВРХ центральних та східних областей України починаючи з 2023 р. було проведено наступні відбори проб стабілізованої крові від тварин старше дворічного віку у господарствах, де реєструвалися серопозитивні щодо лейкозу тварини (табл. 3.5). Зразки отримували зокрема враховуючи результати попередніх досліджень, наведених в табл. 3.4, а саме від тварин груп та приміщень господарств, де було виявлено збудників спумавірусу та імунодефіциту ВРХ. Крім того, додатково відбирали зразки від тварин господарств південних областей, де відбір проб проводився рандомно від корів з різних груп та виробничих приміщень.

**Результати молекулярно-генетичного дослідження проб крові
від корів стад господарств окремих областей України на наявність
генетичного матеріалу збудників мінорних вірусних інфекцій**

Область	Район	Кількість (n)	Виявлено генетичний матеріал		
			BLV	BFV	BIV
Кіровоградська	Олександрійський	10	1	7	4
Полтавська	Чорнухинський	15	4	2	-
Сумська	Конотопський, господарство № 1	15	6	11	1
Черкаська	Золотоніський	15	1	2	1
Харківська	Ізюмський	15	1	2	-
	Чугуївський	15	3	2	-
	Берестинський	10	9	8	-
Чернігівська	Сосницький	10	2	2	1
Одеська	Біляївський	10	2	5	4
	Болградський	10	2	6	4
Миколаївська	Доманівський	10	1	1	-
Вінницька	Калинівський	10	2	2	-

Аналізуючи результати досліджень, що наведені в табл. 3.5, найбільшу кількість зразків, позитивних щодо лейкозу, виявлено у Сумській (40,0 % позитивних від загальної кількості досліджених зразків) та Харківській (32,5 %) областях. Щодо виявлення тварин, які є носіями спумавірусу, фіксували значну частку тварин в господарствах низки областей України.

Так, найбільшу кількість тварин, у яких виявляли генетичний матеріал BFV, реєстрували в Кіровоградській (70,0 %), Сумській (73,3 %), Одеській (55,0 %) та Харківській (30,0 %) областях.

Натомість, кількість позитивних зразків щодо вірусу імунодефіциту BIV серед поголів'я є меншою. Тим не менш, генетичний матеріал вищеназваного збудника знайдено у 40,0 % досліджених зразків, що надходили з Кіровоградської та Одеської областей.

Слід зазначити, що лише у господарстві № 1 Конотопського р-ну Сумської області, на відміну від інших ферм, спостерігалось інфікування тварин асоціацією збудників мінорних інфекцій.

Утворення продуктів ампліфікації характерної довжини після горизонтального гель-електрофорезу продуктів ампліфікації на рівні: 444 п. н. — для провірусної ДНК вірусу лейкозу, 221 п. н. та 235 п. н. — для генетичного матеріалу спумавірусу та вірусу імунодефіциту відповідно візуалізовано на рис. 3.7 і 3.8.

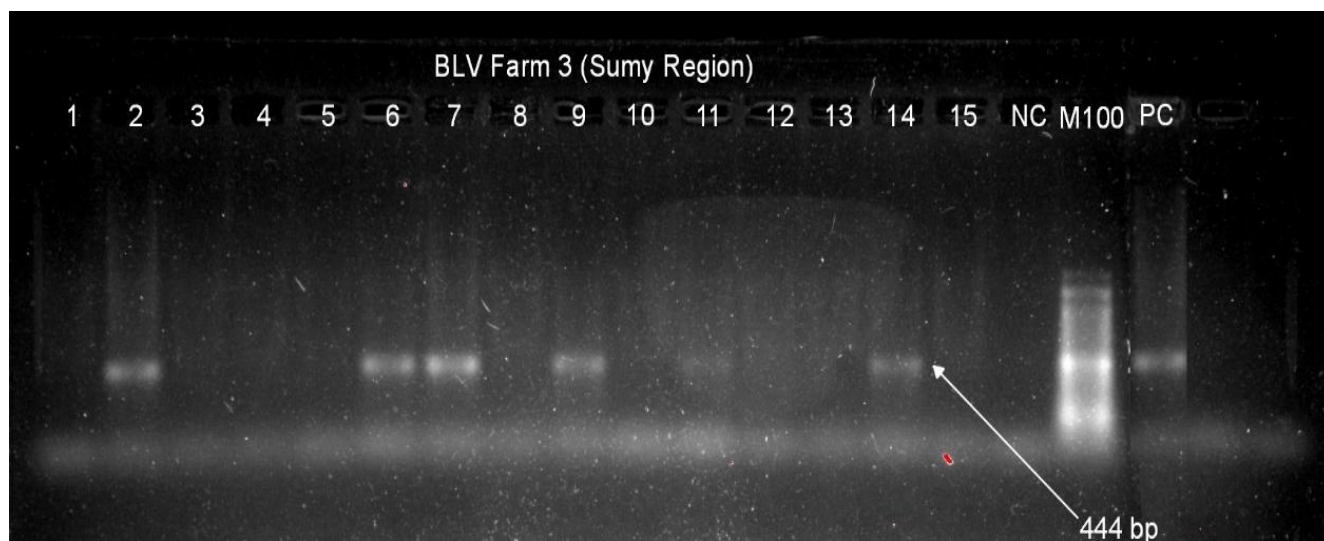


Рис 3.7. Результати електрофоретичного аналізу продуктів ампліфікації на наявність провірусної ДНК вірусу лейкозу (BLV) зразків, що надійшли з господарства Сумської області, де PC — позитивний контрольний зразок, NC — негативний контрольний зразок.

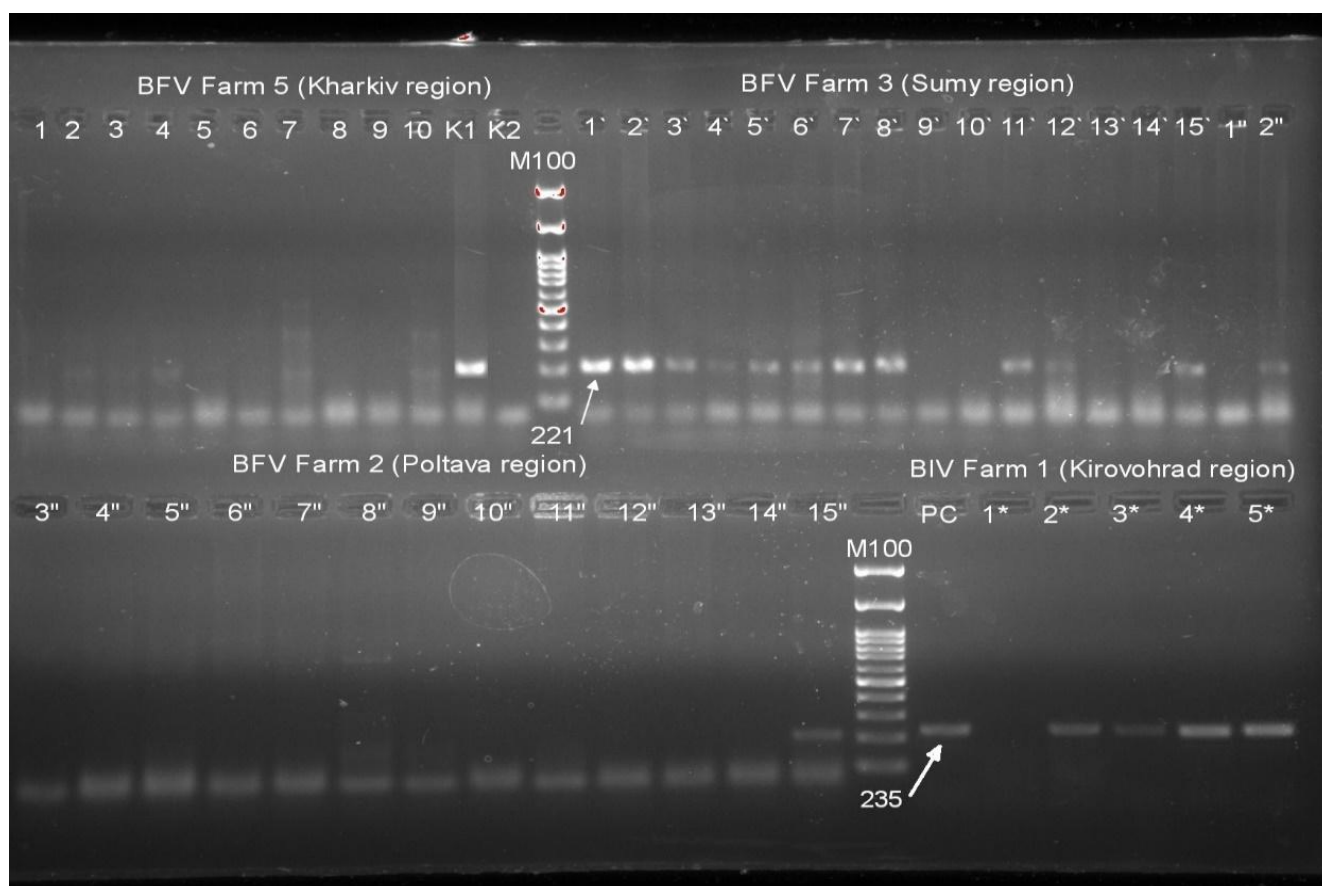


Рис 3.8. Результати електрофоретичного аналізу продуктів ампліфікації на наявність провірусної ДНК спумавірусу (BFV) та вірусу імунодефіциту ВРХ (BIV) зразків господарств Харківської, Сумської, Полтавської та Кіровоградської областей, де K1 — позитивний контрольний зразок ДНК спумавірусу, PC — позитивний контрольний зразок ДНК вірусу імунодефіциту, K2 — негативний контрольний зразок.

У 26,7 % досліджених зразків господарства Сумської області спостерігалось інфікування вірусом лейкозу ВРХ та спумавірусу одночасно (табл. 3.6).

Таблиця 3.6

Результати молекулярно-генетичного дослідження зразків від тварин господарства № 1 Конотопського району Сумської області

№ проби	Інв. № тварин	Наявність генетичного матеріалу вірусу		
		BLV	BIV	BFV
1	2	3	4	5
1	3984	—	—	+
2	4418	+	—	+
3	2997	—	—	+
4	3637	—	—	+

1	2	3	4	5
5	4450	—	—	+
6	3610	+	—	+
7	2967	+	—	+
8	9876	—	—	+
9	3646	+	—	—
10	2995	—	—	—
11	3636	+	—	+
12	9875	—	—	+
13	2975	—	—	—
14	5191	+	—	—
15	3697	—	—	+

Крім того, у 73,3 % зразків виявляли генетичний матеріал BFV, що значно вище в порівнянні з першим відбором проб, де кількість інфікованих тварин становила 10%.

Отримані результати підкреслюють необхідність подальшого моніторингу ретровірусних інфекцій серед поголів'я великої рогатої худоби в Україні з урахуванням регіональних особливостей поширення та частоти асоційованих випадків.

Таким чином, за результатами проведених досліджень встановлено неоднорідний рівень поширення спумавірусної інфекції серед великої рогатої худоби 5 областей України. Найвищу частку інфікованих спумавірусом ВРХ тварин зафіксовано у господарствах Кіровоградської (70,0 %), Сумської (73,3 %), Одеської (55,0 %) та Харківської (30,0 %) областей, що свідчить про значну циркуляцію вірусу в цих регіонах. Натомість частка виявлення вірусу імунодефіциту великої рогатої худоби була дещо нижчою та становила 40,0 % у Кіровоградській та Одеській областях.

Визначено, що випадки асоційованого інфікування тварин трьома ретровірусами — BFV, BIV та BLV — було зафіксовано лише в одному з семи господарств. Крім того, у 26,7 % зразків від тварин господарства Сумської області виявлено асоційовану інфекцію BLV та BFV, що може свідчити про можливу

взаємодію цих вірусів та їхній потенційний вплив на перебіг ретровірусної інфекції у ВРХ.

3.1.3 Епізоотична ситуація щодо інфекційного ринотрахеїту та вірусної діареї великої рогатої худоби в Європі та окремих стадах України

Аналізом даних Всесвітньої організації з охорони здоров'я тварин встановлено, що, незважаючи на впровадження заходів контролю (вакцинопрофілактика, у т.ч. за допомогою маркерних вакцин, контроль переміщення тварин, видалення зі стада інфікованих тварин та ін.), інфекційний ринотрахеїт ВРХ реєструється в багатьох країнах Європи (рис. 3.9) та призводить до значних економічних втрат у тваринництві.

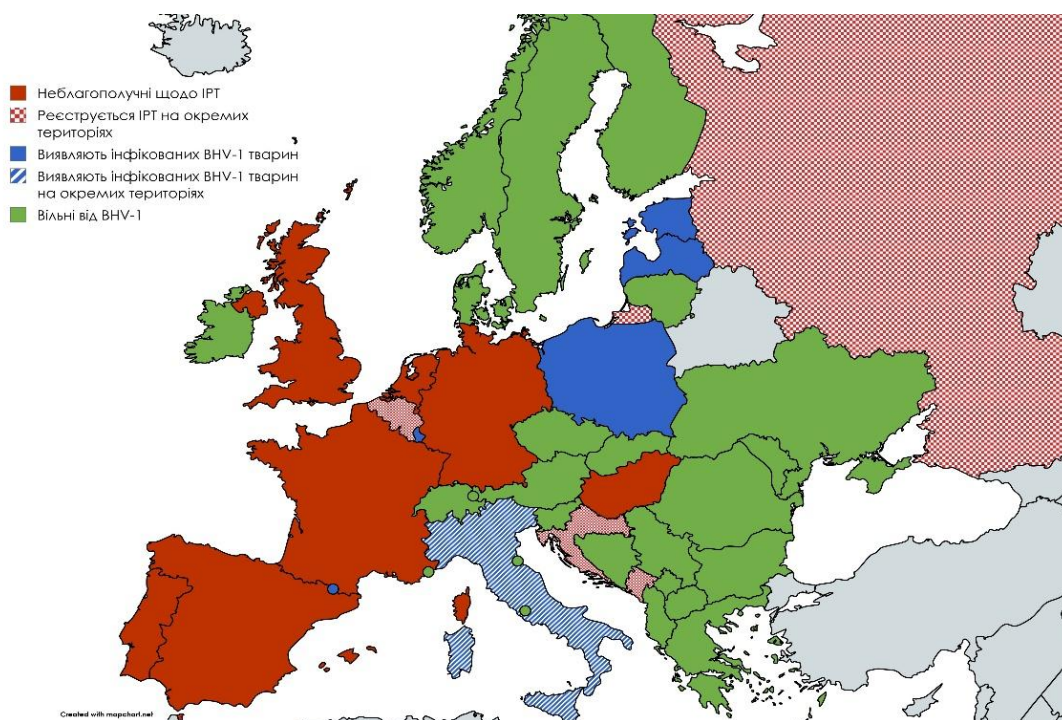


Рис. 3.9. Епізоотична ситуація щодо ІРТ ВРХ в країнах Європи (візуалізовано за допомогою MapChart, дані WOAH, 01.2025).

За офіційними даними WOAH захворювання ВРХ на інфекційний ринотрахеїт реєструється в Німеччині, Франції, Іспанії, Португалії, Великобританії та Угорщині, що призвело до неблагополуччя означених країн з захворювання. Що стосується Бельгії, Хорватії, Чорногорії та рф, то випадки захворювання в них офіційно зареєстровані на обмежених територіях.

Інфікованих BHV-1 тварин виявляли в Естонії, Латвії, Люксембурзі, Польщі та Андоррі, до того ж, серопозитивність тварин до вірусу зареєстровано в окремих регіонах Італії.

Епізоотична ситуація в країнах Європи з вірусної діареї ВРХ свідчить про дуже напружену епізоотичну ситуацію щодо захворювання у багатьох країнах Європи (рис. 3.10) навіть незважаючи на впровадження в них державних програм по контролю BVDV.

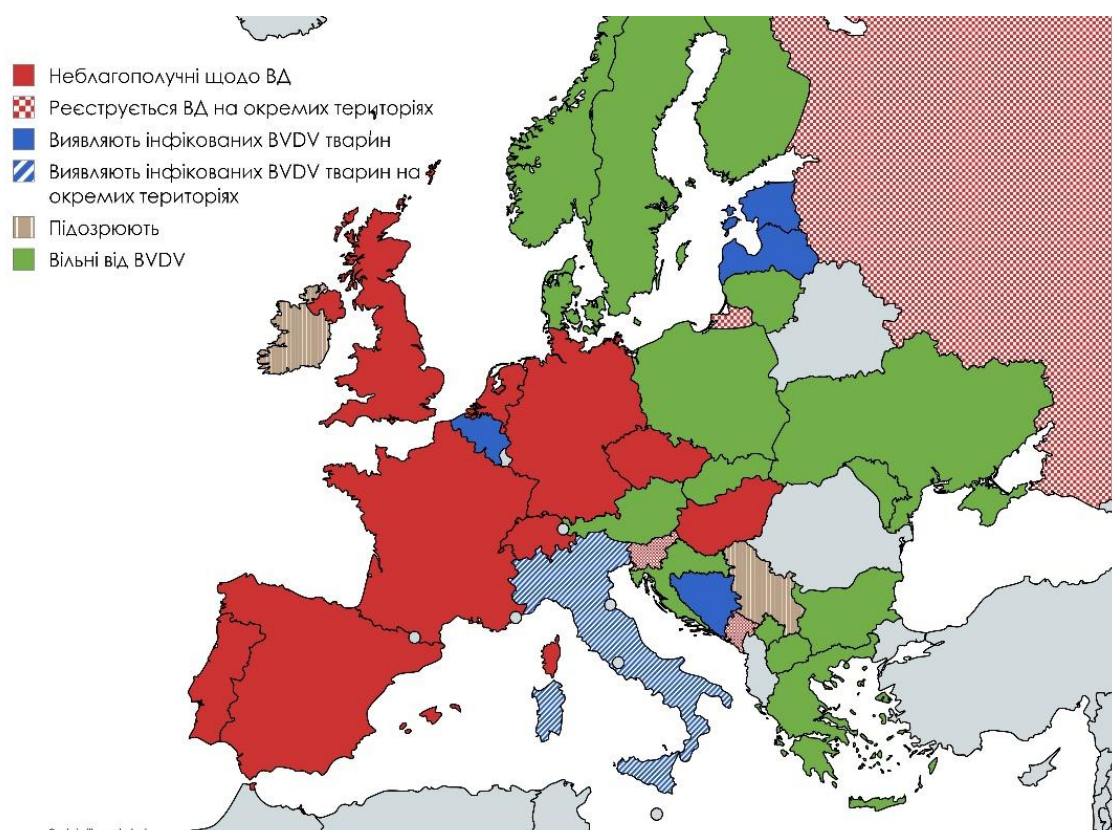


Рис. 3.10. Епізоотична ситуація щодо ВД ВРХ в країнах Європи (візуалізовано за допомогою MapChart, дані WOAH, 01.2025).

Неблагополуччя щодо вірусної діареї ВРХ впродовж 2024 та на початку 2025 р. виявляли в Нідерландах, Німеччині, Франції, Португалії, Іспанії, Чехії та Угорщині, до того ж, у деяких країнах (Чорногорія, Словенія та рф) хворі тварини виявляються на обмеженій території. Інфікованих BVDV тварин виявляли в Естонії, Латвії, Бельгії та Боснії та Герцеговині, до того ж серопозитивність тварин до вірусу зареєстровано в окремих регіонах Італії.

Щодо епізоотичної ситуації з інфекційного ринотрахеїту та вірусної діареї ВРХ в Україні, то офіційно країна має статус благополучної. Слід зазначити, що Держпродспоживслужба не проводить моніторингових досліджень з цих захворювань та відповідна офіційна інформація з епізоотичної ситуації щодо ІРТ та ВД відсутня.

Вивчення поширення вірусів інфекційного ринотрахеїту та вірусної діареї ВРХ нами було проведено в умовах 18 господарств 9 областей України (рис. 3.11).

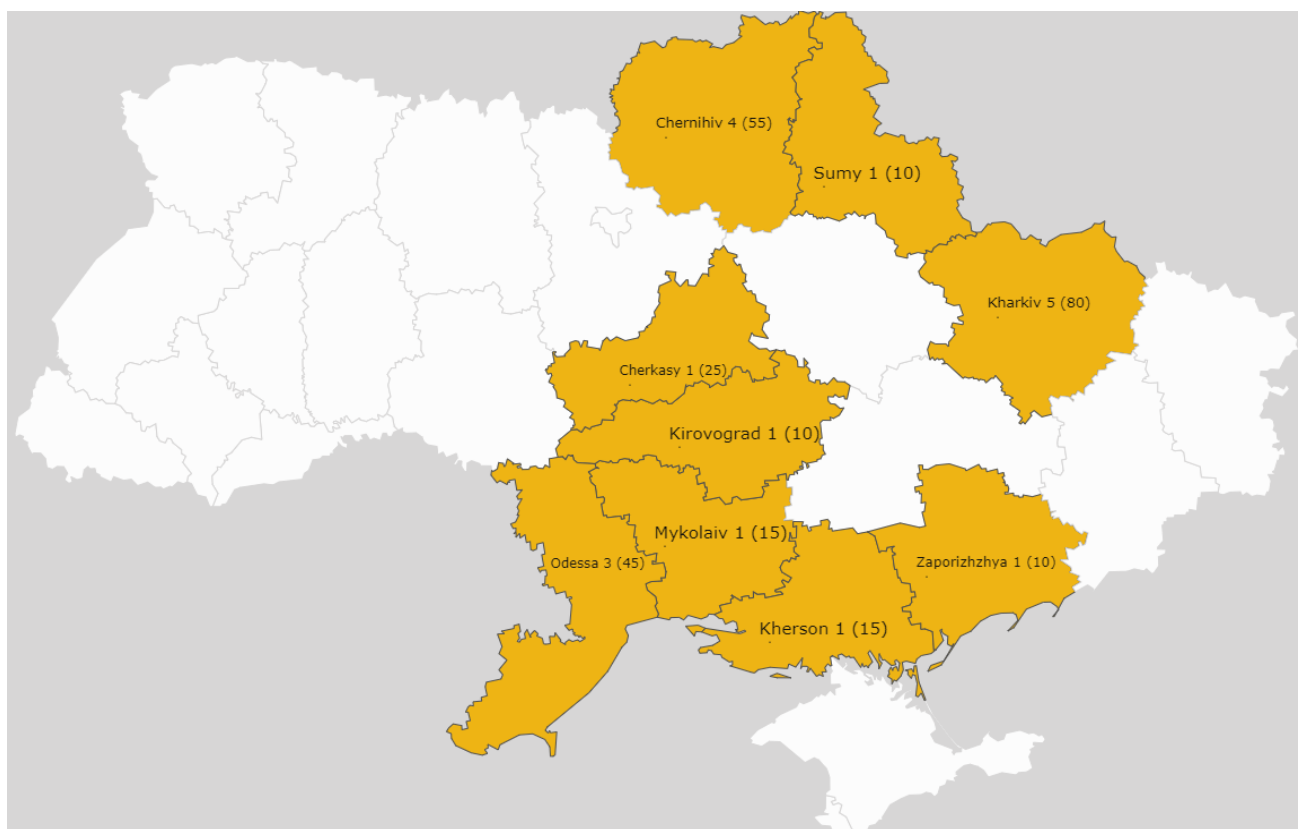


Рис. 3.11. Географія дослідження господарств на інфекційний ринотрахеїт та вірусну діарею ВРХ.

Ураховували результати клініко-епізоотологічного обстеження ферм, за результатами якого проводили відбір зразків біологічного матеріалу для дослідження в умовах лабораторії. За результатами аналізу проведених лабораторних досліджень за допомогою РІФ впродовж 2021–2025 рр. визначено, що антигени вірусів ІРТ, ВД виявляли у тварин незалежно від того, були впроваджені в господарстві з метою профілактики пневмоентеритів засоби специфічної профілактики чи ні (рис. 3.12, 3.13).

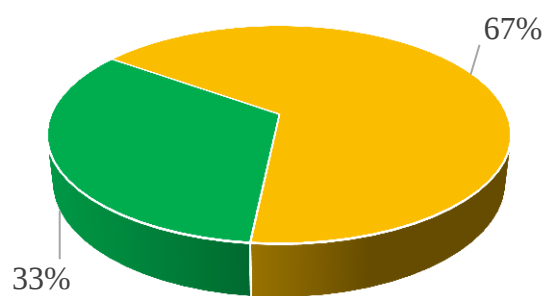
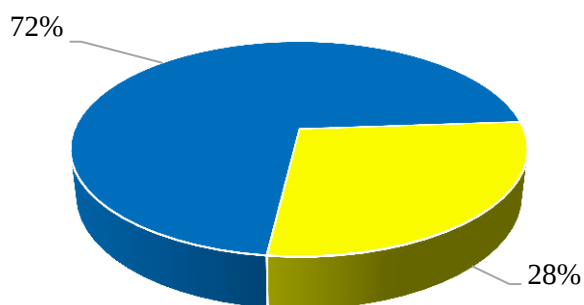


Рис. 3.12. Виявляли антигени вірусу ІРТ. **Рис. 3.13.** Виявляли антигени вірусу ВД.

Як видно з рис. 3.12, антигени вірусу ІРТ виявляли в майже 33 % випадків, а збудника ВД (рис. 3.13) — у майже 28 % випадків.

Результати проведеного поглибленого аналізу епізоотичної ситуації та результатів серологічних досліджень за допомогою методу ІФА щодо ІРТ та ВД в 18 господарствах Харківської (5 ферм, 80 проб), Кіровоградської (1 ферма, 10 проб), Сумської (1 ферма, 10 проб), Черкаської (1 ферма, 25 проб), Чернігівської (4 ферми, 55 проб), Запорізької (1 ферма, 10 проб), Одеської (3 ферми, 45 проб), Херсонської (1 ферма, 15 проб) та Миколаївської (1 ферма, 15 проб) областей наведено в табл. 3.7.

Таблиця 3.7

Результати аналізу серологічних досліджень щодо інфекційного ринотрахеїту та вірусної діареї в господарствах 9 областей України

Госп-во	Область	Досліджено сироваток крові (ІФА), проб			Циркуляція збуднику в стаді (РІФ)	
		Всього	Виявлено позитивних		ІРТ	ВД
			ІРТ	ВД		
1	2	3	4	5	6	7
№ 1	Харківська	20	20	12	не вияв.	вияв.
№ 2		15	14	11	не вияв.	не вияв.
№ 3		15	15	13	вияв.	не вияв.
№ 4		10	9	4	вияв.	не вияв.

1	2	3	4	5	6	7
№ 5		20	18	16	вияв.	вияв.
№ 6	Кіровоградська	10	10	8	не вияв.	не вияв.
№ 7	Сумська	10	9	5	не вияв.	не вияв.
№ 8	Черкаська	25	25	17	не вияв.	не вияв.
№ 9	Чернігівська	10	10	8	не вияв.	не вияв.
№ 10		10	9	6	не вияв.	вияв.
№ 11		15	14	12	не вияв.	не вияв.
№ 12		20	20	16	не вияв.	не вияв.
№ 13	Запорізька	10	10	8	не вияв.	вияв.
№ 14	Одеська	20	20	19	не вияв.	не вияв.
№ 15		15	14	13	не вияв.	вияв.
№ 16		10	9	7	вияв.	не вияв.
№ 17	Херсонська	15	14	14	вияв.	не вияв.
№ 18	Миколаївська	15	11	10	вияв.	не вияв.
Всього		265	251 (94,7 %)	199 (75,1 %)	6 (33,3 %)	5 (27,7 %)

Аналізуючи отримані результати, встановлено, що 95 % досліджених проб сироватки крові мали специфічні антитіла до герпесвірусу 1-го типу (рис. 3.14), тоді як в 75 % випадків нами було виявлено специфічні антитіла до вірусу діареї великої рогатої худоби (рис. 3.15).

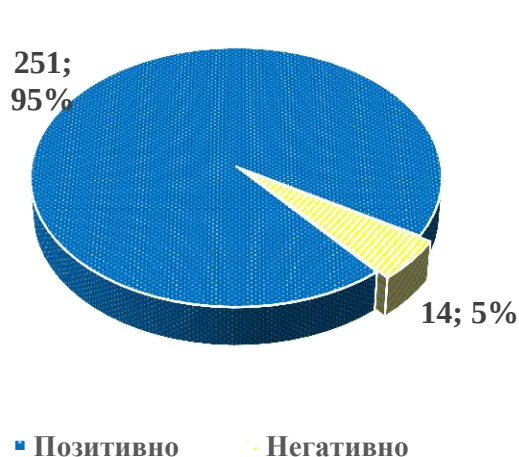


Рис. 3.14. Виявлено антитіла до вірусу ІРТ.

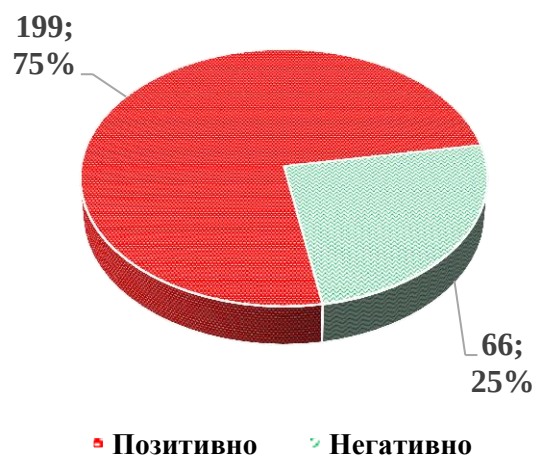


Рис. 3.15. Виявлено антитіла до вірусу ВД.

Попри високий рівень гуморальної імунної відповіді до вірусу ІРТ та збудника ВД у тварин з обстежених господарств, у 44,4 % із них реєстрували клінічні ознаки респіраторного синдрому (табл. 3.8).

Таблиця 3.8

Клінічний прояв захворювання у великої рогатої худоби за циркуляції в стадах вірусів ІРТ та ВД

Клінічна форма захворювання	Область, господарств									ВСЬОГО
	Харківська	Кіровоградська	Сумська	Черкаська	Чернігівська	Запорізька	Одеська	Херсонська	Миколаївська	
Респіраторна	3	1	0	1	1	0	2	0	0	8
Кишкова	1	0	0	0	0	1	0	1	0	2
Репродуктивна	0	0	0	0	0	1	0	1	1	3
Без клінічного прояву	2	0	1	0	3	0	1	0	0	7

Слід зазначити, що відмінності клінічних симптомів захворювання та форм його прояву здебільшого стосувались характеру перебігу, рівню захворюваності та смертності тварин. Незважаючи на позитивний вплив вакцинації тварин імунобіологічними засобами, які вміщували живі атенуйовані штамами вірусів на перебіг ІРТ та ВД, їх безсистемне довготривале використання в господарствах було пов'язане з ускладненням епізоотичної ситуації, зокрема за рахунок виникнення секундарних бактеріальних інфекцій.

Щодо прояву репродуктивних форм захворювання в господарствах, спричинених циркуляцією в стаді збудників ІРТ та ВД, а саме виникнення вульвовагинітів, абортів у корів, мертвонародження та народження нежиттєздатних телят, нами було зафіксовано в 11,1 % випадків. Стосовно захворювання тварин на вірусну діарею, нами було зафіксовано означену клінічну форму в 16,7 % обстежених господарств, тоді як циркуляцію вірусів ІРТ та ВД серед ВРХ без будь-яких клінічних проявів — у 38,9 % випадків (рис. 3.16).

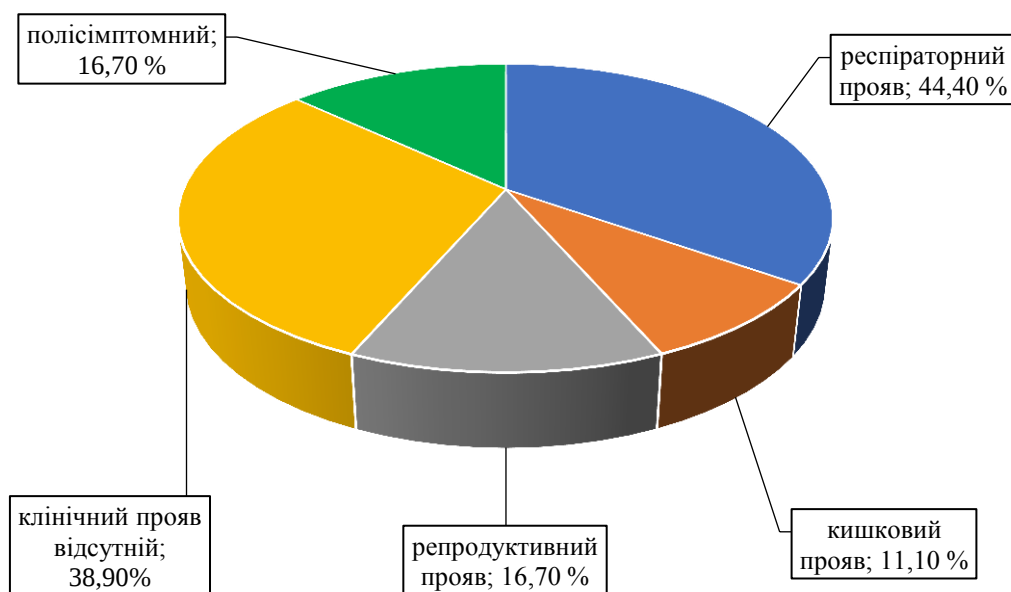


Рис. 3.16. Клінічний перебіг IPT та ВД у ВРХ в окремих регіонах України.

В окремих господарствах нами було зафіксовано різні форми клінічного прояву захворювання ВРХ, як то респіраторна та кишкова (господарство Харківської області), репродуктивна та кишкова (господарства Запорізької та Херсонської областей), які ми вважаємо полісимптомним перебігом IPT та ВД в стадах та які реєструвались 16,7 % випадків.

За результатами поглибленого аналізу планів протиепізоотичних заходів щодо профілактики інфекційного ринотрахеїту та вірусної діареї, що були запроваджені в обстежених господарствах, нами було встановлено, що систематичні діагностичні дослідження на наявність означених збудників в господарствах не проводяться; виявлення та видалення зі стада інфікованих тварин не впроваджено; в жодному з обстежених господарств маркерні вакцини не використовуються.

На нашу думку, наявність значної частки стад, де виявляли антигени BoHV-1 та BVDV за відсутності клінічних ознак захворювання з респіраторним, репродуктивним чи кишковим проявом, може бути спричинено активним впровадженням вакцинації тварин проти IPT та ВД (> 80,0 % обстежених стад), особливу роль за якої відіграє використання імунобіологічних препаратів, що включають атенуйовані штами вірусів.

Отже, встановлено, що за результатами обстеження тваринницьких господарств Харківської, Кіровоградської, Сумської, Чернігівської, Черкаської, Запорізької, Одеської, Херсонської та Миколаївської областей України наявність антигенів BoHV-1 ідентифікували в більш ніж 33 % випадків, а BVDV — у майже 28 % випадків, тоді як серологічні дослідження показали присутність специфічних антитіл до BHV-1 у 94,7 % зразків сироватки крові, а до BVDV — у 75,1 % відповідно. Попри наявність у тварин з обстежених господарств високого рівня специфічних антитіл до вірусу ІРТ та збудника ВД у 44,4 % з них реєстрували респіраторний прояв захворювання на фоні циркуляції вірусів, в 11,1 % — кишковий, 16,7 % — репродуктивний та 16,7 % — полісимптомний прояви.

Результати власних досліджень щодо поширення вірусних збудників були висвітлені в наступних публікаціях: [417–424].

3.2 Визначення ролі членистоногих у поширенні вірусу лейкозу, інфекційного ринотрахеїту та вірусної діареї ВРХ у неблагополучних господарствах

Визначення можливості розповсюдження вірусу лейкозу (група мінорних інфекцій), інфекційного ринотрахеїту та вірусної діареї ВРХ через механічну передачу членистоногими проведено шляхом дослідження комах за допомогою ПЛР. Дослідженню піддавали членистоногих, зібраних на території тваринницьких приміщень та прилеглої території неблагополучних господарств, а також природних стацій упродовж 2021–2024 рр. Збір кровосисних двокрилих проведено на території тваринницьких господарств Сосницького району Чернігівської області, Ізюмського району Харківської області, Кролівецького району Сумської області (господарство № 1), Чорнухинського району Полтавської області та Нововодолазького району Харківської області. Неблагополуччя означених господарств було доведено за допомогою серологічних методів (РІД та ІФА — для вірусу лейкозу ВРХ та РІФ — для збудників ІРТ та ВД) (табл. 3.9).

**Результати ентомологічних досліджень двокрилих, зібраних в умовах
тваринницьких господарств та природних стацій окремих областей України**

Місце збору	Координати	Комарі (Culicidae), пугів/шт.	Мокреці (Culicoides), пугів/шт.	Мухи (родина Muscidae), пугів/шт.	Мошки (Simuliidae) пугів	Oestridae, пугів	Calliphoridae, пугів	Hypoderma bovis, пугів	Drosophila melanogaster, пугів
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Харківська обл., Ізюмський р-н	49.339269, 37.617254	0	0	<i>M. domestica</i> , <i>M. tempestiva</i> , <i>M. autumnalis</i> , (1 пуг)	0	0	0	0	0
Полтавської обл., Чорнухинський р-н	50.323363, 32.960664	52 шт.	20 шт.	<i>M. domestica</i> <i>M. autumnalis</i> <i>M. tempestiva</i>	0	0	0	0	0
Сумська обл., Конотопський р-н, Господарство №1	51.465513, 33.308037	0	0	<i>M. domestica</i> (50 шт.), <i>M. domestica</i> (20 шт.), <i>M. domestica</i> (50 шт.), <i>M. tempestiva</i> (5 шо),	0	1	1	0	0
Чернігівська обл., Сосницький р-н	51.431197, 32.584693	0	0	<i>M. domestica</i> 2 пули, <i>M. autumnalis</i> (1 пуг)	0	0	0	1	0
Харківська обл., Нововодолазький р-н	49.807034, 35.971731	1 п.	1 п.	<i>M. domestica</i> (1 пуг)	1	0	0	0	0
Херсонська обл. Чаплинський р-н снт. Асканія Нова	46.453074 33.868869	33 шт.	20 шт.	<i>M. domestica</i> (7 шт.)	0	0	0	0	0

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Миколаївська обл., Вознесенський р-н, с. Актове	47.702690, 31.468177	10 шт.	190 шт.	0	0	0	0	0	0
Херсонська обл., Білозерський р-н, с. Олександрівка – с. Станіслав	46.590967, 32.124174	2 шт.	58 шт.	<i>M. domestica</i> (1 пул) <i>M. autumnalis</i> (12 шт.)	1 1	0	0	0	1
Харківська обл., Харківський р-н, с. Прудянка	50.250034, 36.201674	17 шт.	115 шт.	0	6	0	0	0	0
Харківська обл., Харківський р-н, с. Прудянка	50.250034, 36.201674	67 шт.	219 шт.	0	2	0	0	0	0

За результатами проведених досліджень встановлено, що рівень серопозитивності стада ВРХ господарства Борівського р-ну (Харківська область) становив 12 %, інфіковані ВЛ ВРХ тварини утримувалися в окремому приміщенні. Серопревалентність ВЛ ВРХ стада Великобурлуцького р-ну (Харківська область) була на рівні 3 % за умов утримання тварин в одному приміщенні та використанні загального доїльного устаткування в режимі «серонегативні тварини — інфіковані тварини». Крім того, в означеному господарстві виявляли тварин (телята 2–4-місячного віку) з ознаками респіраторного синдрому (виділення з носової порожнини, кон'юнктивіти, салівація та інше), у клінічному матеріалі (носові змиви) від яких виявляли антигени вірусів ІРТ та ВД.

Відносно господарства Полтавської області, то за умов серопозитивності стада на рівні 32 % відмічали окреме утримання тварин з різним щодо лейкозу епізоотичним фоном не тільки в окремих приміщеннях однієї ферми, а й на території різних ферм.

Щодо господарств Сумської та Чернігівської областей, то там спостерігали аналогічну ситуацію — неблагополуччя щодо ВЛ ВРХ на рівні 10 % (господарство № 1, Конотопський р-н, Сумська область) та 8 % (Сосницький р-н, Чернігівської області) відповідно. У вищезазначених господарствах у телят 2–4-місячного віку з ознаками респіраторного синдрому було виявлено антигени

вірусів у кон'юнктивальних та носових змивах, а також в патологічному матеріалі (легені).

Збори в умовах природніх стацій, пасовищ та прилеглих до помешкання людей територій проводили на території Чаплинського району (біля смт Асканія-Нова) та Білозірського району (біля с. Олександрівка та с. Станіслав) Херсонської області, Вознесенського району Миколаївської області (біля с. Актове), а також Дергачівського району Харківської області (біля смт Прудянка). Результати еколого-фауністичних досліджень представлені в табл. 3.9.

За результатами ентомологічних досліджень у зборах членистоногих виявлено комарів (Culicidae spp.) та мокреців (*Culicoides* spp.) у 80,0 % випадків, мух (Muscidae spp.) — у 70 % випадків, мошок (Simuliidae spp.) — 30,0% та оводів (Oestridae spp.) — 20 %. Крім того, в умовах тваринницьких ферм виявлено такі види мух: *Musca domestica* Linnaeus, 1758, *Musca tempestiva* Fallén, 1817, *Musca larvipara* Portschinsky, 1910, *Musca autumnalis* De Geer, 1776 та Calliphoridae spp.

На підставі результатів збору членистоногих та вивчення їхніх морфологічних особливостей означені групи комах були об'єднані в пули (n = 49) за родовими ознаками та досліджені методом ПЛР на наявність генетичного матеріалу BLV, BoHV-1 та BVDV (табл. 3.10).

Таблиця 3.10

**Результати молекулярно-генетичних досліджень
членистоногих, зібраних з різних областей України,
щодо наявності генетичного матеріалу BLV, BoHV-1 та BVDV**

Місце збору	Переносник	Генетичний матеріал вірусів		
		BLV	BoHV-1	BVDV
1	2	3	4	5
Сосницький р-н, Чернігівська обл.	Muscidae	не виявлено	не виявлено	не виявлено
Ізюмський р-н, Харківська обл.	Muscidae	не виявлено	не виявлено	не виявлено
	Calliphoridae	не виявлено	не виявлено	не виявлено

1	2	3	4	5
Чорнухинський р-н, Полтавська обл.	Muscidae	не виявлено	не виявлено	не виявлено
	Culicoides	не виявлено	не виявлено	не виявлено
	Culicidae	не виявлено	не виявлено	не виявлено
Нововодолазький р-н, Харківська обл.	Culicidae	не виявлено	не виявлено	не виявлено
	Culicoides	не виявлено	не виявлено	не виявлено
	Muscidae	не виявлено	не виявлено	не виявлено
	Simuliidae	не виявлено	не виявлено	не виявлено
Господарство № 1, Конотопський р-н, Сумська обл.	Muscidae,	не виявлено	не виявлено	не виявлено
	Oestridae	не виявлено	не виявлено	не виявлено
	Calliphoridae	не виявлено	не виявлено	не виявлено
с. Прудянка, Харківський р-н, Харківська область	Culicoides,	не виявлено	не виявлено	не виявлено
	Culicidae,	не виявлено	не виявлено	не виявлено
	Simuliidae	не виявлено	не виявлено	не виявлено
сmt Асканія Нова, Чаплинський р-н, Херсонська обл	Ceratopogonidae	не виявлено	не виявлено	не виявлено
	Muscidae	не виявлено	не виявлено	не виявлено
	Culicidae	не виявлено	не виявлено	не виявлено
с. Актове, Вознесенський р-н, Миколаївська обл.	Culicoides	не виявлено	не виявлено	не виявлено
	Culicidae	не виявлено	не виявлено	не виявлено
с. Олександрівка, с. Станіслав, Білозерський р-н, Херсонська обл.	Simuliidae	не виявлено	не виявлено	не виявлено
	Culicidae	не виявлено	не виявлено	не виявлено
	Ceratopogonidae	не виявлено	не виявлено	не виявлено
	Muscidae	не виявлено	не виявлено	не виявлено

На підставі проведених досліджень встановлено, що генетичний матеріал вірусів лейкозу, вірусної діареї та герпесвірусу 1-го типу ВРХ в пулах членистоногих (*Culicidae* spp., *Culicoides* spp., *Muscidae* spp., *Simuliidae* spp., *Oestridae* spp., *Calliphoridae* spp., *Hypoderma* spp.) не виявлено, що свідчить про відсутність підтвердження ролі членистоногих у механічному поширенні зазначених вірусів, та, відповідно, їхньої ролі в епізоотичному процесі.

Таким чином, за результатами ентомологічних досліджень на території тваринницьких господарств та природних стацій Чернігівської, Харківської, Сумської, Полтавської, Херсонської та Миколаївської областей встановлено наявність наступних кровосисних комах: комарів (*Culicidae* spp.) та мокреців (*Culicoides* spp.) — у 80,0 % випадків, мух (*Muscidae* spp.) — у 70,0 %, мошок (*Simuliidae* spp.) — у 30,0 % та оводів (*Oestridae* spp.) — у 20,0 %. У пулах членистоногих (*Culicidae* spp., *Culicoides* spp., *Muscidae* spp., *Simuliidae* spp., *Oestridae* spp., *Calliphoridae* spp., *Hypoderma* spp.), зібраних у неблагополучних щодо лейкозу, інфекційного ринотрахеїту та вірусної діареї ВРХ тваринницьких господарствах та природних стаціях, генетичний матеріал BLV, BHV-1 та BVDV не виявлено, а відповідно й роль вищезначених членистоногих у механічному поширенні збудників економічно значущих хвороб ВРХ наразі не доведено.

Результати проведених досліджень були апробовані на науковій конференції та опубліковані [425].

3.3 Вивчення біологічних властивостей вірусів діареї, ринотрахеїту, спумавірусу, імунodefіциту, лейкозу великої рогатої худоби *in vitro* та *in vivo*

Скотарство є важливим напрямом галузі тваринництва, однак його рентабельність суттєво знижується через вірусні хвороби тварин, особливу роль серед яких займають економічно значущі [111, 159, 179, 234], а саме вірусна діарея, інфекційний ринотрахеїт та ретровіруси.

Так, вірус діареї ВРХ має високу мінливість та включає цитопатичні та нецитопатичні штами. Вірус проникає в організм ВРХ переважно аліментарним або аерогенним шляхом, інфікує лімфоїдну тканину, епітелій шлунково-кишкового тракту, плаценту. За персистентної форми пожиттєво зберігається у

носіїв без клінічних ознак та постійно виділяється в навколишнє середовище [87]. Вірус інфекційного ринотрахеїту ВРХ проникає в організм тварин респіраторним або статевим шляхом через слизові оболонки. Після гострої фази вірус переходить у латентний стан в нервовій системі та може реактивуватися при стресі або імуносупресії [64]. Спумавірус, вірус імунодефіциту та лейкозу ВРХ — дволанцюгові РНК-геномні представники родини Retroviridae. Поширення вірусів відбувається як горизонтальним шляхом через слину, молоко, кров, сперму та кров (BLV), так і вертикальним. Означені збудники мінорних інфекцій здатні інфікувати клітини крові, що відповідальні за імунну відповідь [25, 91, 92]. Репродукція вірусів відбувається через інтеграцію в ДНК хазяїна пожиттєво [98].

Доцільно зауважити, що вищеназвані віруси ВРХ мають різну природу, геномну структуру та біологічні властивості, проте їх спільною рисою є здатність до персистенції та імуносупресії, що ускладнює діагностику, контроль і завдає значні економічні збитки [1–5]. Розуміння біології цих вірусів є ключовим для розробки та впровадження ефективної системи контролю в стадах ВРХ.

3.3.1 Вивчення впливу поживних середовищ на різні сублінії перещеплюваної культури клітин FLK-BLV для підвищення їхніх антигенпродукуючих властивостей

Після розморожування перещеплюваних клітин FLK-BLV різних субліній (FLK-50/100; FLK-71; FLK-SBBL, FLK-Pol та FLK-D12VP) та проведення їх відновлення впродовж двох послідовних пасажів на ростовому поживному середовищі (DMEM+199+FBS) та подальшого клонування їх до низької клоногенної щільності на полістиролових планшетах, проводили відбір життєздатних колоній, напрацювання вірусної біомаси та визначення антигенпродукуючої активності різних субліній культури клітин FLK-BLV за допомогою РІД. З метою напрацювання вірусної біомаси з отриманих субліній використовували різний склад поживного середовища, а саме: 1:1 середовище DMEM та 199, середовище DMEM, середовище RPMI та співвідношення DMEM та RPMI (1,5:1). В усіх випадках додавали 10 % фетальної сироватки крові ВРХ. З метою оцінки активності отриманих антигенів урахували об'єм культуральної

рідини кожної сублінії до концентрації, кратність концентрації, об'єм отриманого антигену та його активність з позитивною контрольною сироваткою крові ВРХ (табл. 3.11). Позитивним титром антигену вважали розведення, за якого в РІД спостерігається чітка лінія преципітації з позитивною контрольною сироваткою на два хрести та більше.

Таблиця 3.11

**Антигенпродукуюча активність різних субліній культури клітин
FLK-BLV за умов використання різних поживних середовищ**

№	Сублінія FLK-BLV	Поживне середовище	Об'єм культуральної рідини до концентрування, см ³	Об'єм отриманого антигену, см ³	Концен- тровано, разів	Акти- вність анти- гену
1.	FLK-D12VP	DMEM+199	1000,0	6,4	156,3	—
2.		DMEM	1000,0	6,1	163,9	—
3.		RPMI	200,0	1,0	186	—
4.		DMEM+RPMI	300,0	1,7	176,5	—
5.	FLK-Pol	DMEM+199	1200,0	7,2	166,7	1:2
6.		DMEM	1000,0	6,6	151,5	1:1,5
7.		RPMI	200,0	1,1	181,8	1:2,5
8.		DMEM+RPMI	300	1,8	166,7	1:2,5
9.	FLK-50/100	DMEM+199	1000,0	6,2	161,3	1:3
10.		DMEM	1000,0	6,9	144,9	1:3
11.		RPMI	200,0	1,2	166,7	1:4
12.		DMEM+RPMI	300	2,0	150,0	1:3,5
13.	FLK-SBBL	DMEM+199	1000,0	6,4	156,3	1:3
14.		DMEM	1000,0	7,0	142,9	1:2,5
15.		RPMI	200,0	1,1	181,8	1:3,5
16.		DMEM+RPMI	300	1,8	166,7	1:3,5
17.	FLK-71	DMEM+199	1000,0	7,1	140,8	1:2
18.		DMEM	1200,0	7,6	157,9	1:2
19.		RPMI	200,0	1,0	186,0	1:3
20.		DMEM+RPMI	300	2,0	150,0	1:2,5

На підставі результатів проведених досліджень (таб. 3.11) встановлено, що найкращими ростовими властивостями для перещеплюваної культури клітин FLK досліджених субліній володіли поживні середовища, до складу яких входило середовище RPMI (100 %) та поживне середовище DMEM (60 %) та RPMI (40 %), які дозволяли отримати антиген вірусу лейкозу, який був активний у титрі 1:2,5–1:4 з позитивною протилейкозною сироваткою. Активність отриманих антигенів варіювала в залежності від використаної сублінії клітин FLK-BLV.

За результатами визначення впливу різних рецептур поживних середовищ на антигенні властивості перещеплюваної лінії клітин FLK-BLV встановлено, що експериментальні серії антигену, отримані з перещеплюваної лінії клітин FLK-D12VP, не мали активності в РІД за використання різних рецептур поживних середовищ та методичних підходів концентрування вірусутримуючої рідини. Це, на наш погляд, свідчило про непридатність зазначеної лінії клітин для отримання лейкозного антигену.

Що стосується інших ліній клітин FLK-BLV, то нами визначено, що найвищі антигенродукуючі властивості спостерігались у ліній FLK-50/100 та FLK-SBBL, причому за умов використання для їх культивування поживного середовища RPMI або суміші DMEM-RPMI (1,5:1) з додаванням 10 % фетальної сироватки крові ВРХ. Так, антигени, отримані на лініях клітин FLK-50/100 та FLK-SBBL? за умов культивування на поживному середовищі RPMI мали активність з позитивною сироваткою крові на рівні 1:4 та 1:3,5 відповідно. Використання як ростового поживного середовища суміші DMEM-RPMI (1,5:1) дозволило отримати лейкозний антиген з активністю 1:3,5. Що стосується ліній клітин FLK-71 та FLK-Pol, то їхня активність була дещо нижчою (1:3 та 1:2,5 на поживному середовищі RPMI відповідно), але все одно дозволяло отримувати антигени, придатні для використання в реакції імунодифузії після більшого концентрування. Що стосується означених ліній (FLK-71 та FLK-Pol), то використання для отримання вірусвміщуючої рідини суміші поживних середовищ DMEM-RPMI (1,5:1) забезпечувало отримання антигену вірусу лейкозу з активністю 1:2,5. Що стосується використання поживних середовищ DMEM та

DMEM+199 для культивування різних субліній клітин FLK, то антигени, отримані після використання поживного середовища DMEM, зазвичай були менш активними, ніж за використання DMEM+199. Вибір сублінії клітин у цьому випадку мав вплив на активність отриманого антигену, але в усіх випадках їхня активність була нижчою, ніж за умов використання середовищ RPMI або суміші DMEM-RPMI (1,5:1).

Таким чином, проведені дослідження показали, що ростові та антигенпродукуючі властивості перещеплюваних культур клітин FLK істотно залежать від складу поживного середовища та генетичних особливостей використаних субліній. Найкращий ріст клітин і висока антигенпродукуюча активність була зафіксована за умов використання середовища RPMI (100 %) або суміші DMEM (60 %) і RPMI (40 %), з додаванням 10 % фетальної сироватки крові ВРХ за культивування субліній FLK-50/100 та FLK-SBBL, що дозволили отримати антигени, які мали активність з позитивною сироваткою крові на рівні 1:4 та 1:3,5 відповідно. Отже, саме ці лінії є найбільш перспективними для подальшого використання у виробництві антигенів ретровірусної природи.

Результати проведених досліджень було використано під час підготовки патенту на корисну модель [394].

3.3.2 Вивчення чутливості перещеплюваних культур клітин легень ембріону корови та коронарних судин теляти до BIV та BFV.

За результатами вивчення морфології перещеплюваних культур клітин легень ембріону корови та коронарних судин теляти, після внесення короткостроково культивованих лімфоцитів, отриманих від корів, інфікованих вірусом імунодефіциту та спумавірусною інфекцією, встановлено, що впродовж 24 год співкультивування не спостерігалось патологічних змін морфології клітин досліджуваних ліній. Клітини моношару були щільно розташовані та мали чітко окреслені межі, у цитоплазмі відзначалася невелика кількість вакуолей, а ядра характеризувалися типовою овальною формою. (рис. 3.17).

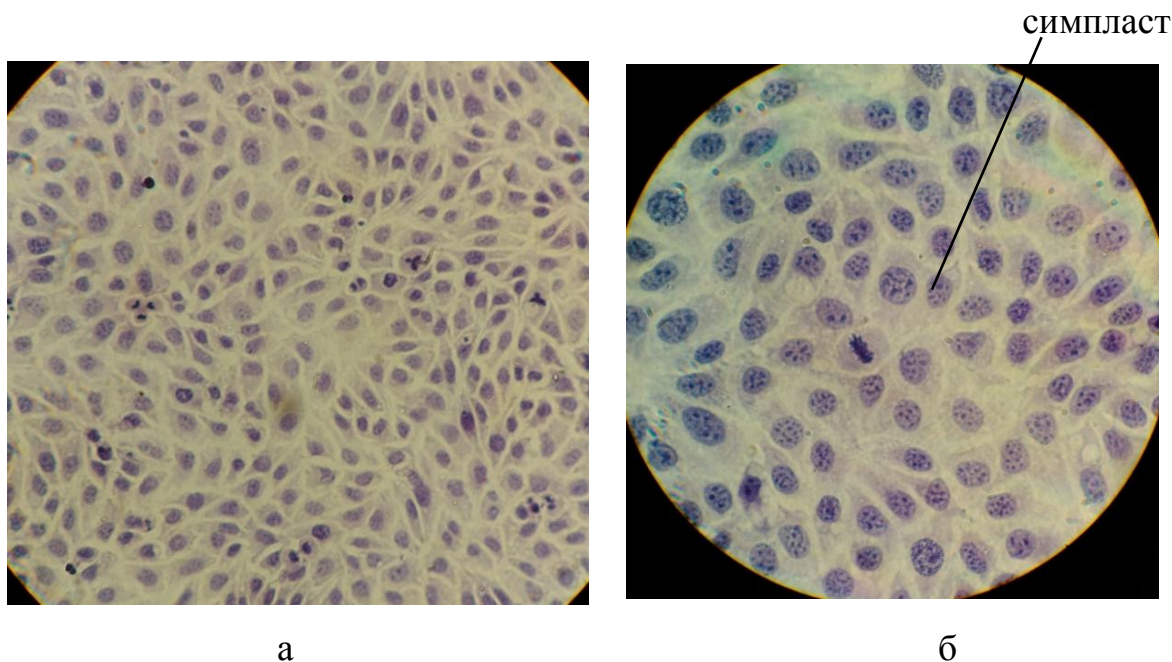
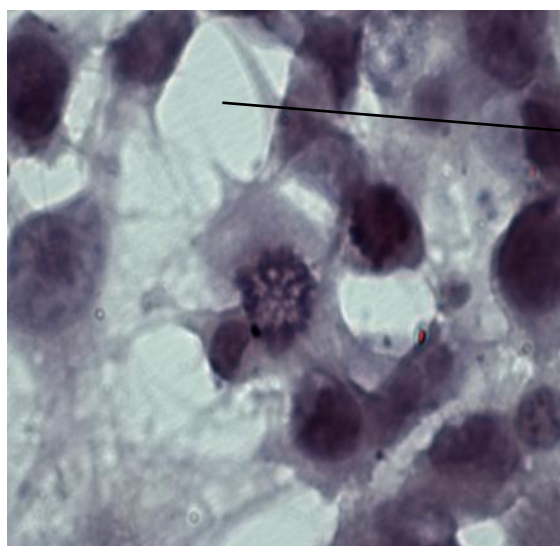


Рис. 3.17. Перещеплювана культура клітин ЛЕК: а — моношар у нормі (контроль); б — симпластоутворення в моношарі на 4-му пасажі після інфікування вірусвміщуючим матеріалом BFV.

Контроль моношару перещеплюваних культур клітин ЛЕК, інфікованих BIV та BFV на рівні 1–3-го пасажів, продемонстрував добре заповнення моношару, при цьому морфологічні характеристики клітин експериментальних культур практично не відрізнялися від контрольних. За результатами дослідження в ПЛР була зафіксована наявність генетичного матеріалу BIV у клітинах моношару на рівні 2-го пасажу та BFV — на рівні 3-го пасажу. На рівні 4–6-го пасажів у культурі клітин, що містить вірус імунодефіциту ВРХ та спумавірус, спостерігалися морфологічні зміни клітин моношару, що мали ознаки симпластоутворення, а саме — у моношарі виявляли богатоядерні збільшені клітини (2–3 ядра) (рис. 3.2б). До того ж, під час пересівання культури клітин стало складніше відокремлювати клітини моношару від скла за використання розчину трипсину-версену.

Спостереження за станом культури клітин на 7–8-му пасажах показало, що попри відсутність істотних змін у культуральному середовищі відзначалося значне зростання кількості мертвих клітин, формування пустот у моношарі та посилення вакуолізації (рис. 3.18).



Деструкція
моношару

Рис. 3.18. Порушення цілісності моношару культури клітин ЛЕК після інфікування BFV (8-й пасаж).

Після інфікування перещеплюваної культури клітин ЛЕК вірусвміщуючим матеріалом BIV та BFV проводили культивування перещеплюваних клітин впродовж 15 пасажів. За результатами дослідження зразків перещеплюваної лінії клітин легень ембріону корови після кожного пасажу за допомогою ПЛР генетичний матеріал збудників спумавірусної інфекції та імунодефіциту ВРХ виявляли в зразках до 11-го та 10-го пасажів культивування відповідно. Надалі, до 15-го пасажу, генетичний матеріал BIV BFV виявити не вдалося (табл. 3.12).

Таблиця 3.12

**Результати співкультивування перещеплюваних культур
ЛЕК та КСТ з вірусвміщуючим матеріалом BIV та BFV**

Термін спостереження, доба	Наявність генетичного матеріалу вірусів (ПЛР)					
	ЛЕК			КСТ		
	ЛЕК+BIV	ЛЕК+BFV	Контр.	КСТ+BIV	КСТ+BFV	Контр.
1	2	3	4	5	6	7
1.	—	—	—	—	—	—
2.	—	+	—	+	+	—
3.	+	+	—	+	+	—
4.	+	+	—	+	+	—

1	2	3	4	5	6	7
5.	+	+	—	+	+	—
6.	+	+	—	—	сумнів.	—
7.	+	+	—	—	—	—
8.	+	+	—	—	—	—
9.	+	+	—	—	—	—
10.	+	+	—	н/д	н/д	н/д
11.	—	+	—	н/д	н/д	н/д
12.	—	—	—	н/д	н/д	н/д
13.	—	—	—	н/д	н/д	н/д
14.	—	—	—	н/д	н/д	н/д
15.	—	—	—	н/д	н/д	н/д

Дослідженням щодо потенційної інтеграції польових ізолятів збудників повільних інфекцій BIV та BFV в перещеплювану культуру клітин коронарних судин теляти встановлено нижчу тропність збудників імунодефіциту та спумавірусної інфекції ВРХ до клітин цієї культури, ніж до культури клітин ЛЕК. Усього було проведено по 9 пасажів означених ізолятів на клітинній лінії коронарних судин теляти.

Щодо молекулярно-генетичного аналізу результатів співкультивування, то на рівні 5-го пасажу результати ПЛР все ще вказували на наявність генетичного матеріалу ретровірусних збудників, у той час як у зразках перещеплюваної культури на рівні 7-го пасажу було отримано негативний результат.

Таким чином, за культивування клітин ЛЕК, інфікованих вірусом імунодефіциту та спумавірусом великої рогатої худоби, на рівні 4–6-го пасажів зафіксовані характерні цитопатичні зміни, зокрема симпластоутворення та ускладнене відокремлення клітин моношару від скла. На пізніших пасажах (7–8) спостерігалось збільшення кількості загиблених клітин, утворення пустот у

моношарі та виражена вакуолізація цитоплазми. Репродукція BVV (підтверджена наявністю генетичного матеріалу) спостерігалась у культурі клітин ЛЕК до 10-го пасажу, в лінії клітин КСТ — до 5-го пасажу. Натомість, генетичний матеріал BVV в культурі клітин ЛЕК виявляли до 11-го пасажу та до 5-го пасажу в клітинах культури КСТ. Відповідно, нами було доведено нижчу тропність збудників імунodefіциту та спумавірусної інфекції ВРХ до клітин перещеплюваної культури КСТ у порівнянні з клітинами ЛЕК.

Отримані результати досліджень було висвітлено в наукових працях [418, 422].

3.3.3 Вивчення чутливості перещеплюваних ліній клітин до ізоляту герпесвірусу 1-го типу

Вивчення чутливості перещеплюваних ліній клітин проводили в рамках вивчення біологічних властивостей польового ізоляту BoHV-1 *in vitro*, виділеного з патологічного матеріалу легень теляти. Після ідентифікації антигенів вірусу за допомогою РІФ та підтвердження наявності його генетичного матеріалу за допомогою ПЛР проводили інфікування перещеплюваних культур клітин MDBK, ЛЕК та HB-2.

Вірусміщуючий матеріал, отриманий з інфікованої BoHV-1 культури клітин нирки теляти, вносили на одnodобовий моношар клітинних ліній за множинності інфікування від 0,125 до 0,00125 ТЦД₅₀/клітину, за початкової інфекційної активності ізоляту BoHV-1 на рівні $10^{4,7}$ ТЦД₅₀/см³.

Облік результатів проводили щоденно за оцінкою ступеня прояву цитопатичного ефекту вірусу, а саме руйнування моношару та змін у морфології клітин: поява округлих клітин, утворення їх скупчень («грона винограду»), відшарування від поверхні скла, що призводило до утворення вікон та повного руйнування моношару культур клітин.

Результати проведених досліджень щодо визначення чутливості перещеплюваних культур клітин до ізоляту BoHV-1 представлено в табл. 3.13.

**Біологічна активність ізоляту вірусу BoHV-1
на різних перещеплюваних культурах клітин**

Культура клітин	Множинність інфікування, ТЦД ₅₀ /клітину	Уражених клітин у моношарі, %			
		24 год	48 год	72 год	96 год
HB-2	0,125	50	100	100	100
	0,0125	25	75	100	100
	0,00125	0	25	75	100
TrT	0,125	25	75	100	100
	0,0125	0	25	50	75
	0,00125	0	0	25	50
ЛЕК	0,125	75	100	100	100
	0,0125	75	100	100	100
	0,00125	0	75	100	100
MDBK	0,125	100	100	100	100
	0,0125	50	100	100	100
	0,00125	0	50	100	100

Аналізуючи отримані результати зі співкультивування польового ізоляту BoHV-1 з лініями клітин MDBK, HB-2, TrT та ЛЕК встановлено, що всі вищеназвані культури клітин є придатними для біотехнології вірусу. Найбільш чутливими виявилися перещеплювані культури клітин MDBK та ЛЕК, на яких спостерігалось 100 %-ве руйнування моношару вже на третю добу за множинності інфікування культури клітин $\geq 0,00125$ ТЦД₅₀/клітину, що вказувало на більшу чутливість означених клітин до вірусу. Руйнування моношару перещеплюваних культур клітин нирки вівці та трахеї теляти зафіксовано на рівні 75 та 25 % відповідно, за тієї ж множинності інфікування та терміну інкубації. Відповідно, на означених культурах клітин спостерігалася нижча активність ізоляту BoHV-1 на відміну від культур клітин MDBK та ЛЕК.

У подальшому нами було проведено визначення інфекційної активності ізоляту вірусу ВоНВ-1 шляхом їх титрації на відповідних культурах клітин (табл. 3.14).

Таблиця 3.14

**Інфекційна активність ізоляту ВоНВ-1 на чутливих
перещеплюваних культурах клітин (за Рідом і Менчем).**

Культура клітин	Титр інфекційної активності, ТЦД ₅₀ /см ³			
	Стартовий показник	I пасаж	II пасаж	III пасаж
MDBK	$10^{4,70}$	$10^{5,00}$	$10^{5,12}$	$10^{5,24}$
TrT	$10^{4,70}$	$10^{4,50}$	$10^{4,75}$	$10^{4,84}$
HB-2	$10^{4,70}$	$10^{4,84}$	$10^{5,24}$	$10^{5,39}$
ЛЕК	$10^{4,70}$	$10^{5,12}$	$10^{5,75}$	$10^{6,12}$

Аналізуючи отримані результати визначено, що найбільший титр інфекційної активності польового ізоляту вірусу ВоНВ-1 було зафіксовано на рівні третього пасажу його культивування (термін спостереження) на чутливих перещеплюваних культурах клітин. Найменш придатною в біотехнологічному плані виявилася перещеплювана культура клітин трахеї теляти, на якій було отримано титр інфекційної активності вірусу ІРТ впродовж трьох пасажів на рівні $10^{4,50}$ – $10^{4,84}$ ТЦД₅₀/см³, що є найнижчим зафіксованим показником серед чутливих культур клітин. Інфекційні активності ізолятів ВоНВ-1, отриманих після культивування на перещеплюваних культурах клітин MDBK та HB-2, були на приблизно однакових рівнях, а саме $10^{5,00}$ – $10^{5,24}$ та $10^{4,84}$ – $10^{5,39}$ ТЦД₅₀/см³ відповідно. Підвищення титру інфекційної активності на означених клітинних лініях упродовж трьох пасажів зафіксовано на 0,54 lg та 0,69 lg ТЦД₅₀/см³ відповідно. Найвищий титр інфекційної активності, а саме $10^{5,12}$ – $10^{6,12}$ ТЦД₅₀/см³, було отримано за культивування вірусу ІРТ на перещеплюваній культурі клітин ЛЕК. Зазначимо, що на означеній культурі клітин упродовж трьох пасажів відмічали підвищення титру інфекційної активності майже на 1,5 lg ТЦД₅₀/см³.

Отже, отримані титри інфекційної активності ізоляту вірусу ІРТ знаходяться в залежності зі ступенем прояву ЦПД на моношарі культури клітин. Також інтенсивність прояву ЦПД залежить від множинності інфікування та чутливості перещеплюваної культури до вірусу. На нашу думку, отримані нами показники інфекційної активності ізоляту вірусу ІРТ виявилися дещо нижчими у порівнянні з притаманними ВоНВ-1, що може бути наслідком недостатньої адаптації вірусу до перещеплюваних культур клітин за обмеженості кількості пасажів.

Таким чином, за результатами вірусологічних досліджень проведено визначення чутливості перещеплюваних культур клітин MDBK, ЛЕК, НВ-2 та ТрТ до польового ізоляту ВоНВ-1. Ізолят вірусу ІРТ характеризувався більш інтенсивною реплікацією та кращою адсорбційною здатністю збудника на перещеплюваних культурах клітин ЛЕК та MDBK, у яких повну деструкцію моношару фіксували вже після 2-ї доби інкубації за мінімальної множинності інфікування 0,00125 ТЦД₅₀/клітину. Використання перещеплюваної культури клітин ЛЕК у порівнянні з іншими чутливими перещеплюваними лініями в біотехнології ВоНВ-1 дозволяє отримати вірусну біомасу з підвищеним титром інфекційної активності на майже 1,5 lg ТЦД₅₀/см³ впродовж трьох пасажів. Отримані результати підтверджують, що рівень вірусної репродукції визначається як дозою інфікування, так і чутливістю перещеплюваної культури клітин до вірусу.

Результати проведених досліджень було висвітлено на міжнародній науково-практичній конференції [426].

3.3.4 Вивчення чутливості кролів, як гетерологічного виду тварин, до спумавірусу та вірусу лейкозу великої рогатої худоби

Вивчення біологічних властивостей спумавірусу ВРХ проводили на кролях, яким вводили підшкірно кров інфікованої корови. Аналізуючи отримані результати, встановлено, що під час молекулярно-генетичного дослідження проб крові від кролів дослідної групи, у чотирьох особин з п'яти було знайдено генетичний матеріал ВРВ вже через п'ятнадцять діб після інокуляції. Повторне

дослідження цієї ж групи тварин, проведене через 30 діб після інокуляції, показало позитивний результат на присутність генетичного матеріалу збудника спумавірусу лише у двох особин. Третє дослідження (45 діб після початку досліду) показало аналогічні до другого результати, а саме генетичний матеріал виявлено у пробах крові двох дослідних кролів. Через 60 діб після інокуляції (четверте дослідження) генетичний матеріал BFV знайдено лише у пробі крові однієї дослідної тварини.

Молекулярно-генетичними дослідженнями доведено, що інфікування кроликів біологічним матеріалом ВРХ, інфікованої збудником спумавірусної інфекції, викликає короточасну, до 60 діб, персистенцію вірусу, яка характеризувалася зміщенням лейкоцитарної фракції клітин крові у бік вираженого лімфоцитозу, не спричиняючи інших суттєвих гематологічних змін в організмі кроликів, що свідчить про розвиток імуносупресивного стану (табл. 3.15).

Таблиця 3.15

**Показники лейкоцитарної фракції крові
у віддалені терміни після інфікування кролів BFV**

Термін, діб	Відносна кількість клітин, %							
	с/я нейтрофіли		п/я нейтрофіли		базофіли		лімфоцити	
	Дослід	Контр.	Дослід	Контр.	Дослід	Контр.	Дослід	Контр.
15	29,4±2,6	25,4±2,6	4,5±1,2	5,6±1,2	1,4±0,5	1,3±0,2	48,3±4,0	47,6±4,0
30	26,6±3,3	23,4±3,3	3,6±1,4	3,8±1,5	0,8±0,4*	2,2±0,3	59,1±3,0	52,2±3,0
45	19,4±2,6*	27,1±1,9	4,5±1,1	4,1±0,7	0,5±0,3*	3,2±0,6	67,3±4,0*	49,4±5,0
60	18,7±2,2	24,6±2,4	5,8±1,4	4,3±1,1	0,8±0,4*	2,6±0,5	85,2±5,0*	51,3±4,0
75	21,2±3,5	26,4±3,7	3,8±1,5	3,2±0,2	0,9±0,4	1,8±0,3	80,6±3,0*	47,6±3,0
90	23,7±2,3*	30,3±2,1	3,3±1,2	4,4±1,2	1,6±0,2	1,6±0,2	81,8±4,0*	49,1±5,0
105	21,9±3,9*	32,5±2,9	3,9±0,7	5,5±1,3	0,8±0,3*	1,8±0,3	88,4±3,0*	50,6±2,0
120	20,8±2,7*	33,4±2,7	4,1±1,1	5,9±1,3	1,2±0,4	1,2±0,1	67,2±5,0*	49,4±6,0

Примітка: * — статистично значуща різниця ($p < 0,05$).

Експериментальне зараження кролів спумавірусом на 30-ту добу після інфікування призводило до незначної активації імунної системи, стан якої згодом змінювався з вираженою супресією неспецифічного імунітету. Збудник спумавірусу спричиняв після інокуляції у кролів прояв пригнічення імунних функцій та суттєве підвищення частки лімфоцитів у лейкоцитарній фракції крові (80–88 %), зниження концентрації циркулюючих імунних комплексів, рівня глобулінів та збільшення серомукоїдів (табл. 3.15, 3.16).

Таблиця 3.16

**Біохімічні показники сироватки крові кролів
у віддалені терміни після інфікування BFV**

№ з/п	Загальний білок, г/л	Альбумін, г/л	Глобуліни, г/л	Циркулюючі імунні комплекси, мг/см ³	Серомукоїди, мг/см ³
1	2	3	4	5	6
До зараження					
Дослід					
1	83,1	59,3	23,8	0,15	0,22
2	59,6	44,8	14,8	0,13	0,22
3	76,9	52,4	24,5	0,13	0,25
4	74,8	49,7	25,1	0,11	0,26
5	72,9	51,1	21,8	0,12	0,22
М ± m	73,5 ± 4,7	49,5 ± 4,9	24,0 ± 0,7	0,13 ± 0,01	0,23 ± 0,008
Контроль					
6	71,2	55,2	16,0	0,11	0,22
7	65,3	45,5	19,8	0,12	0,22
8	75,8	53,1	22,7	0,10	0,23
9	67,0	48,3	18,7	0,10	0,23
10	70,6	54,5	16,1	0,11	0,22
М ± m	69,9 ± 1,2	51,3 ± 1,9	18,7 ± 1,3	0,11 ± 0,004	0,22 ± 0,002

1	2	3	4	5	6
105 діб після зараження вірусом					
Дослід					
1	64,2	45,9	18,3	0,11	0,24
2	61,7	45,3	16,4	0,12	0,30
3	71,2	47,0	24,2	0,11	0,29
4	75,8	50,0	25,8	0,14	0,32
5	70,0	45,3	24,7	0,14	0,32
M ± m	68,6 ± 2,8	46,7 ± 0,9	21,9 ± 1,9	0,124 ± 0,006	0,294 ± 0,016*
Контроль					
6	64,2	45,3	18,9	0,16	0,32
7	79,3	47,0	32,3	0,15	0,26
8	63,2	45,3	17,9	0,18	0,22
9	75,8	46,5	29,3	0,16	0,24
10	78,7	48,2	30,5	0,14	0,21
M ± m	72,2 ± 3,2	46,5 ± 0,6	25,8 ± 2,5	0,158 ± 0,008	0,250 ± 0,022

Примітка:* — статистично значуща різниця ($p < 0,05$).

Щодо результатів інфікування кролів вірусвміщуючим матеріалом BLV (стабілізована кров ВРХ з клінічним проявом захворювання) нами було встановлено первинні гематологічні показники кролів дослідних та контрольних груп. З'ясовано, що кількість еритроцитів та лейкоцитів, рівень гемоглобіну, а також співвідношення формених елементів лейкоцитарної фракції знаходились в межах норми: гемоглобін становив $116,0 \pm 14,0$ г/л, ШОЕ — $2,0 \pm 1,2$ мм/год, еритроцити — $6,8 \pm 0,4 \times 10^6$ /мл, лейкоцити — $5,8 \pm 2,2 \times 10^3$ /мкл. Через 30–45 діб після внесення інфікованої BLV крові спостерігалось підвищення концентрації гемоглобіну на 20–25 одиниць у кролів дослідної групи в порівнянні з контрольною групою, у якої не спостерігалось змін гематологічних показників. На 60-ту добу концентрація гемоглобіну у дослідних тварин та кролів

контрольної групи майже зрівнялась і залишалась такою в подальшому до 135-ї доби. Відмічено, що у тварин дослідної групи в порівнянні з контролем показник швидкості осідання еритроцитів суттєво підвищився на 30-ту добу після експериментального зараження кролів, причому починаючи з 45-ї доби після інокуляції біологічного матеріалу та до кінця експерименту відмічалось зниження значень цього показника. Слід зазначити, що з 60-ї доби показник ШОЕ був у межах норми.

Аналізуючи результати лейкоцитарної формули у тварин дослідної та контрольної груп встановлено, що через 60 діб після інокуляції біологічного матеріалу, що містив BLV, спостерігалось збільшення кількості клітин лейкоцитарної фракції (до $9,1 \pm 0,7 \times 10^9/\text{л}$), передусім, за рахунок підвищення кількості лімфоцитів та паличкоядерних нейтрофілів (табл. 3.17).

Таблиця 3.17

**Динаміка змін концентрації клітин лейкоцитарної фракції
у віддалені терміни після інфікування кролів BLV**

Термін, діб	Клітини лейкоцитарної фракції, %							
	с/я нейтрофіли		п/я нейтрофіли		базофіли		лімфоцити	
	Дослід	Контр.	Дослід	Контр.	Дослід	Контр.	Дослід	Контр.
15	$29,4 \pm 2,6$	$25,4 \pm 2,6$	$4,5 \pm 1,2$	$5,6 \pm 1,2$	$1,4 \pm 0,5$	$1,3 \pm 0,2$	$48,3 \pm 4$	$47,6 \pm 4$
30	$26,6 \pm 3,3$	$23,4 \pm 3,3$	$3,6 \pm 1,4$	$3,8 \pm 1,5$	$0,8 \pm 0,4^*$	$2,2 \pm 0,3$	$59,1 \pm 3$	$52,2 \pm 3$
45	$19,4 \pm 2,6^*$	$27,1 \pm 1,9$	$4,5 \pm 1,1$	$4,1 \pm 0,7$	$0,5 \pm 0,3^*$	$3,2 \pm 0,6$	$67,3 \pm 4^*$	$49,4 \pm 5$
60	$18,7 \pm 2,2^*$	$24,6 \pm 2,4$	$5,8 \pm 1,4$	$4,3 \pm 1,1$	$0,8 \pm 0,4^*$	$2,6 \pm 0,5$	$85,2 \pm 5^*$	$51,3 \pm 4$
75	$21,2 \pm 3,5^*$	$26,4 \pm 3,7$	$3,8 \pm 1,5$	$3,2 \pm 0,2$	$0,9 \pm 0,4^*$	$1,8 \pm 0,3$	$80,6 \pm 3^*$	$47,6 \pm 3$
90	$23,7 \pm 2,3^*$	$30,3 \pm 2,1$	$3,3 \pm 1,2$	$4,4 \pm 1,2$	$1,6 \pm 0,2$	$1,6 \pm 0,2$	$81,8 \pm 4^*$	$49,1 \pm 5$
105	$21,9 \pm 3,9^*$	$32,5 \pm 2,9$	$3,9 \pm 0,7$	$5,5 \pm 1,3$	$0,8 \pm 0,3^*$	$1,8 \pm 0,3$	$88,4 \pm 3^*$	$50,6 \pm 2$
120	$20,8 \pm 2,7^*$	$33,4 \pm 2,7$	$4,1 \pm 1,1$	$5,9 \pm 1,3$	$1,2 \pm 0,4$	$1,2 \pm 0,1$	$67,2 \pm 5^*$	$49,4 \pm 6$
135	$20,8 \pm 2,7^*$	$32,4 \pm 2,7$	$4,0 \pm 1,1$	$5,7 \pm 1,3$	$1,1 \pm 0,4$	$1,3 \pm 0,1$	$68,2 \pm 5^*$	$49,4 \pm 6$

Примітка: * — статистично значуща різниця ($p < 0,05$).

Аналізуючи дані, наведені у табл. 3.16, встановлено, що кількість лімфоцитів зростала вже на 30-ту добу після інокуляції біологічного матеріалу та досягла максимального рівня $88,4 \pm 3,0$ %, у подальшому спостерігалось

Таблиця 3.18

[illegible]

Згідно з аналізом наведених у табл. 3.18 даних, присутність антитіл до BLV виявлена у однієї дослідної тварини через 60 діб після початку досліду. Надалі антитіла до вірусу лейкозу виявляли у двох (75-та доба), трьох (90–105-та доби) та чотирьох (120-та доба) дослідних кролів, що підтверджує результати, отримані під час проведення гематологічних досліджень, а саме розвиток лімфоцитозу починаючи з 60-ї доби спостережень, характерного для розвитку типового інфекційного процесу, властивого для лейкозу ВРХ.

Проведеним дослідженням було експериментально доведено можливість вірусу лейкозу та спумавірусу великої рогатої худоби долати видовий бар'єр (штучно) і обумовлювати прояв інфекційного процесу у гетерологічних видів тварин, а саме кролів. Це дає можливість використовувати останніх як модель під час вивчення вірусу лейкозу *in vivo*, а, беручи до уваги чутливість до BLV інших видів тварин та враховуючи можливість збудника долати міжвидовий бар'єр (хоч і в штучних умовах), враховувати їхню можливу роль в епізоотичному процесі за лейкозу.

Таким чином, інфікування кролів біологічним матеріалом ВРХ, інфікованої збудником спумавірусної інфекції, призводить до розвитку тимчасового імуносупресивного стану, який характеризується перерозподілом лейкоцитарної фракції крові у бік значного (80–88 %) лімфоцитозу, зниженням на 21,6 % концентрації циркулюючих імунних комплексів, на 15,1 % рівня глобулінів та збільшення на 15,0 % рівня серомукоїдів. Водночас відсутність інших суттєвих гематологічних змін свідчить про помірну, але специфічну імунну дисфункцію, зумовлену впливом вірусу на імунну систему кролів.

Натомість, інокуляція кролям біологічного матеріалу, що містив вірус лейкозу великої рогатої худоби (BLV), призводить до персистенції збудника у 60 % дослідних тварин. Персистенція BLV у кролів не спричиняє суттєвих гематологічних порушень, спостерігається виражений лімфоцитоз, що свідчить про активізацію інфекційного процесу і формування імуносупресивного стану у тварин.

За результатами проведених досліджень опубліковано наукові праці [419, 427].

3.4 Вивчення віруліцидних властивостей окремих хімічних речовин на віруси інфекційного ринотрахеїту та вірусної діареї великої рогатої худоби

Віруси характеризуються значною варіабельністю щодо стійкості до хімічних речовин залежно від їхньої структурної організації, зокрема наявності чи відсутності вірусної оболонки, характеристик поверхні, температури, вологості та органічного забруднення середовища. Оболонкові віруси, такі як ретровіруси, вірус діареї ВРХ та герпесвірус 1-го типу ВРХ зазвичай вразливіші до дезінфектантів, що містять спирти (етанол, ізопропанол), перекис водню, гіпохлорит натрію — за відповідної концентрації та експозиції. Так, віруси можуть зберігати інфекційність на поверхнях (метал, пластик, скло) до 9 діб, але вже за 1 хв інактивуються у разі обробки 62–71 %-м етанолом, 0,5 %-м перекисом водню або 0,1 %-м гіпохлоритом натрію [428]. Натомість, безоболонкові віруси (віруси кишкової групи, гепатити, норовіруси) зазвичай стійкіші до багатьох дезінфектантів, що потребує використання сильніших або специфічно підібраних засобів, таких як альдегіди, перекис, кватернерні амонієві сполуки або комбінації реагентів [28, 346].

Саме тому, що віруси можуть залишатися інфекційно активними на поверхнях, у повітрі чи на контакті з побутовими предметами протягом годин або діб, дезінфекція є ключовим компонентом профілактики передачі інфекцій в системі контролю вірусних хвороб. Зокрема, застосування хімічних дезінфектантів (спирти, гіпохлорити, перекиси) у рекомендованих концентраціях і експозиціях здатне значно знизити вірусне навантаження, зменшуючи ризик горизонтальної передачі вірусів [428]. Слід зазначити, що температура, вологість, інтенсивність сонячного чи ультрафіолетового випромінювання можуть впливати як на ефективність життєздатності вірусів, так і на дію дезінфектантів, що підкреслює необхідність суворого дотримання протоколів дезінфекції, особливо у місцях з високою ймовірністю контакту з вірусними агентами [429].

3.4.1 Вивчення противірусної дії препарату на основі наночастинок церію оксиду на моделі збудника вірусної діареї великої рогатої худоби

Ідентифікація та відновлення інфекційної активності вірусу ВД ВРХ

Задля відновлення біологічних властивостей вірусу діареї ВРХ штаму «ВК-1» проведено 6 послідовних пасажів на перещеплюваній культурі легені ембріону корови (ЛЕК) після отримання з Депозитарію ННЦ «ІЕКВМ», умови збереження в якому становили мінус 70 °С.

Наявність генетичного матеріалу вірусу діареї ВРХ в аліквоті було доведено методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) до та після відновлення його біологічних властивостей впродовж 6 послідовних пасажів. Під час проведення електрофорезу в агарозному гелі спостерігали утворення амплікону на рівні 324/326 п. н. (рис. 3.19).

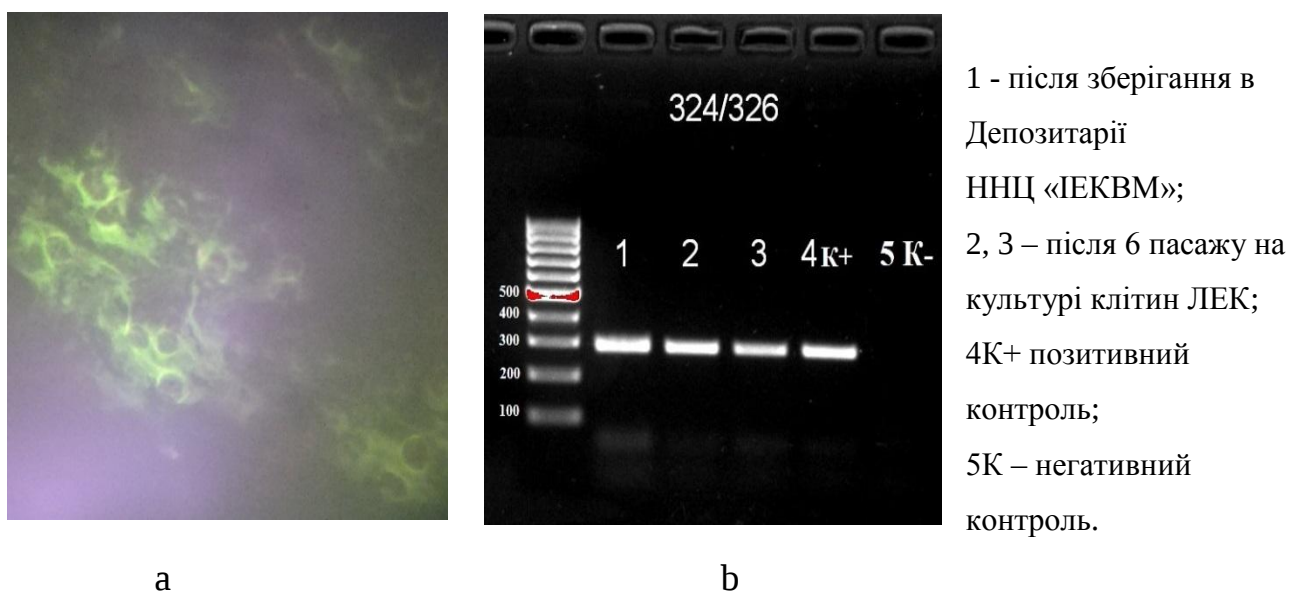


Рис. 3.19. Підтвердження наявності вірусу діареї великої рогатої худоби в досліджуваному матеріалі на 6-му пасажі за допомогою реакції імунофлюоресценції (а) та на 1-му і 6-му пасажах за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (б).

Наявність антигенів BVDV в моношарі культури клітин ЛЕК доведено за допомогою реакції імунофлюоресценції (РІФ), під час якої спостерігали специфічну флуоресценцію антигенів вірусу після обробки дослідного зразка специфічним імунофлюорохромом (рис. 3.19).

За результатами відновлення біологічних властивостей вірусу діареї ВРХ на культурі клітин ЛЕК було встановлено, що титр інфекційної активності збудника становив $6,87 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$ на рівні 6-го пасажу. Означений показник був обраний стартовим під час дослідження ефективності наночасток оксиду церію. Ураховуючи титр інфекційності вірусу ВД штаму «ВК-1» на культурі клітин ЛЕК була визначена стандартна доза інфікування перещеплюваної лінії під час визначення протівірусної ефективності CeO_2 ($100 \text{ ТЦД}_{50}/\text{см}^3$).

Цитотоксичну дію наночасток оксиду церію визначали культивуванням на перещеплюваній культурі клітин ЛЕК з використанням кінцевої концентрації препарату від 0,172 до 0,034 $\text{мкг}/\text{см}^3$ (табл. 3.19).

Таблиця 3.19

Цитотоксичність оксиду церію на клітини перещеплюваної лінії ЛЕК

Концентрація CeO_2 , $\text{мкг}/\text{см}^3$	Показник	Уражених клітин, %
0,172	$M \pm m$	$70,0 \pm 5,00$
	$Q_2 [Q_1 - Q_3]$	75,0*
0,086	$M \pm m$	$50,0 \pm 7,91$
	$Q_2 [Q_1 - Q_3]$	50,0*
0,057	$M \pm m$	$4,0 \pm 2,45$
	$Q_2 [Q_1 - Q_3]$	0 [0-10,0]
0,043	$M \pm m$	0
	$Q_2 [Q_1 - Q_3]$	0
0,034	$M \pm m$	0
	$Q_2 [Q_1 - Q_3]$	0

Примітка: $M \pm m$, де M — середнє значення, m — помилка середньоарифметичного; $Q_2 [Q_1 - Q_3]$, де Q_2 — медіана (50 % вибірки), де Q_1 та Q_3 — нижній та верхній квартилі (25 % та 75 % вибірки) * — Q_2 відповідає інтервалу $[Q_1 - Q_3]$.

Аналізуючи результати встановлення цитотоксичного впливу CeO_2 на клітини перещеплюваної лінії ЛЕК визначено, що використання препарату в кінцевій концентрації 0,172 $\text{мкг}/\text{см}^3$ призводило до зміни морфології та зниження життєздатності 50–75 % клітин. Використання препарату в кінцевій концентрації

0,086 мкг/см³ характеризувалося зміною морфології та порушенням цілісності мембрани 25–75 % клітин. Натомість, використання наночастинок оксиду церію в складі поживного середовища в кінцевій концентрації 0,057 мкг/см³ не мало суттєвого впливу на морфологію клітин та цілісність моношару перещеплюваної культури клітин ЛЕК.

Визначення цитотоксичної концентрації CeO_2 на культурі клітин ЛЕК

За результатами проведених досліджень було визначено CC_{50} (рис. 3.20) та граничну допустиму концентрацію (ГДК) наночастинок оксиду церію, яка не впливала на життєздатність клітин та дегенерацію моношару (збереженість моношару клітин на рівні 90–100 %) та становила 0,057 мкг/см³.

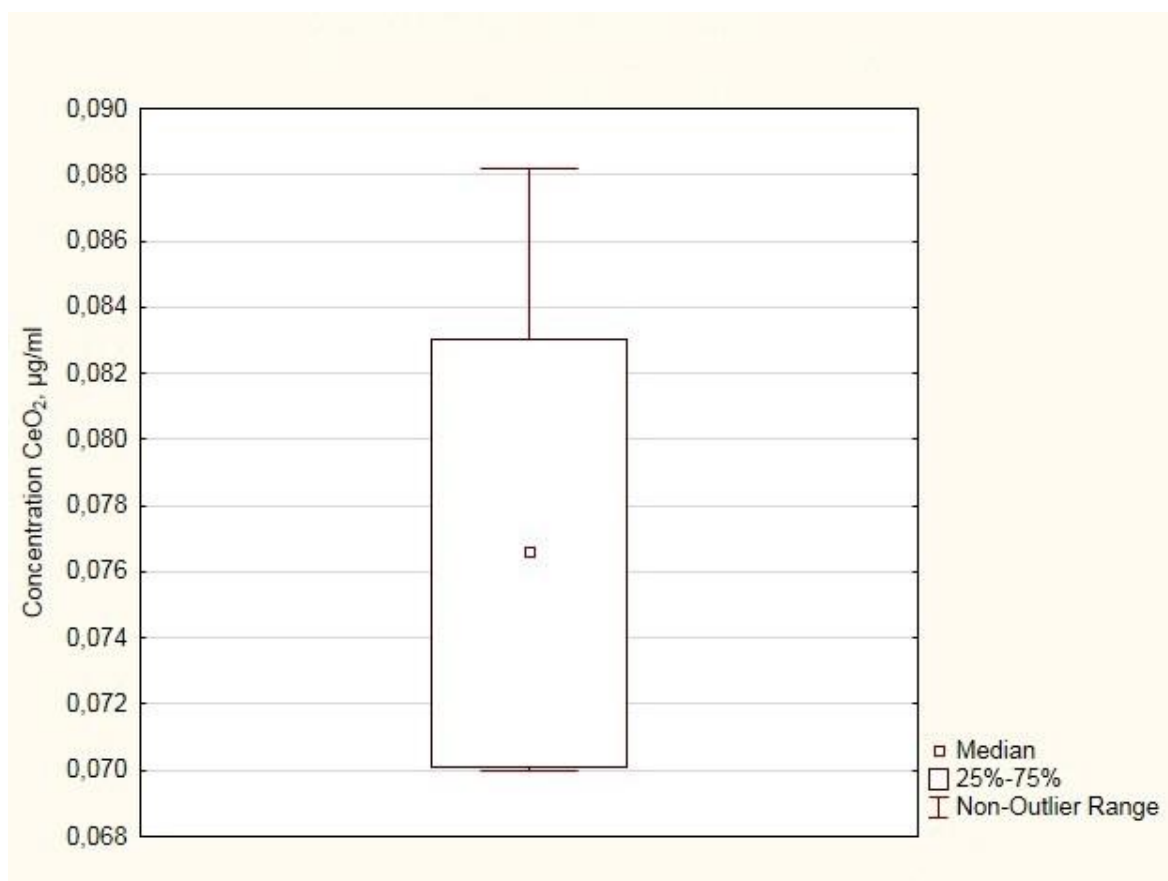


Рис. 3.20. Медіана та інтерквартильний інтервал CC_{50} оксиду церію, візуалізований через непараметричний аналіз Краскела-Уоліса ANOVA та медіанний тест (boxplot).

Наведена на рис. 3.20 візуалізація даних щодо показника цитотоксичної концентрації CeO_2 , яка призводить до загибелі 50 % клітин моношару перещеплюваної культури клітин ЛЕК, виконана з використанням

непараметричного аналізу Краскела-Уоліса ANOVA та медіанного тесту, показує, що концентрація CeO_2 , яка призводить до загибелі 50 % клітин моношару перещеплюваної культури клітин ЛЕК становить $0,077 \text{ мкг/см}^3$.

Визначення протівірусного ефекту наночасток оксиду церію на моделі вірусу діареї ВРХ

Установлено, що 100 %-й прояв цитопатичного ефекту штаму «ВК-1» вірусу діареї ВРХ на перещеплюваній культурі клітин ЛЕК (контрольні зразки) спостерігався вже через 24 год після внесення $100 \text{ ТЦД}_{50}/\text{см}^3$ вірусу. Цей час було обрано для обліку результатів дослідних та контрольних зразків. Упродовж цього часу морфологія клітин та цілісність моношару контрольних зразків культури клітин та контрольних проб з визначення цитотоксичності різних концентрацій CeO_2 залишалися без змін.

Використання наночасток оксиду церію в кінцевій концентрації $0,057 \text{ мкг/см}^3$ призводило до інгібування прояву вірус індукованого ЦПД на перещеплюваній культурі клітин ЛЕК, забезпечуючи збереження морфології клітин та цілісності моношару на рівні 75,0–100,0 % (табл. 3.20).

Таблиця 3.20

Ефективність CeO_2 щодо запобігання прояву індукованого ВД ВРХ цитопатичного ефекту на перещеплюваній культурі клітин ЛЕК

Концентрація, мкг/см^3	Показник	Клітин без зміни морфології та цілісності мембрани, %
0,057	$M \pm m$	$90,0 \pm 6,12$
	$Q_2 [Q_1 - Q_3]$	100,0 [75,0-100,0]
0,043	$M \pm m$	$75,0 \pm 7,91$
	$Q_2 [Q_1 - Q_3]$	75,0*
0,034	$M \pm m$	$50,0 \pm 11,18$
	$Q_2 [Q_1 - Q_3]$	50,0 [25,0-75,0]

Примітка: $M \pm m$, де M — середнє значення, m — помилка середньоарифметичного; $Q_2 [Q_1 - Q_3]$, де Q_2 — медіана (50 % вибірки), де Q_1 та Q_3 — нижній та верхній квартилі (25 % та 75 % вибірки); * — Q_2 відповідає інтервалу $[Q_1 - Q_3]$.

Подальше зниження кінцевої концентрації оксиду церію до $0,043 \text{ мкг/см}^3$ та обробка ним вірусу призводило до збереження морфології та життєздатності клітин моношару на рівні $50,0\text{--}100,0\%$. Що стосується концентрації препарату $0,034 \text{ мкг/см}^3$, то обробка ним вірусу діареї ВРХ перед інфікуванням перещеплюваної культури клітин забезпечувала збереженість $25,0\text{--}75,0\%$ клітин моношару.

Візуалізація даних щодо противірусної ефективності препарату, яка забезпечує захист (інгібування прояву ЦПД вірусу) 50% клітин моношару перещеплюваної культури клітин ЛЕК (IC_{50}), з використанням непараметричного аналізу Краскела-Уоліса ANOVA та медіанний тест представлено на рис. 3.21.

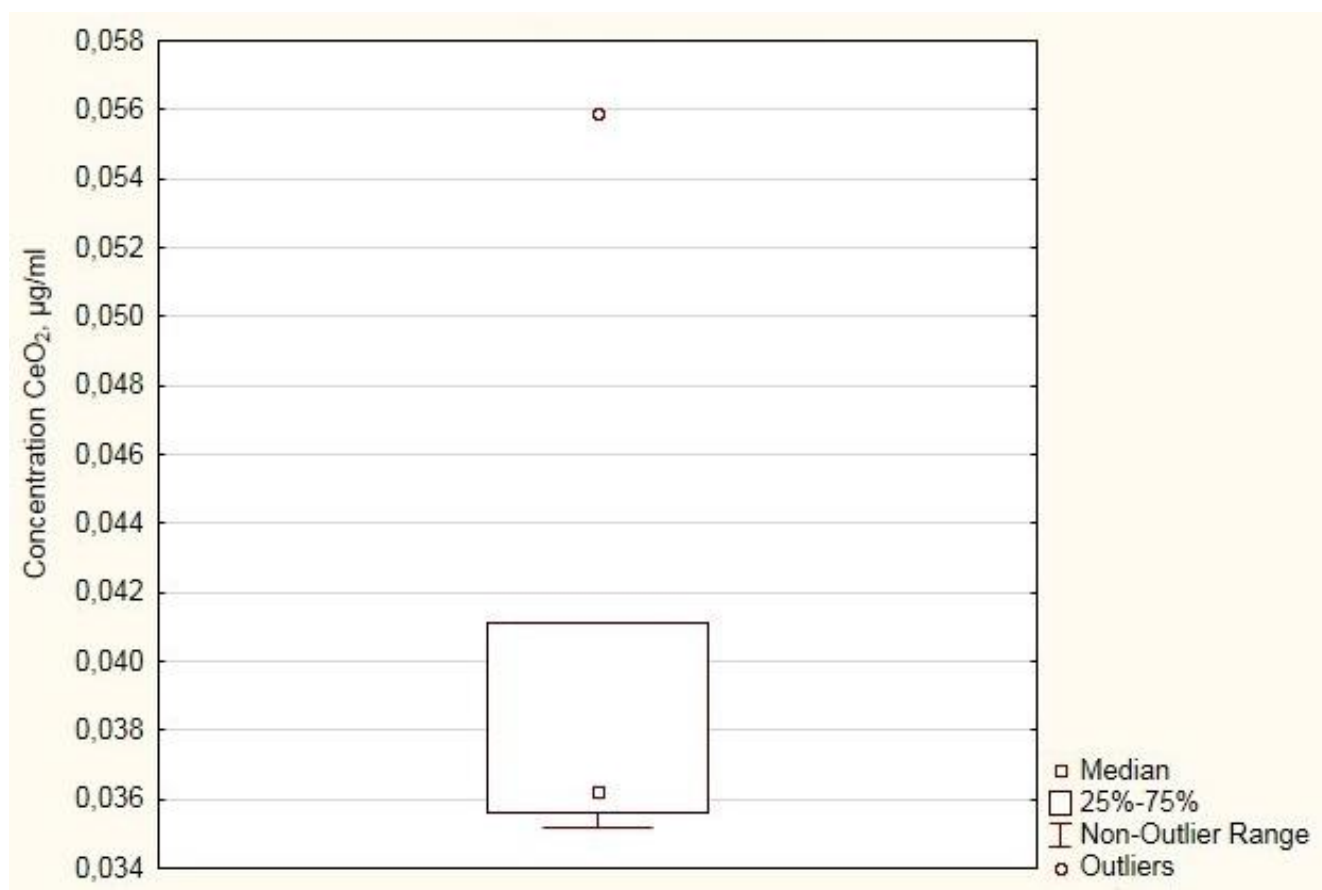


Рис. 3.21. Медіана та інтерквартильний інтервал IC_{50} оксиду церію на перещеплюваній культурі клітин ЛЕК, візуалізований через непараметричний аналіз Краскела-Уоліса ANOVA та медіанний тест (boxplot).

Концентрація CeO_2 , яка забезпечує захист (інгібування прояву вірус індукованого ЦПД) 50 % клітин моношару перещеплюваної культури клітин ЛЕК (IC_{50}), становить $0,036 \text{ мкг/см}^3$

Оцінка інгібуючої активності CeO_2 *in vitro* проводилася, зокрема, за індексом селективності (SI), який становив для означених наночасток 2,14.

З метою визначення впливу наночасток оксиду церію на інфекційну активність вірусу діареї ВРХ було проведено титрацію збудника, отриманого після проведених вище досліджень. Титр інфекційної активності вірусу діареї штаму «ВК-1» на перещеплюваній культурі клітин ЛЕК, отриманого після обробки CeO_2 знижувався у порівнянні з контролем у залежності від концентрації препарату (рис. 3.22).

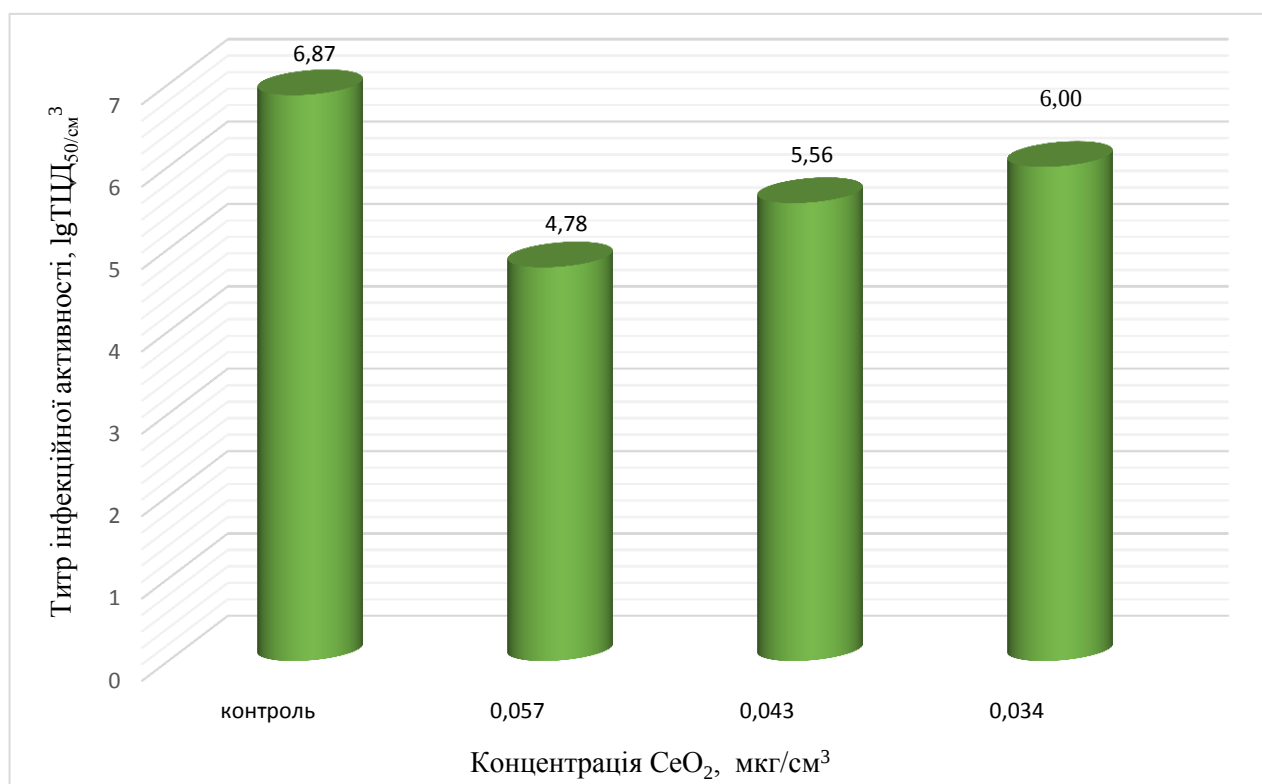


Рис. 3.22. Титр інфекційної активності вірусу діареї ВРХ штаму «ВК-1» на культурі клітин ЛЕК після обробки наночастками CeO_2 .

Використання наночасток оксиду церію в кінцевій концентрації $0,057 \text{ мкг/см}^3$ за умов одночасного його внесення з вірусом діареї ВРХ на перещеплювану культуру клітин ЛЕК призводило до зниження титру інфекційної активності збудника на $2,09 \lg \text{TCID}_{50}/\text{см}^3$ у порівнянні з контролем. Подальше

зниження концентрації CeO_2 до 0,043 та 0,034 мкг/см^3 призводило до зниження титру інфекційної активності збудника на 1,31 та 0,87 $\lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$ відповідно.

На підставі отриманих результатів визначено, що наночастки оксиду церію за одночасного їх внесення з вірусом діареї ВРХ штам «ВК-1» до перещеплюваної культури ЛЕК, проявляють протівірусну активність — інгібують вірусіндукований цитопатичний ефект та знижують інфекційну активність збудника. Узагальнені результати вивчення протівірусної активності наночасток оксиду церію наведено в табл. 3.21.

Таблиця 3.21

**Результати вивчення протівірусної ефективності CeO_2
на перещеплюваній культурі клітин ЛЕК на моделі вірусу ВД ВРХ**

ГДК, мкг/см^3	* CC_{50} , мкг/см^3	* IC_{50} , мкг/см^3	**Титр інфекційної активності, $\lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$	SI
0,057	0,077 [0,070–0,083]	0,036 [0,036–0,041]	Зниження на 2,09	2,14

Примітка: * — $Q_2 [Q_1 - Q_3]$, де Q_2 — медіана (50 % вибірки), Q_1 та Q_3 — нижній та верхній квантілі (25 % та 75 % вибірки) відповідно; ** — за концентрацією CeO_2 0,057 мкг/см^3 .

Таким чином, за результатами проведеного дослідження визначено, що наночастки оксиду церію за одночасного їх внесення з вірусом діареї ВРХ інгібують прояв вірусіндукованого ЦПД (IC_{50} 0,036 мкг/см^3) та знижують на 2,09 $\lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$ титр інфекційної активності збудника, що дозволяє використовувати означений наноматеріал як компонент дезінфекційних розчинів та протівірусних препаратів.

Отримані результати висвітлені в науковій статті [430].

3.4.2.Оцінка віруліцидної дії дезінфікуючого засобу щодо збудників інфекційного ринотрахеїту та вірусної діареї великої рогатої худоби

З метою оцінки цитотоксичності дезінфікуючого препарату на основі суміші четвертинних амонієвих сполук (25,0 %), глутарового альдегіду (11,0 %), ізопропілового спирту, неіоногенних поверхнево-активних речовин (ПАР) були виготовлені його наступні концентрації на поживному середовищі: 0,5, 0,25, 0,1, 0,01 та 0,001 %. На кожне розведення використовували по 5 пробірок з одностодовою культурою клітин. Вносили дезінфектант у пробірки з перещеплюваними культурами клітин НТ та НВ-2 зі 100 %-во сформованим моношаром клітин у відповідних концентраціях після видалення ростового поживного середовища та внесення підтримуючого середовища. Експозиція взаємодії препарату з культурою клітин складала 60 хв, після чого з пробірок зливали дезінфектант і вносили підтримуюче поживне середовище. Цитотоксичну дію визначали за наявністю або відсутністю цитопатичних змін у моношарі культур клітин, яку оцінювали у хрестах. Як контроль використовували по 5 пробірок кожної культури клітин, що заплановані для дослідження зі 100 %-во сформованим моношаром, в яких ростове середовище замінено на підтримуюче (табл. 3.22).

Таблиця 3.22

Результати визначення цитотоксичних властивостей дезінфектанту на культурах клітин НТ та НВ-2

Культура клітин / № пробірки		Цитотоксична дія дезінфектанту/ строк спостереження, годин / концентрація дезінфектанту, %														
		24 год					48 год					72 год				
		0,5	0,25	0,1	0,01	0,001	0,5	0,25	0,1	0,01	0,001	0,5	0,25	0,1	0,01	0,001
1		2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
НТ	1	++++	++++	++++	—	—	++++	++++	++++	—	—	++++	++++	++++	—	—
	2	++++	++++	+++	—	—	++++	++++	++++	—	—	++++	++++	++++	—	—
	3	++++	++++	++++	+	—	++++	++++	++++	+	—	++++	++++	++++	+	—
	4	++++	++++	++++	—	—	++++	++++	++++	—	—	++++	++++	++++	—	—

1		2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
HT	5	++++	++++	+++	—	—	++++	++++	++++	—	—	++++	++++	++++	+	—
HB-2	1	++++	++++	++++	—	—	++++	++++	++++	—	+	++++	++++	++++	—	+
	2	++++	++++	++++	+	—	++++	++++	++++	++	—	++++	++++	++++	++	—
	3	++++	++++	+++	—	—	++++	++++	++++	—	—	++++	++++	++++	+	+
	4	++++	++++	++++	—	—	++++	++++	++++	—	—	++++	++++	++++	—	—
	5	++++	++++	+++	—	—	++++	++++	++++	—	—	++++	++++	++++	—	+

Примітка: облік цитотоксичної дії: «—» — цитотоксична дія відсутня; «+» — руйнування моношару клітин та зміна морфології клітин не більше 10%; «++» — руйнування моношару клітин та зміна морфології клітин до 50 %; «+++» — руйнування моношару клітин та зміна морфології клітин не більше 70%; «++++» — повне руйнування моношару клітин та зміна морфології клітин.

Під час визначення цитотоксичних властивостей дезінфектанту на різних культурах клітин з контактом протягом 60 хв було встановлено, що препарат у розведеннях 0,5, 0,25 та 0,1 % є токсичним для перещеплюваних культур клітин НТ та НВ-2. Спостерігали цитотоксичну дію препарату вже через 24 год з руйнуванням моношару клітин на рівні від 70 % до повної їх загибелі. Дезінфікуючий засіб у розведенні 0,01 % був менш токсичним для перещеплюваних культур клітин, але слід зауважити, що впродовж 72 год його токсичність дещо зростала та характеризувалася руйнуванням моношару клітин та зміною їх морфології на рівні 10–50 %. За дії деззасобу на культуру клітин НТ спостерігали руйнування моношару клітин та зміну їх морфології в окремих зразках на рівні, що не перевищував 10 %. Розведення дезінфікуючого засобу 0,01 % спричиняло появу незначних морфологічних змін у структурі моношару, що проявлялися збільшенням міжклітинного простору без його значного руйнування через 48 та 72 год. У розведенні 0,001 % дезінфектант в культурі клітин НТ не проявляв будь яких ознак негативного впливу, які характеризувалися б морфологічними змінами клітин або руйнуванням моношару протягом 72 год. Що стосується впливу дезінфікуючого засобу в означеній концентрації на культуру НВ-2, то встановлена його незначна токсичність, яка

проявлялася через 24–72 год та характеризувалася зміною морфології не більш, ніж 10 % клітин та збільшенням міжклітинного простору в моношарі.

За результатами спостереження за перещеплюваними культурами клітин НТ та НВ-2, до яких не додавали дезінфікуючого засобу в жодній концентрації (контроль, $n = 5$ для кожної культури клітин), встановлено, що в усіх зразках спостерігалось виповнення моношару на рівні 100 %, а клітини перещеплюваних ліній мали правильну характерну морфологію, яка відповідала паспортним даним. За результатами проведених досліджень з вивчення цитотоксичного впливу дезінфікуючого засобу встановлено, що його найменший вплив на означені культури клітин проявляється в максимальній концентрації 0,001 %.

Під час вивчення віруліцидної активності дезінфікуючого засобу за допомогою суспензійного методу для виготовлення дослідної суміші (вірус-дезінфектант) готували відповідні розведення деззасобу для отримання кінцевої концентрації його в суміші 0,001, 0,01, 0,1 та 0,25 %. З цією метою готували відповідні розведення препарату, а саме 0,01, 0,1, 1,0 та 2,5 %, які додавали в об'ємі 1,0 см³ до 9,0 см³ культуральної вірусної біомаси ($n = 9$ для кожної концентрації). Отриману суміш вірусу-дезінфектанту інкубували за різними температурними режимами, а саме 10, 20 та 37 °C та різними експозиціями, що передбачали контакт впродовж 20, 40 та 60 хв. Після інкубування суміші за відповідним температурним режимом та терміном експозиції, її в об'ємі 0,2 см³ вносили на одноклубову культуру клітин НТ, яка культивувалась у пробірках на ростовому поживному середовищі. На момент внесення суміші ростове середовище було замінено на підтримуюче. На кожне розведення дезінфектанту, на кожну часову експозицію та кожен температурний режим було використано по 5 пробірок з культурою клітин. Крім цього, урахувуючи цитотоксичний вплив дезінфікуючого засобу на культуру клітин в концентраціях більше 0,001 % було проведене відповідне розведення суміші, що пройшла інкубацію за означених режимів. Вищезначені проби інкубували за температури $37,0 \pm 0,5$ °C протягом 4 діб.

Облік результатів дослідів проводили після обліку результатів контрольних зразків — з культурою клітин (збереженість моношару повинна бути на рівні 100 %), з культурою клітин, яка була в контакті з дезінфектантом (збереженість моношару повинна бути не менше 70 %) та оцінки цитопатогенної дії вірусів у відповідних культурах клітин (вона повинна відповідати інфекційній активності вірусів за паспортом).

Віруліцидною активністю дезінфектанту проти означених вірусних збудників вважали його останнє розведення (концентрацію), яке затримувало прояв цитопатичного ефекту вірусів у чутливих культурах клітин (табл. 3.23).

Таблиця 3.23

**Результати вивчення віруліцидної активності дезінфектанту
до збудника ІРТ ВРХ (штам «Молдавський») в культурі клітин НТ**

№ про- бірки	Темпе- ратура інкубації, °C	Цитопатична дія вірусу ІРТ / термін інкубації вірусу з дезінфектантом, хв / концентрація дезінфектанту, %											
		20 хв				40 хв				60 хв			
		0,25	0,1	0,01	0,001	0,25	0,1	0,01	0,001	0,25	0,1	0,01	0,001
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1	10	—	—	++	+	—	—	++	++	—	—	+	—
	20	—	—	+	+	—	—	+	++	—	—	—	++
	37	—	—	—	++	—	—	—	+	—	—	—	++
2	10	—	—	+	+	—	—	+	+	—	—	+	—
	20	—	—	+	++	—	—	—	++	—	—	+	+++
	37	—	—	—	+	—	—	—	+	—	—	—	+
3	10	—	—	+	—	—	—	+	—	—	—	—	++
	20	—	—	+	++	—	—	—	++	—	—	—	—
	37	—	—	—	++	—	—	+	+++	—	—	—	+++
4	10	—	—	++	++	—	—	—	—	—	—	—	++
	20	—	—	—	++	—	—	—	++	—	—	+	++
	37	—	—	+	+	—	—	+	+	—	—	—	+

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
5	10	—	—	+	+	—	—	—	+++	—	—	++	—
	20	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	+++
	37	—	—	+	+	—	—	—	+	—	—	—	+++

Примітка: облік цитопатичної дії: «—» — морфологічні зміни клітин відсутні, моношар на рівні 100 %; «+» — руйнування моношару клітин та зміна морфології клітин не більше 10 %; «++» — руйнування моношару клітин та зміна морфології клітин до 50 %; «+++» — руйнування моношару клітин та зміна морфології клітин більше 70 %; «++++» — повне руйнування моношару клітин та зміна морфології клітин.

З метою обліку цитопатичної дії (ЦПД) збудника інфекційного ринотрахеїту ВРХ проводили мікроскопію культур клітин за допомогою біологічного інвертованого мікроскопу Medline Scientific 3650.0000 CETI Inverso, використовуючи його збільшення у 200 разів (10×20) (рис. 3.23).

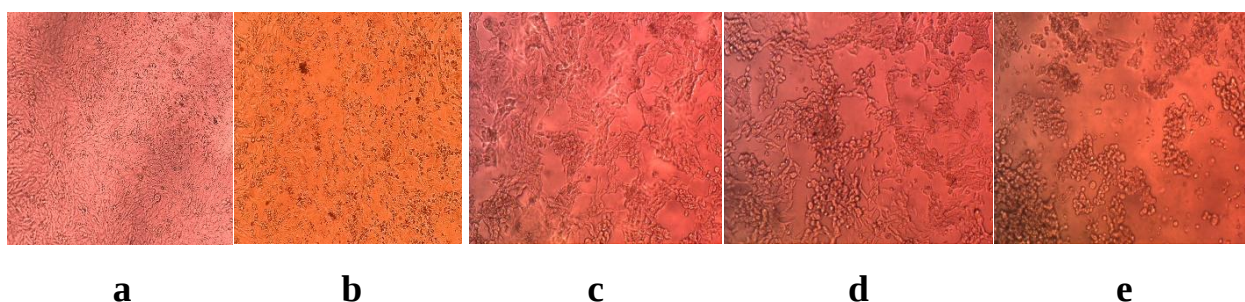


Рис. 3.23. Цитопатична дія вірусу ІРТ у культурі клітин НТ: а — морфологічні зміни клітин відсутні, моношар на рівні 100 %; б — руйнування моношару клітин та зміна морфології клітин не більше 10 %; с — руйнування моношару клітин та зміна морфології клітин до 50 %; d — руйнування моношару клітин та зміна морфології клітин більше 70 %; е — повне руйнування моношару клітин та зміна морфології клітин.

Як видно з таблиці 3.23 досліджуваний дезінфектант проявляє віруліцидні властивості щодо вірусу інфекційного ринотрахеїту (повністю нейтралізує його інфекційні властивості) за кінцевої концентрації не нижче 0,1 % та експозиції не менше, ніж 20 хв. До того ж слід зазначити, що означений препарат проявляє

віруліцидну активність в означеній концентрації та експозиції за температури 10–37 °С. При цьому віруліцидна активність дезінфікуючого засобу до вірусу ІРТ в концентрації 0,01 % була значно нижчою, особливо за умов використання препарату за температури 10 °С, навіть за збільшення експозиції до 60 хв.

Аналогічно було проведено дослідження віруліцидних властивостей препарату щодо збудника ВД ВРХ (штам ВК-1) (табл. 3.24).

Таблиця 3.24

**Результати вивчення віруліцидної активності дезінфектанту
до збудника вірусної діареї ВРХ (штам «ВК-1») в культурі клітин НТ**

№ про- бірки	Темпе- ратура інкубації, °С	Цитопатична дія вірусу ВД ВРХ / термін інкубації вірусу з дезінфектантом, хв / концентрація дезінфектанту, %											
		20 хв				40 хв				60 хв			
		0,5	0,25	0,1	0,01	0,5	0,25	0,1	0,01	0,5	0,25	0,1	0,01
1	10	–	–	+++	+++	–	–	+++	+++	–	–	+++	+++
	20	–	+	+++	++++	–	–	++	++++	–	–	+++	+++
	37	–	+	+++	++++	–	–	++	++++	–	+	++	++++
2	10	–	–	++	++++	–	–	++	++++	–	–	++	++++
	20	–	–	++	++++	–	+	++	++++	–	–	++	+++
	37	–	–	++	++++	–	+	++	+++	–	+	++	++++
3	10	–	+	++	+++	–	–	++	++++	–	–	++	+++
	20	–	–	+++	++++	–	–	+++	++++	–	+	+++	+++
	37	–	+	+++	++++	–	–	++	+++	–	–	+++	+++
4	10	–	–	++	++++	–	–	++	++++	–	–	++	+++
	20	–	–	++	+++	–	+	++	++++	–	–	++	+++
	37	–	++	++	++++	–	–	++	++++	–	–	++	++++
5	10	–	+	++++	++++	–	–	++++	++++	–	–	+++	++++
	20	–	–	+++	++++	–	–	+++	+++	–	–	+++	++++
	37	–	+	+++	++++	–	+	++	++++	–	+	+++	+++

Примітка: облік цитопатичної дії: «–» – морфологічні зміни клітин відсутні, моношар на рівні 100 %; «+» – руйнування моношару клітин та зміна морфології клітин не більше 10 %; «++» – руйнування моношару клітин та зміна морфології клітин до 50 %; «+++» – руйнування моношару клітин та зміна морфології клітин більше 70 %; «++++» – повне руйнування моношару клітин та зміна морфології клітин.

Мікроскопію культур клітин та облік індукованого вірусом діареї ВРХ цитопатичного ефекту проводили за допомогою біологічного інвертованого мікроскопу Medline Scientific 3650.0000 CETI Inverso, використовуючи його збільшення в 100 разів (10×10) (рис. 3.24).

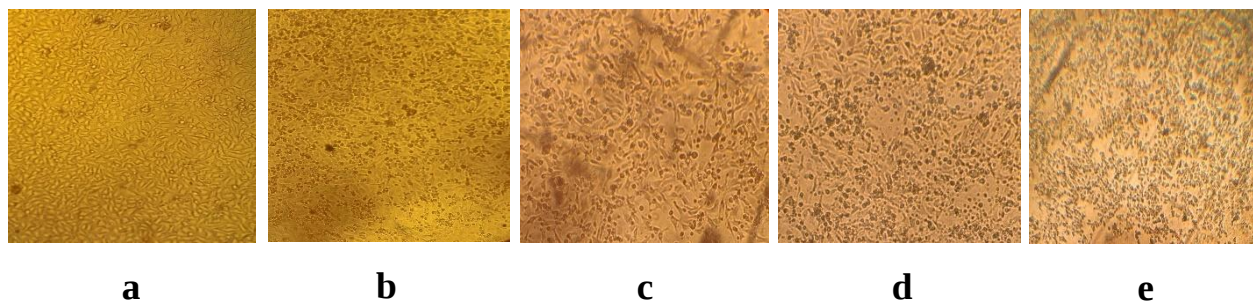


Рис. 3.24. Цитопатична дія вірусу ВД у культурі клітин НТ: а — морфологічні зміни клітин відсутні, моношар на рівні 100 %; б — руйнування моношару клітин та зміна морфології клітин не більше 10 %; с — руйнування моношару клітин та зміна морфології клітин до 50 %; d — руйнування моношару клітин та зміна морфології клітин більше 70 %; е — повне руйнування моношару клітин та зміна морфології клітин.

Як видно з даних, що наведено у табл. 3.24, дезінфікуючий засіб має віруліцидні властивості проти вірусу діареї ВРХ (штам «ВК-1») за концентрації не нижче 0,5 % та експозиції від 20 хв і більше. До того ж слід зазначити, що даний препарат проявляє віруліцидну активність проти збудника ВД ВРХ в означеній концентрації та експозиції за температур від 10 до 37 °С.

За результатами проведених досліджень та отримання позитивних даних щодо віруліцидних властивостей дезінфектанту проти вірусних збудників пневмоентеритів ВРХ суспензійним методом було проведено подальші дослідження на тест-об'єктах. У досліді використовували концентрацію препарату для збудника ІРТ ВРХ — 0,1 %, а для ВД ВРХ — 0,5 % за експозиції 20, 40 та 60 хв.

Після контамінації тест-об'єктів (дерево, метал, кахель, скло, пластик) відповідним вірусвміщуючим матеріалом проводили їх інкубацію за кімнатної температури впродовж 1 год. Стерильні кусочки бавовняної тканини повністю

занурювали до вірусвміщуючої рідини за тією ж експозицією. Після проведення контакту між контамінованими збудниками ІРТ та ВД тест-об'єктами та дезінфікуючим засобом у відповідній концентрації та за експозиції 20, 40, 60 хв з них робили змиви. Отримані зразки досліджували на чутливих культурах клітин (табл. 3.25).

Таблиця 3.25

Результати визначення віруліцидних властивостей дезінфектанту у концентрації 0,1% з використанням тест-об'єктів до вірусу ІРТ ВРХ

Тест-об'єкт	Експозиція, хвилин	Кількість пробірок, шт.	Кількість пробірок з проявом ЦПД, шт.
1	2	3	4
метал	20	5	0
	40	5	0
	60	5	0
контроль культури клітин НК		5	0
контроль вірусу		5	5
кахель	20	5	0
	40	5	0
	60	5	0
контроль культури клітин НК		5	0
контроль вірусу		5	5
скло	20	5	0
	40	5	0
	60	5	0
контроль культури клітин НК		5	0
контроль вірусу		5	5
пластик	20	5	0
	40	5	0
	60	5	0
контроль культури клітин НК		5	0

1	2	3	4
контроль вірусу		5	5
дерево	20	5	0
	40	5	0
	60	5	0
контроль культури клітин НК		5	0
контроль вірусу		5	5
бавовна	20	5	0
	40	5	0
	60	5	0
контроль культури клітин НК		5	0
контроль вірусу		5	5

За результатами проведених досліджень (табл. 3.25) встановлено, що концентрація деззасобу 0,1 % спричиняє інактивацію вірусу інфекційного ринотрахеїту, нанесеного на метал, кахель, скло, пластик, дерево через 20 хв. Бавовна, що була контамінована методом занурення до вірусної маси збудника ІРТ, за замочування в 0,1 %-му розчині препарату знезаражується протягом 20 хв.

Результати дослідження віруліцидної дії препарату за знезараження тест-об'єктів, що були контаміновані вірусом діареї ВРХ, наведено в табл. 3.26.

Таблиця 3.26

Результати визначення віруліцидних властивостей дезінфектанту у концентрації 0,5 % до вірусу діареї ВРХ з використанням тест-об'єктів

Тест-об'єкт	Експозиція, хвилин	Кількість пробірок, шт.	Кількість пробірок з проявом ЦПД, шт.
1	2	3	4
метал	20	5	0
	40	5	0
	60	5	0

1	2	3	4
контроль культури клітин НК		5	0
контроль вірусу		5	5
кахель	20	5	0
	40	5	0
	60	5	0
контроль культури клітин НК		5	0
контроль вірусу		5	5
скло	20	5	0
	40	5	0
	60	5	0
контроль культури клітин НК		5	0
контроль вірусу		5	5
пластик	20	5	0
	40	5	0
	60	5	0
контроль культури клітин НК		5	0
контроль вірусу		5	5
дерево	20	5	0
	40	5	0
	60	5	0
контроль культури клітин НК		5	0
контроль вірусу		5	5
бавовна	20	5	0
	40	5	0
	60	5	0
контроль культури клітин НК		5	0
контроль вірусу		5	5

За даними табл. 3.26 видно, що концентрація препарату 0,5 % спричиняє інактивацію вірусу діареї, нанесеного на метал, кахель, скло, пластик, дерево через 20 хв. Контамінована вірусом діареї бавовна за замочування в 0,5 %-му розчині препарату знезаражується протягом 20 хв.

Таким чином, дезінфікуючий засіб, який складається зі суміші четвертинних амонієвих сполук (25,0 %), глутарового альдегіду (11,0 %), ізопропілового спирту, неіоногенних ПАР, володіє віруліцидними властивостями (повністю нейтралізує інфекційні властивості вірусів) щодо збудників інфекційного ринотрахеїту та вірусної діареї великої рогатої худоби. Застосування препарату у концентрації 0,1 % нейтралізує вірус інфекційного ринотрахеїту за експозиції 20 хв, а у концентрації не менше 0,5 % за експозиції 20 хв інактивує вірус діареї за температури 10–37 °С. Досліджуваний дезінфектант знезаражує тест-об'єкти (метал, кахель, скло, пластик, дерево, бавовна), контаміновані збудниками інфекційного ринотрахеїту та вірусної діареї великої рогатої худоби.

Відповідно, дезінфікуючий препарат може використовуватись для поточної та вимушеної дезінфекції тваринницьких приміщень у господарствах скотарського напрямку.

За результатами проведених досліджень опубліковано наукову працю [431].

РОЗДІЛ 4 АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

Захворювання вірусної етіології є одним із ключових факторів, що суттєво впливають на продуктивність тварин, економічну ефективність галузі скотарства та епізоотичне благополуччя господарств. Особливе місце займають інфекції, що здатні спричиняти персистенцію вірусу в організмі та імуносупресію, які можуть мати як гострий, так і латентний перебіг, що ускладнює їх своєчасну діагностику і контроль. Серед найпоширеніших і найбільш небезпечних вірусних хвороб великої рогатої худоби виділяють вірусну діарею, інфекційний ринотрахеїт та повільні (мінорні) інфекції, найбільш поширеним серед яких є ензоотичний лейкоз ВРХ.

Ураховуючи те, що збудник лейкозу ВРХ споріднений з вірусом Т-клітинного лейкозу людей [432], а нещодавні дослідження підтверджують наявність генетичного матеріалу BLV в тканинах молочної залози людини [433, 434], що може бути підтвердженням онкогенної ролі вірусу у людей, роблять моніторинг та протиепізоотичні заходи щодо захворювання більш актуальними. За результатами проведеного аналізу даних WOAH за період 2021–2025 рр. щодо захворюваності на ензоотичний лейкоз ВРХ в країнах ЄС, на фоні сталої епізоотичної ситуації та збереженні загальної тенденції до помірного покращення в більшості країн європейського континенту, було зафіксовано збільшення на 52 % кількості нових випадків захворювання в 2022–2023 рр., здебільшого за рахунок рф, Румунії та України. Це узгоджується з отриманими нами результатами аналізу даних ДНДІЛДВСЕ, згідно з якими серопревалентність вірусу лейкозу великої рогатої худоби у господарствах України у 2023 та 2024 рр. зросла відповідно на 30,3 і 60,6 % [423].

За даними Корнієнко Л. Я та ін. (2020) протягом 1994–2019 рр. відмічається зменшення кількості неблагополучних господарств та інфікованих тварин, у тому числі за рахунок зменшення загальної кількості великої рогатої худоби в Україні [435]. Аналіз результатів серомоніторингу, проведеного в ДНДІЛДВСЕ, та даних власних досліджень, проведених у 16 господарствах Харківської, Полтавської,

Кіровоградської, Сумської, Одеської, Херсонської, Запорізької та Чернігівської областей, свідчать про продовження означеної тенденції в 2021–2025 рр.

Широкомасштабне впровадження методу ІФА в систему контролю лейкозу в скотарстві України, завдяки більшій його чутливості у порівнянні з РІД, дозволяє виявляти тварин на більш ранніх стадіях інфікування, що впливає на якість протилейкозних оздоровчих заходів [436]. Це підтверджується отриманими нами даними щодо зростання в Україні на 18 % рівня серопревалентності на фоні збільшення на 16 % кількості досліджень методом ІФА у 2020 р. Саме оновлення системи нагляду та контролю за виконанням планів ліквідації лейкозу ВРХ в Полтавській області у 2021 р., порівняно з 2020 р., на думку Тітаренко О. В. та ін. (2022), дозволило зменшити рівень захворюваності на лейкоз у 2,14 разу [437]. Тварини, інфіковані ВЛ ВРХ, протягом 2023–2024 рр., за винятком тимчасово-окупованих територій, де дослідження неможливі, виявлялись по всій території України, окрім Закарпатської, Івано-Франківської та Львівської областей. За результатами проведених нами впродовж 2021–2025 рр. досліджень сироватки крові від 64 672 голів ВРХ окремих господарств України загальний рівень серопревалентності до BLV становив 1,29 %, що понад удвічі вище за дані, отримані з Держпродспоживслужби України (0,53 %). Така різниця може бути зумовлена обмеженням кількості проведених серологічних досліджень лише у господарствах 8 областей України. Слід зазначити, що за результатами дослідження зразків стабілізованої крові від інфікованих ВЛ ВРХ тварин п'яти господарств Полтавської, Харківської, Сумської та Запорізької областей нами було встановлено наявність тварин з гематологічним проявом захворювання на рівні 5,45 %, що підтверджує їх тривалу перетримку в умовах тваринницьких ферм. Отримані нами дані підтверджуються результатами інших дослідників [438] та свідчать про необхідність підвищення кратності проведення серологічних досліджень на лейкоз в Україні, зокрема з використанням ІФА, з обов'язковим посиленням контролю оздоровчих заходів у господарствах.

Спумавірус та вірус імунodefіциту ВРХ — маловивчені представники родини Retroviridae, які не спричиняють клінічних проявів захворювання.

Зважаючи на відсутність даних щодо епізоотичної ситуації з означених мінорних інфекцій нашою метою було вивчення поширення збудників в неблагополучних щодо лейкозу ВРХ господарствах України. Слід зазначити, що такі дослідження проведено в Україні вперше. Проведеними нами дослідженнями було встановлено наявність генетичного матеріалу ВРХ в біологічному матеріалі ВРХ в господарствах Сумської (73,3 %), Кіровоградської (70,0 %), Одеської (55,0 %) та Харківської (30,0 %) областей. Такий рівень превалентності не суперечить дослідженням інших науковців, за якими превалентність у ВРХ щодо спумавірусу в різних країнах світу коливається від 7,0 до 85,0 %, причому на більшості ферм означений показник перевищує 30 % [20]. Отримані нами дані свідчать про активну циркуляцію спумавірусу ВРХ серед поголів'я та можливий потенційний вплив збудника на перебіг інших інфекцій, зокрема лейкозу [424].

Вірус імунодефіциту ВРХ за дослідження біологічного матеріалу нами виявлявся рідше, проте генетичний матеріал збудника було ідентифіковано у 40,0 % зразків з Кіровоградської та Одеської областей, що вказує на необхідність його подальшого моніторингу в Україні. Виявлення асоційованого перебігу ВРХ, ВРХ та ВРХ в господарстві Конотопського району Сумської області узгоджується з результатами інших дослідників та може свідчити про негативний вплив ко-інфекції на імунологічний стан тварин [439], потенційне ускладнення клінічного перебігу захворювань, зокрема спричинених іншими збудниками, зниження продуктивності тварин і підвищення ризику погіршення епізоотичної ситуації [418, 421].

Епізоотична ситуація щодо інфекційного ринотрахеїту та вірусної діареї ВРХ в багатьох країнах Європи залишається напруженою і, здебільшого, залежить від запровадження національних чи регіональних програм контролю [440]. За даними науковців, у країнах європейського континенту реєструється високий рівень ко-інфекції ВРХ-1 та ВРХ у стадах ВРХ [143, 441, 442].

З метою визначення епізоотичної ситуації щодо вірусних пневмоентеритів нами було вивчено поширення вірусів інфекційного ринотрахеїту та вірусної діареї ВРХ в окремих господарствах 9 областей України протягом 2021–2025 рр.

Аналіз результатів серологічних досліджень свідчить про наявність специфічних антитіл до герпесвірусу 1-го типу ВРХ на рівні 95,0 % та вірусу діареї ВРХ на рівні 75 % [420]. Отримані нами данні не суперечать результатам інших дослідників, які зазначають, що серопревалентність до вірусу діареї в стадах ВРХ України становить 67,3 % [443]. Означені високі рівні специфічних антитіл до BVDV та BoHV-1 зумовлені, у тому числі, й широким використанням вакцинації тварин в господарствах України. Нами встановлено, що 83,4 % обстежених господарств використовують комбіновані вакцини, до складу яких входять антигени вірусів ІРТ та ВД, 67,7 % з яких містять живі атенуйовані штами вірусів [420]. Використання живих атенуйованих вакцинних штамів вірусів протягом тривалого часу може призводити до реверсії вірусів та спричиняти зміну бактеріального мікробіому в організмі тварин та призводити до необхідності більш частого застосовування антибіотиків, що може спричинити виникнення антибіотикорезистентності [444, 445]. Незалежно від впроваджених в господарствах заходів профілактики, результати наших досліджень показали виявлення антигенів збудників ІРТ та ВД в зразках біологічного матеріалу на рівні 33,3 та 27,7 % відповідно. Слід зазначити, що завдяки здатності BoHV-1 та BVDV до персистенції та широкій циркуляції виникають періодичні рецидиви захворювання в стадах ВРХ, особливо за відсутності чіткої системи контролю означених хвороб ВРХ [420].

Загалом, аналіз епізоотичної ситуації щодо лейкозу, інфекційного ринотрахеїту та вірусної діареї ВРХ свідчить про неблагополуччя господарств окремих регіонів України протягом досліджуваного періоду. Це дало нам підстави вважати, що в досліджуваних стадах існують умови для активної циркуляції вірусних збудників та їх потенційного поширення різними шляхами, у тому числі механічно завдяки переносникам. За результатами ентомологічних досліджень на території тваринницьких приміщень, прилеглих територій та у природних станціях нами було встановлено, що у 80 % точок збору виявлено комарів (*Culicidae* spp.) та мокреців (*Culicoides* spp.), у 70 % — мух (*Muscidae* spp., *Calliphoridae* spp.), у 30 % — мошок (*Simuliidae* spp.), у 20 % — оводів

(Oestridae spp.). На території тваринницьких приміщень домінували *M. domestica*, *M. autumnalis*, *M. larvipara*, *M. tempestiva*, а також представники родини Calliphoridae. Це мало важливе епізоотологічне значення з огляду на їхню потенційну здатність до механічної передачі збудників через контакт із виділеннями, кров'ю та секретами інфікованих тварин [446]. За результатами молекулярно-генетичних досліджень об'єднаних пулів членистоногих (за родовою належністю) генетичного матеріалу BLV, BoHV-1 та BVDV нами виявлено не було. Відсутність ампліфікованих фрагментів ДНК/РНК досліджуваних вірусів свідчило про недоведеність їх механічного перенесення двокрилими та іншими дослідженими групами комах в умовах неблагополучних господарств [425].

Вірусні захворювання характеризуються високою швидкістю поширення, варіабельністю збудників, часто подібними клінічними проявами або латентним перебігом. Відповідно, лабораторні методи дослідження, зокрема серологічні, відіграють вирішальну роль під час ідентифікації вірусів. Використання РІД і досі залишається важливим інструментом для виявлення антитіл збудників мінорних інфекцій, зокрема лейкозу ВРХ. РІД характеризується простотою виконання, високою специфічністю та можливістю одночасного дослідження декількох зразків, що робить його одним з основних серологічних методів масового виявлення інфікованих BLV тварин [26]. Головним компонентом реакції є антиген, отриманий з культури клітин, інфікованої BLV, найбільш поширеною серед яких є FLK-BLV. Хоча FLK-BLV дуже широко використовується, з метою уникнення контамінації іншими вірусами, а відповідно й для підвищення чутливості реакції, було створено нові лінії, зокрема PO714 [191]. З метою підвищення активності лейкозного антигену нами було проведено визначення активності різних субліній культури клітин FLK-BLV (FLK-50/100; FLK-71; FLK-SBBL, FLK-Pol та FLK-D12VP) з використанням поживного середовища різного складу. Саме використання поживних середовищ різного складу, зокрема завдяки додаванню різних стимулюючих компонентів, сприяє експресії вірусу та підвищує якість антигену [447]. Проведеними нами дослідженнями встановлено,

що оптимальні ростові властивості перещеплюваних субліній культури клітин FLK спостерігалися за культивування в середовищах, які містили RPMI у концентрації 100 % або суміш DMEM (60 %) і RPMI (40 %). До того ж встановлено, що рівень активності антигенів змінювався залежно від субліній клітин FLK-BLV [394]. Найбільша активність лейкозного антигену була зафіксована на перещеплюваних лініях FLK-SBBL та FLK-50/100 за умов культивування на поживному середовищі RPMI або DMEM-RPMI (1:3,5–1:4). Що стосується ліній клітин FLK-71 та FLK-Pol, то активність антигену, отриманого з них на вищезначених середовищах була на задовільному рівні (1:2,5–1:3,5), що свідчить про можливість використання цих субліній за умов проведення селективного клонування та підбору поживних середовищ.

Проведені нами дослідження щодо визначення біологічних властивостей ізолятів BIV та BFV на перещеплюваних культурах ЛЕК та КСТ дозволили комплексно оцінити тропізм цих збудників, прояв ЦПД та тривалість їх реплікації в процесі пасажування. Дослідженням культур клітин ЛЕК і КСТ упродовж першої доби після інфікування встановлено відсутність патологічних змін морфології клітин та цілісності моношару — моношар був суцільним, клітини мали чіткі міжклітинні межі, типову форму ядер та мінімальні ознаки вакуолізації. Відсутність вірусіндукованого ЦПД на ранніх етапах співкультивування відповідає біологічним особливостям ретровірусів, для яких характерна повільна реплікація та латентний початок інфекційного процесу [448]. На рівні 2–3-го пасажів за допомогою ПЛР підтверджено наявність вірусного матеріалу BIV та BFV, хоча морфологічна характеристика клітин культур залишалась близькою до контрольних. Перші цитопатичні зміни було зафіксовано починаючи з 4-го пасажу, коли у культурі ЛЕК відмічали наявність багатоядерних клітин та симпластів. Формування симпластів є типовим проявом дії ретровірусів, що експресують фузогенні поверхневі білки [449]. У подальших пасажах (6–8-й) спостерігалось поступове прогресування ЦПД: поява ділянок «вікон», деструкція моношару, вакуолізація цитоплазми та збільшення кількості мертвих клітин у культуральному середовищі. Наявність означених змін підтверджують дані інших

науковців, отримані за довгострокового культивування спумавірусів і вірусів імунodefіциту на чутливих культурах клітин [31, 450]. Таким чином, розвиток цитопатичних змін має поступовий характер і відображає послідовні стадії продуктивної інфекції.

Дані молекулярно-генетичних досліджень засвідчили, що генетичний матеріал BIV виявлявся у культурі клітин ЛЕК до 10-го пасажу, а BFV — до 11-го. У подальшому генетичний матеріал вірусу не виявлявся, що могло свідчити про завершення циклу активної реплікації, можливу елімінацію інфікованих клітин у процесі пасажування або обмежену здатність вірусів підтримувати продуктивну інфекцію на довготривалих пасажах. Слід зазначити, що використання як біологічної системи культури клітин КСТ забезпечило значно нижчий рівень репродукції вірусу (до 5-го пасажу). Це свідчить про більш низьку чутливість клітин КСТ, у порівнянні з ЛЕК до ізолятів BFV та BIV. Таким чином, інтенсивність та швидкість прояву вірус-індукованого цитопатичного ефекту вірусів різнилася залежно від лінії клітин, що узгоджується з результатами інших дослідників [451]. Отже перещеплювана культура ЛЕК є більш оптимальною моделлю для дослідження BIV та BFV, яка характеризується проявом ЦПД за репродукції вірусу та тривалим накопиченням вірусного матеріалу. Таким чином, отриманні нами данні мають важливе значення для подальших досліджень біології ретровірусів *in vitro* та удосконалення засобів їх діагностики.

Проведені нами дослідження з адаптації польового ізоляту вірусу ІРТ до перещеплюваних культур клітин, дали змогу комплексно оцінити чутливість різних ліній клітин, а саме MDBK, ЛЕК, ТрТ, НВ-2 до герпесвірусу 1-го типу ВРХ. Порівняння чутливості різних клітинних ліній показало, що всі досліджувані культури можуть забезпечувати репродукцію ВоHV-1. Найвищу чутливість продемонстрували перещеплювані культури клітин MDBK та ЛЕК, на яких за множинності інфікування 0,00125 ТЦД₅₀/клітину ступінь руйнування моношару досягала 100 % на 72-гу годину інфікування. Це вказує на високий тропізм польового ізоляту ВоHV-1 саме до цих культур, що узгоджується з біологічними властивостями вірусу, який уражає переважно епітелій дихальних шляхів та

тканину легень телят. Культури НВ-2 та ТрТ виявили нижчу сприйнятливість, що проявлялося уповільненим розвитком ЦПД та менш вираженим руйнуванням моношару (до 75 % і 50 % відповідно за аналогічних умов інфікування). Такий результат може бути зумовлений міжвидовими відмінностями рецепторів культури НВ-2 та нижчою метаболічною активністю епітеліальних клітин ТрТ. Встановлені нами ознаки цитопатичної дії вірусу повністю узгоджуються з типовими проявами інфікування клітин герпесвірусами: округлення клітин, поява характерних скупчень за типом «грон винограду», посилене відшарування від поверхні, утворення мікрівікон та подальше повне руйнування моношару [207]. Етапність розвитку ЦПД корелювала з дозою інфекційного матеріалу, що підтверджує залежність прояву інфекційної активності ВоНВ-1 від концентрації вірусу, рівня адаптованості до клітинної лінії та типу клітин, що узгоджується з попередніми дослідженнями в цьому напрямку [452, 453]. Саме за результатами визначення інфекційної активності ізоляту ВоНВ-1 встановлено, що використання перещеплюваної культури клітин ЛЕК у порівнянні з іншими чутливими перещеплюваними лініями в біотехнології ВоНВ-1 дозволяє отримати вірусну біомасу з підвищеним титром інфекційної активності на майже $1,5 \log \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$ упродовж трьох пасажів. Вірус, отриманий на культурі клітин НТ та НВ-2, характеризувався дещо нижчими титрами за адаптації його впродовж трьох пасажів (на 0,54 та 0,69 $\lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$ відповідно), що може бути наслідком як фізіолого-біохімічних властивостей клітин, так і адаптаційного потенціалу вірусу. Вірус, отриманий на культурі клітин ТрТ, яку ми розглядали як природно споріднену тканину організму-хазяїна, характеризувався найнижчим інфекційним титром ($10^{4,50}$ – $10^{4,84} \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$). Це може свідчити про обмежену репродуктивну здатність ізоляту на означеній клітинній лінії. Отримані дані формують науково обґрунтовану платформу для вибору клітинних систем у майбутніх фундаментальних та прикладних дослідженнях герпесвірусів ВРХ [426].

Більше ніж 60 % збудників хвороб людей походять від тварин [454]. Саме вірусні збудники, які за останні десятиріччя спричиняли тяжкі захворювання у людей, такі як високопатогенний пташиний грип, свинячий грип, коронавіруси,

лихоманка Ебола, пов'язують з походженням від тварин. Віруси набутого імунodefіциту людини (HIV-1) та Т-клітинного лейкозу людини (HTLV-1) ілюструють механізм переходу вірусів від тварин до людини, адаптацію до нового господаря та подальше поширення серед людської популяції. Крім того, відома зоонозна роль мавпячого спумавірусу (SFV) [455], а BIV здатний спричиняти тяжкі імунні та клінічні розлади у кролів, що може слугувати релевантною моделлю для вивчення патогенезу лентівірусних інфекцій [456]. Виходячи з вищенаведеного, метою наших досліджень було вивчення чутливості кролів, як гетерологічного виду тварин, до спумавірусу та вірусу лейкозу ВРХ. Проведені експериментальні дослідження дозволили виявити особливості перебігу інфекційного процесу у кролів після інокуляції вірусвміщуючого матеріалу BFV та BLV. Отримані результати свідчать про здатність обох вірусів долати міжвидовий бар'єр (у штучних умовах) та ініціювати певні патофізіологічні зміни в організмі гетерологічного господаря. Генетичний матеріал BFV виявлявся у 80 % дослідних тварин через 15 діб після інокуляції біологічного матеріалу. Проте, вже на 60-ту добу вірус виявляли лише у 20 % тварин. Це свідчило про те, що інфекційний процес мав транзиторий характер без формування тривалої віремії. Отримані нами данні не підтверджують дослідження Hong Y. U. et al. (2003), в яких після однократного внутрішньовенного інфікування кролів BFV вже через місяць у всіх кролів спостерігалась стабільна сероконверсія протягом року досліджень [457]. За результатами проведених гематологічних досліджень у інфікованих кролів встановлене значне зростання кількості лімфоцитів (до 80–88 %) за одночасного зниження рівня сегментоядерних нейтрофілів. Такий лімфоцитоз супроводжувався відсутністю істотних відхилень інших показників крові, що свідчить про розвиток помірного імуносупресивного стану. Цей ефект може бути наслідком впливу BFV на клітини імунної системи, що зумовлює пригнічення неспецифічних захисних механізмів [422]. Проведені нами біохімічні дослідження підтверджують імуносупресивний ефект BFV, а саме зниження рівня глобулінів та циркулюючих імунних комплексів за одночасного підвищення концентрації серомукоїдів, що свідчить про активацію запального процесу та

перебудову білкового обміну. Зменшення глобулінової фракції в крові є наслідком гуморальної імунної відповіді у інфікованих кролів. Отже, інфікування спумавірусом ВРХ спричиняє у кролів короточасну персистенцію збудника, транзиторні гематологічні зміни, лімфоцитоз та пригнічення окремих ланок імунної системи без клінічно вираженого прояву захворювання [419].

Щодо результатів вивчення можливості використання кролів для вивчення біологічних властивостей BLV *in vivo*, нами була підтверджена можливість реплікації вірусу та його тривале збереження в організмі тварин гетерологічного виду. Генетичний матеріал BLV виявлявся вже на 15-ту добу після інокуляції у 40 % тварин, а з 30-ї по 120-ту доби — у 80 % кролів. Лише на 135-ту добу кількість позитивних проб зменшилася, що свідчить про поступове зниження вірусного навантаження, проте не повне елімінування збудника. За результатами серологічних досліджень встановлено, що антитіла до BLV виявляли, починаючи з 60-ї доби після інфікування. Це підтверджує розвиток типової гуморальної імунної відповіді, характерної для вірусів родини *Retroviridae*.

Гематологічні дослідження підтвердили схожі тенденції з результатами, отриманими під час вивчення BFV на кролях: спостерігали виражений лімфоцитоз (до 88 %), незначне підвищення кількості паличкоядерних нейтрофілів і відновлення показників ШОЕ до норми з 60-ї доби. Зміни були більш стабільними і тривалими, що може свідчити про персистуючий характер інфекції BLV у кролів. Підвищення гемоглобіну на 30–45-ту доби може бути наслідком активації компенсаторних механізмів у відповідь на вірусне навантаження. Подальша стабілізація показників крові до кінця досліджень вказує на адаптацію організму тварин до інфекційного процесу [427].

Таким чином, за результатами проведених досліджень встановлено, що досліджувані ретровіруси (BFV та BLV) здатні долати видовий бар'єр у штучних умовах та спричиняти певні зміни в організмі кролів. Водночас їхня біологічна активність має різний характер: BFV спричиняє короточасну персистенцію, яка супроводжувалась імуносупресією без вираженої імунної відповіді. BLV проявляв більш стабільну віремію, з формуванням антитіл і типовим лімфоцитозом, що

свідчило про розвиток інфекційного процесу, характерного для ВРХ. Отримані результати підтверджують можливість використання кролів як експериментальної моделі для вивчення біологічних властивостей вірусу лейкозу великої рогатої худоби *in vivo*. Крім того, з урахуванням виявленої здатності вірусів долати видові бар'єри, ці дані мають епізоотологічне значення, оскільки свідчать про потенційну небезпеку поширення збудників ретровірусних інфекцій серед інших видів тварин.

Вивчення противірусної дії препарату на основі наночасток церію оксиду нами було проведене на моделі пестівірусу ВРХ, а саме збудника вірусної діареї, який має високу стабільність та відновлювальну здатність після тривалого зберігання за температури нижче мінус 60 °С. Визначення цитотоксичних властивостей CeO_2 дозволило нам встановити межі безпечних концентрацій препарату для подальших досліджень його противірусної дії на перещеплюваній культурі клітин ЛЕК. Як і для багатьох хімічних речовин, наночастки CeO_2 мають дозозалежний характер впливу, а саме концентрації препарату 0,172–0,086 мкг/см³ призводили до морфологічних змін клітин, часткової деструкції моношару та загибель 50–75 % клітин. Зниження концентрації до 0,057 мкг/см³ не призводило до суттєвих морфологічних змін і забезпечувало збереження життєздатності клітин моношару на рівні 90–100 %.

Визначена нами цитотоксична концентрація препарату, яка призводить до загибелі 50 % клітин моношару (CC_{50}), була на рівні 0,077 мкг/см³, тоді як гранично допустима його концентрація (ГДК), за якої не відбувалося дегенеративних змін у моношарі — 0,057 мкг/см³. Ці результати підтверджують високу біосумісність CeO_2 , що узгоджується з даними інших дослідників про низьку токсичність наночасток оксиду церію для перещеплюваних культур клітин [458, 459].

Застосування CeO_2 у концентрації 0,057 мкг/см³ забезпечувало інгібування цитопатичного ефекту вірусу діареї ВРХ штаму «ВК-1» на перещеплюваній культурі клітин ЛЕК. У контрольних зразках 100 % ЦПД спостерігалось через 24 год після інфікування, тоді як у дослідних зразках, оброблених CeO_2 ,

морфологія клітин та цілісність моношару зберігались на рівні 75–100 %. Подальше зниження концентрації препарату до 0,043 і 0,034 мкг/см³ призводило до зменшення протівірусного ефекту, що свідчить про дозозалежний характер інгібуючої дії наночастинок CeO₂. З метою оцінки ефективності нанопрепарату нами було розраховано показник інгібуючої концентрації препарату, яка пригнічує вірусіндукований цитопатичний ефект (ЦПД) в 50 % клітин моношару (IC₅₀) та яка становила для CeO₂ 0,036 мкг/см³. Отримані нами дані були підтверджені результатами визначення інфекційної активності вірусу після обробки CeO₂ — зниження титру вірусу відбувалось на 2,09 lg ТЦД₅₀/см³ у порівнянні з контрольними пробами за концентрації 0,057 мкг/см³, на 1,31 lg ТЦД₅₀/см³ — за 0,043 мкг/см³ та 0,87 lg ТЦД₅₀/см³ — за 0,034 мкг/см³.

На основі отриманих результатів нами було розраховано індекс селективності (SI), який характеризує співвідношення токсичної та протівірусної дії препарату. Для наночастинок оксиду церію цей показник становив 2,14, що свідчить про виражену протівірусну активність препарату за умови мінімальної цитотоксичності в досліджених концентраціях. Такі показники вказують на перспективність використання наночастинок оксиду церію у складі протимікробних і протівірусних засобів [302].

Отримані нами результати свідчать, що наночастки оксиду церію мають виражену протівірусну активність проти BVDV, яка проявляється у пригніченні реплікації вірусу, зниженні цитопатичного ефекту та зменшенні титру інфекційної активності. Результати узгоджуються з даними інших дослідників, які вказують на антивірусний потенціал наночастинок рідкоземельних металів, зокрема CeO. Механізм протівірусної активності CeO₂, імовірно, пов'язаний із його окисно-відновною активністю та здатністю до динамічної зміни валентних станів $\text{Ce}^{3+} \leftrightarrow \text{Ce}^{4+}$, що сприяє регенерації антиоксидантного потенціалу клітини-господаря [460], що може зменшувати рівень окисного стресу, який супроводжує вірусну інфекцію. Водночас, встановлені параметри $\text{CC}_{50} = 0,077$ мкг/см³, $\text{IC}_{50} = 0,036$ мкг/см³ та $\text{SI} = 2,14$ можуть бути використані як орієнтовні показники для подальших досліджень фармакодинаміки та оптимізації дозувань CeO₂ у

системах *in vitro* та *in vivo*. Отримані дані дозволяють розглядати CeO_2 як перспективну основу для створення нових противірусних нанопрепаратів ветеринарного призначення [430].

Ураховуючи те, що якісне проведення ветеринарно-санітарних заходів на будь-яких тваринницьких підприємствах є запорукою сталого епізоотичного благополуччя поголів'я, у т. ч. щодо економічно значущих хвороб ВРХ вірусної етіології [320], нами було проведена оцінка віруліцидної дії дезінфікуючого засобу (суміш четвертинних амонієвих сполук (25,0 %), глутаровий альдегід (11,0 %), ізопропіловий спирт та неіоногенні ПАВ) щодо збудників ІРТ та ВД ВРХ. Саме суміш означених компонентів проявляє дезінвазійні властивості навіть щодо тест-культури яєць *Ascaris suum* [357]. У дослідженні було вивчено цитотоксичність та віруліцидну активність засобу в концентраціях 0,5, 0,25, 0,1, 0,01 та 0,001 % на перещеплюваних культурах клітин НТ та НВ-2 за експозиції 60 хв. Отримані нами дані свідчать, що препарат проявляв яскраво виражену цитотоксичність у розведеннях 0,5, 0,25 та 0,1 % вже через 24 год після 60-хвилинного контакту спостерігалось руйнування моношару на рівні 70 % і більше — до повної загибелі клітин. Це свідчить про те, що ці робочі концентрації непридатні для застосування у випробуванні на культурах клітин. Розведення 0,01 % продемонструвало помірну цитотоксичність: спочатку мінімальні морфологічні зміни, які впродовж 48–72 год підсилювалися та характеризувалися руйнуванням моношару (10–50 %). Такий прояв цитотоксичності може вказувати на відстрочений або накопичувальний ефект компонентів деззасобу в означеному розведенні, що унеможливило використання означеної концентрації в дослідженні на перещеплюваних культурах клітин. Ураховуючи те, що розведення 0,001 % практично не проявляло цитотоксичності для культури НТ протягом 72 год, а для культури клітин НВ-2 характеризувалось незначними змінами ($\leq 10\%$) воно було обране як гранично допустима концентрація для визначення віруліцидної дії препарату.

Вивчення віруліцидної активності дезінфікуючого засобу в різних концентраціях проводили за трьома температурними режимами — 10, 20 і 37 °C

та різними експозиціями — 20, 40 і 60 хв, що корелює зі звичайними умовами, притаманними тваринницьким. За результатами проведених досліджень визначено, що дезінфектант повністю інактивував вірус (відсутність ЦПД у культурі клітин) на культуру клітин НТ за кінцевої концентрації не нижче 0,1 % та експозиції ≥ 20 хв за температур 10–37 °С. За концентрації 0,01 % віруліцидна активність була значно нижчою, особливо за 10 °С, навіть за 60 хв експозиції. Що стосується віруліцидного впливу дезінфектанту на вірус діареї ВРХ, то вона проявлялася за вищих концентрацій: повна інактивація збудника відбувалась за кінцевої концентрації препарату не нижче 0,5 % та експозиції ≥ 20 хв за температур 10–37 °С. Таким чином мінімально ефективні віруліцидні концентрації за визначення їх суспензійним методом за експозиції 20 хв для вірусу ІРТ становили 0,1 %, а для збудника ВД ВРХ — 0,5 %. Це підтверджує дослідження, де було доведено ефективність дії препарату в концентрації 0,1 % на віруси пташиного грипу та ньюкаслської хвороби на курячих ембріонах [356]. Зі зниженням концентрації ефективність різко падає, особливо за низької температури. Отже, наші дослідження узгоджуються з твердженням Карес Т. et al. (2024), що ефективність препарату як біоциду залежить від типу вірусу та його концентрації [30].

З метою підтвердження віруліцидної дії препарату за обробки контамінованих вірусами поверхонь (метал, кахель, скло, пластик, дерево) та бавовни (замочування) нами було досліджено препарат у концентрації 0,1 % (для збудника ІРТ) та 0,5 % (для збудника ВД). Отримані результати підтвердили, що препарат забезпечував повну (100 %) інактивацію збудника через 20 хв експозиції за кімнатної температури, що демонструє практичну придатність препарату для знезараження різних інертних поверхонь за вказаних концентрацій. На прикладі використання бавовни, як пористого матеріалу, доведено ефективність використання дезінфектанту для знезараження за зазначених концентрацій і експозицій, що важливо для дезінфекції текстильних предметів, зокрема одягу.

Таким чином, зважаючи на те, що обраний режим дезінфекції повинен ураховувати віруліцидні властивості препарату та безпеку для об'єктів/персоналу

тварин [365], отримані нами дані свідчать, що концентрації, за яких досягається повна віруліцидна дія препарату на віруси ІРТ та ВД (0,1–0,5 %), одночасно є токсичними для живих клітин під час дослідження *in vitro* (цитотоксичність ≥ 70 % при концентрації 0,1 % і вище). Це означає, що досліджений дезінфікуючий засіб для досягнення повноцінного віруліцидного ефекту в умовах тваринницьких приміщень не слід застосовувати у присутності тварин [431].

ВИСНОВКИ

1. У дисертаційній роботі представлено аналіз епізоотичної ситуації щодо лейкозу, ІРТ та ВД ВРХ в Україні та Європі; дані щодо поширення збудників імунodefіциту та спумавірусної інфекції ВРХ в господарствах дев'яти областей України; інформацію щодо ролі членистоногих у механічному поширенні BLV, BoHV-1 та BVDV. Визначено сублінії культури клітин FLK-BLV та запропоновано оптимальний склад поживних середовищ, що забезпечило підвищення накопичення лейкозного антигену за його виробництва. Представлено результати вивчення *in vitro* та *in vivo* біологічних властивостей збудників вірусних хвороб ВРХ: чутливість перещеплюваних культур клітин рогатої худоби до ізолятів BIV та BFV та біологічні властивості польового ізоляту BoHV-1 на них, а також чутливості кролів як гетерологічного виду тварин до BFV та BLV. Оцінено на культурі клітин цитотоксичну та противірусну дію препарату на основі наночасток церію оксиду. Представлено результати визначення віруліцидної дії дезінфікуючого засобу на основі четвертинних сполук амонію та глутарового альдегіду на BVDV та BoHV-1.

2. Застосування стратегії «stamping-out» в країнах Європи забезпечує успішне викорінення захворювання в більшості країн ЄС. Водночас, у країнах Східної Європи (зокрема рф, Румунія, Україна, Польща), лейкоз ВРХ й досі залишається актуальною проблемою, підтвердженням чого є систематичне виявлення інфікованих тварин та, відповідно, зростання на 52 % чисельності нових неблагополучних пунктів у 2022–2023 рр.

3. Упродовж 2019–2024 рр. інфіковані ВЛ ВРХ тварини в Україні реєструвалися практично по всій території країни, за винятком Закарпатської, Івано-Франківської та Львівської областей. На тлі позитивної динаміки зниження рівня превалентності лейкозу ВРХ впродовж 2020–2022 рр. з 0,65 до 0,33 % встановлено деяке погіршення епізоотичної ситуації щодо захворювання, зумовлене зокрема й військовою агресією рф, що характеризується зростанням цього показника до 0,53 % у 2025 р. Не останню роль у цьому відіграє зниження

на 9,6–22,9 % рівня охоплення поголів'я ВРХ серологічними дослідженнями впродовж 2019–2024 рр.

4. За результатами власних досліджень окремих господарств встановлено, що серопревалентність лейкозу ВРХ становить 1,62 %, що понад удвічі перевищує цей показник, отриманий під час планових моніторингових досліджень по Україні. Отримані нами результати свідчать про значну варіабельність інфікованості тварин ВЛ ВРХ в обстежених господарствах — від 0,07 до 46,89 % з причини перетримки вірусоносіїв в окремих обстежених стадах, про що свідчить індикація тварин з гематологічним проявом хвороби на рівні 5,45 %.

5. Уперше виявлено циркуляцію ВРВ та ВІВ в стадах ВРХ України. Найвищі рівні інфікування ВРВ великої рогатої худоби зафіксовано в господарствах Кіровоградської (70,0 %), Сумської (73,3 %), Одеської (55,0 %) та Харківської (30,0 %) областей, тоді як інфікованих ВІВ тварин виявляли в стадах Кіровоградської та Одеської областей на рівні 40,0 %. Асоційована персистенція трьох ретровірусів (ВРВ, ВІВ та ВЛВ) була виявлена в 14,3 % обстежених господарств, а домінантними ко-інфекціями були ВЛВ та ВРВ (26,7 %).

6. Антигени ВoНV-1 виявляються досліджених зразках біологічного матеріалу від тварин у 33,3 %, а ВVДV — у 27,7 % обстежених господарств на тлі напруженості специфічної імунної відповіді до вірусу ІРТ на рівні 94,7 %, а до вірусу ВД ВРХ — 75,1 %. Попри високий рівень гуморальної імунної відповіді у тварин обстежених господарств до вірусів ІРТ та ВД, у 44,4 % стад реєстрували респіраторний прояв захворювання, у 11,1 % — кишковий, у 16,7 % — репродуктивний та у 16,7 % — полісимптомний.

7. Генетичний матеріал ВЛВ, ВoНV-1 та ВVДV в пулах ($n = 49$) членистоногих (*Culicoides* spp., *Muscidae* spp., *Calliphoridae* spp., *Simuliidae* spp., *Oestridae* spp.), зібраних на території тваринницьких приміщень, прилеглої до них територій та природних стацій, виявлено не було, а, відповідно, і роль вищезначених комах у механічному розповсюдженні збудників лейкозу, ІРТ та ВД наразі не доведено.

8. Найвищу антигенпродукуючу активність проявляють сублінії перещеплюваної культури клітин FLK-BLV FLK-50/100 та FLK-SBBL, отримані шляхом розведення до низької клоногенної щільності та в подальшому культивовані на поживних середовищах, до складу яких входить середовище RPMI (90 %) або суміші DMEM та RPMI у співвідношенні 1,5:1, з додаванням 10 % фетальної сироватки крові ВРХ. Використання субліній клітин FLK-50/100 та FLK-SBBL дозволяють отримати антигени вірусу лейкозу, які мають активність з позитивною сироваткою крові на рівні 1:4 та 1:3,5 відповідно.

9. Починаючи з 4-го пасажу в моношарі клітин перещеплюваної лінії ЛЕК, інфікованої BIV та BFV, фіксуються характерні для вірусів цитопатичні зміни, а саме симпластоутворення, округлення клітин, збільшення кількості загиблих клітин, утворення пустот у моношарі та виражена вакуолізація цитоплазми. Молекулярно-генетичними методами підтверджено, що репродукція BIV спостерігається в культурі клітин ЛЕК до 10-го пасажу, а в лінії клітин КСТ — до 5-го пасажу. Натомість генетичний матеріал BFV в культурі клітин ЛЕК виявляється до 11-го пасажу та до 5-го пасажу в клітинах культури КСТ. Це свідчить про те, що BIV та BFV характеризуються нижчою тропністю до клітин перещеплюваної культури КСТ порівняно з клітинами ЛЕК.

10. Клітинні лінії TrT, MDBK, HB-2 та ЛЕК є чутливими до ВоНВ-1. Репродукція та адсорбційні властивості ізоляту вірусу ІРТ є більш вираженими на перещеплюваних культурах клітин MDBK та ЛЕК — повне руйнування моношару спостерігається на 2–3-тю доби інкубації навіть за множинності інфікування 0,00125 ТЦД₅₀/клітину. Використання перещеплюваної культури клітин ЛЕК у порівнянні з іншими чутливими перещеплюваними лініями в біотехнології ВоНВ-1 дозволяє отримати вірусну біомасу з підвищеним титром інфекційної активності на майже 1,5 lg ТЦД₅₀/см³ упродовж трьох пасажів. Отримані результати підтверджують, що рівень вірусної репродукції визначається як дозою інфікування, так і чутливістю перещеплюваної культури клітин до вірусу.

11. Інфікування кролів біологічним матеріалом, що містить BFV, спричиняє короточасну, до 60 діб, персистенцію вірусу у 80 % дослідних тварин, яка характеризується розвитком тимчасового імуносупресивного стану, що супроводжується перерозподілом лейкоцитарної фракції крові у бік значного (80–88 %) лімфоцитозу, зниженням на 21,6 % концентрації циркулюючих імунних комплексів, на 15,1 % рівня глобулінів та збільшення на 15,0 % рівня серомукоїдів, що свідчить про помірну специфічну імунну дисфункцію. Інокуляція кролям біологічного матеріалу, що містить BLV, призводить до персистенції збудника у 60 % дослідних тварин і характеризується підвищенням упродовж 30 діб концентрації гемоглобіну (на 20–25 од.), показника ШОЕ, кількості лімфоцитів (на 57,0 %) з подальшим зниженням означених показників у віддалені терміни після інфікування.

12. Концентрація SeO_2 , яка призводить до загибелі 50 % клітин моношару перещеплюваної культури клітин ЛЕК (CC_{50}), становить $0,077 \text{ мкг/см}^3$, тоді як гранично допустима концентрація наночасток церію для означеної клітинної лінії є на рівні $0,057 \text{ мкг/см}^3$, за якої, у разі одночасного їх внесення з BVDV, інгібується прояв вірусіндукованого ЦПД ($\text{IC}_{50} = 0,036 \text{ мкг/см}^3$) та знижується на $2,09 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$ титр інфекційної активності збудника, що дозволяє використовувати означений наноматеріал як компонент дезінфекційних розчинів і противірусних препаратів.

13. Дезінфікуючий засіб на основі четвертинних амонієвих сполук (25,0 %) і глутарового альдегіду (11,0 %), ізопропілового спирту, неіоногенних ПАВ проявляє виражені віруліцидні властивості щодо збудників ІРТ та ВД ВРХ, забезпечуючи їх повну інактивацію на різних типах поверхонь (метал, кахель, скло, пластик, дерево, бавовна) за концентрацій не менше 0,1 % для ВоНВ-1 та 0,5 % для BVDV за експозиції від 20 хв за температури 10–37 °С. Це обґрунтовує доцільність застосування препарату для поточної та вимушеної дезінфекції тваринницьких приміщень у скотарських господарствах.

ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ

1. Сублінії перещеплюваної культури клітин FLK-50/100 та FLK-SBBL, отримані шляхом розведення до низької клоногенної щільності та культивовані на поживних середовищах, до складу яких входить середовище RPMI (90 %) або суміші DMEM та RPMI у співвідношенні 1,5:1, з додаванням 10 % фетальної сироватки крові ВРХ забезпечують підвищення антигенпродукуючої активності культури FLK-BLV та дозволяють удосконалити технологію виготовлення антигену вірусу лейкозу для реакції імунодифузії в агаровому гелі (патент України на корисну модель № 156791).

2. Наночастки церію оксиду за їх використання в концентрації $0,057 \text{ мкг/см}^3$ інгібують дію вірусу діареї ВРХ, не проявляють цитотоксичної дії для клітин і можуть бути використані як компонент дезінфекційних розчинів та противірусних препаратів для контролю вірусних захворювань ВРХ.

3. Дезінфікуючий засіб на основі четвертинних амонієвих сполук (25,0 %), глутарового альдегіду (11,0 %), ізопропілового спирту, неіоногенних ПАВ за концентрацій не менше 0,1 %, та експозиції від 20 хв може бути використаний для дезінфекції тваринницьких приміщень у господарствах з утримання великої рогатої худоби.

4. Одержані результати наукових досліджень рекомендуються до використання для підготовки здобувачів вищої освіти за спеціальністю «Ветеринарна медицина» під час викладання курсів «Епізоотологія та інфекційні хвороби тварин», «Ветеринарна мікробіологія», «Епідеміологія та інфекційні хвороби тварин» та «Ветеринарна вірусологія» у закладах вищої освіти України.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Walz, P. H., Chamorro, M. F., Falkenberg, S., Passler, T., Meer, F., & Woolums, A. (2020). Bovine viral diarrhea virus: An updated American College of Veterinary Internal Medicine consensus statement with focus on virus biology, hosts, immunosuppression, and vaccination. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 34(5), 1690–1706. <https://doi.org/10.1111/jvim.15816>.
2. Muylkens, B., Thiry, J., Kirten, P., Schynts, F., & Thiry, E. (2007). Bovine herpesvirus 1 infection and infectious bovine rhinotracheitis. *Veterinary Research*, 38(2), 181–209. <https://doi.org/10.1051/vetres:2006059>.
3. Rhodes, J. K., Pelzer, K. D., & Johnson, Y. J. (2003). Economic implications of bovine leukemia virus infection in mid-Atlantic dairy herds. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 223(3), 346–352. <https://doi.org/10.2460/javma.2003.223.346>.
4. Bhatia, S., Patil, S. S., & Sood, R. (2013). Bovine immunodeficiency virus: A lentiviral infection. *Indian Journal of Virology*, 24(3), 332–341. <https://doi.org/10.1007/s13337-013-0165-9>.
5. Mekata, H., Okagawa, T., Konnai, S., & Miyazawa, T. (2021). Molecular epidemiology and whole-genome analysis of bovine foamy virus in Japan. *Viruses*, 13(6), 1017. <https://doi.org/10.3390/v13061017>.
6. Zhao, Y., Wang, J., Chen, J., Chen, Y., Hu, C., Chen, X., & Guo, A. (2025). Bovine leukemia virus: Origin, prevalence, phylogenetic diversity, risk factors, and strategies for control. *Animals*, 15(9), 1344. <https://doi.org/10.3390/ani15091344>.
7. Moran, P. E., Nieto Farías, M. V., Dolcini, G. L., & Ceriani, M. C. (2025). Infectivity and persistence of bovine leukemia virus in human breast cells: assessing a possible zoonotic link to cancer. *Veterinary Research Communications*, 49(3), 173. <https://doi.org/10.1007/s11259-025-10738-4>.
8. Esteves, P. J., Abrantes, J., Baldauf, H.-M., BenMohamed, L., Chen, Y., Christensen, N., González-Gallego, J., Giacani, L., Hu, J., Kaplan, G., Keppler, O. T., Knight, K. L., Kong, X.-P., Lanning, D. K., Le Pendu, J., de Matos, A. L., Liu, J., Liu, S., Lopes, A. M., Lu, S., & Mage, R. (2018). The wide utility of rabbits as models

of human diseases. *Experimental & Molecular Medicine*, 50(5), 1–10. <https://doi.org/10.1038/s12276-018-0094-1>.

9. Genzel, Y. (2015). Designing cell lines for viral vaccine production: Where do we stand? *Biotechnology Journal*, 10(5), 728–740. <https://doi.org/10.1002/biot.201400388>.

10. Shen, C. F., Rodenbrock, A., Lanthier, S., Burney, E., & Loignon, M. (2024). Optimization of culture media and feeding strategy for high titer production of an adenoviral vector in HEK 293 fed-batch culture. *Vaccines*, 12(5), 524. <https://doi.org/10.3390/vaccines12050524>.

11. Wang, P., Huang, S., Hao, C., Wang, Z., Zhao, H., Liu, M., Tian, X., Ge, L., Wu, W., & Peng, C. (2021). Establishment of a suspension MDBK cell line in serum-free medium for production of bovine Alphaherpesvirus-1. *Vaccines*, 9(9), 1006. <https://doi.org/10.3390/vaccines9091006>.

12. Merten, O. W., Hannoun, C., Manuguerra, J. C., Ventre, F., & Petres, S. (1996). Production of influenza virus in cell cultures for vaccine preparation. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 397, 141–151. https://doi.org/10.1007/978-1-4899-1382-1_19.

13. Capes-Davis, A., & Freshney, R. I. (2021). *Freshney's Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique and Specialized Applications* (8th ed.). Wiley Blackwell. <https://www.wiley.com/en-us/Freshney's+Culture+of+Animal+Cells%3A+A+Manual+of+Basic+Technique+and+Specialized+Applications%2C+8th+Edition-p-9781119513049>.

14. Awouafack, M. D., McGaw, L. J., Gottfried, S., Mbouangouere, R., Tane, P., Spiteller, M., & Eloff, J. N. (2013). Antimicrobial activity and cytotoxicity of the ethanol extract, fractions and eight compounds isolated from *Eriosema robustum* (Fabaceae). *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 13(1), 289. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-13-289>.

15. Leland, D. S., & Ginocchio, C. C. (2007). Role of cell culture for virus detection in the age of technology. *Clinical Microbiology Reviews*, 20(1), 49–78. <https://doi.org/10.1128/cmr.00002-06>.

16. World Organisation for Animal Health. (2025). *Manual OF Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. <https://www.woah.org/en/what-we-do/standards/codes-and-manuals/>

17. European Committee for Standardization. (2015). *Chemical disinfectants and antiseptics — Quantitative suspension test for the evaluation of virucidal activity in the veterinary area — Test method and requirements (Phase 2, Step 1)* (EN 14675:2015). <https://standards.iteh.ai/catalog/standards/cen/a4bf27b1-bb63-4574-9c27-89b4fa6eb4f9/en-14675-2015>.

18. Mayer, J., Blanco-Melo, D., Coffin, J. M., Gifford, R. J., Johnson, W. E., Lindemann, D., Peeters, M., Sato, K., Stoye, J., Tachedjian, G., & Hatzioannou, T. (2025). 2024 taxonomy update for the family *Retroviridae*. *Archives of Virology*, 170(8), 164. <https://doi.org/10.1007/s00705-025-06353-y>.

19. Hierweger, M. M., Koch, M. C., Kauer, R. V., Bagó, Z., Oevermann, A., Bertoni, G., & Seuberlich, T. (2021). A novel *Betaretrovirus* discovered in cattle with neurological disease and encephalitis. *Retrovirology*, 18(1), 40. <https://doi.org/10.1186/s12977-021-00585-x>.

20. Iwasaki, R., Nakagiri, Y., Yaguchi, Y., Oguma, K., Ono, M., Horikita, T., & Sentsui, H. (2020). Survey of bovine foamy virus infection among cattle in Japan and comparison with bovine leukemia virus infection. *Journal of Veterinary Medical Science*, 82(5), 615–618. <https://doi.org/10.1292/jvms.19-0592>.

21. Cowick, C. A., Russ, B. P., Bales, A. R., Nanduri, B., & Meyer, F. (2022). *Mannheimia haemolytica* negatively affects bovine herpesvirus type 1.1 replication capacity *in vitro*. *Microorganisms*, 10(11), 2158. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10112158>.

22. Oliveira, T. E. S., Scuisato, G. S., Pelaquim, I. F., Cunha, C. W., Cunha, L. S., Flores, E. F., Pretto-Giordano, L. G., Lisbôa, J. A. N., Alfieri, A. A., Saut, J. P. E., Jorge da Cunha, P. H., & Headley, S. A. (2021). The participation of a malignant catarrhal

fever virus and *Mycoplasma bovis* in the development of single and mixed infections in beef and dairy cattle with bovine respiratory disease. *Frontiers in Veterinary Science*, 8, 691448. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.691448>.

23. Centeno-Martinez, R. E., Glidden, N., Mohan, S., Davidson, J. L., Fernández-Juricic, E., Boerman, J. P., Schoonmaker, J., Pillai, D., Koziol, J., Ault, A., Verma, M. S., & Johnson, T. A. (2022). Identification of bovine respiratory disease through the nasal microbiome. *Animal Microbiome*, 4(1), 15. <https://doi.org/10.1186/s42523-022-00167-y>.

24. Gutiérrez, G., Rodríguez, S., de Brogniez, A., Gillet, N., Golime, R., Burny, A., Jaworski, J.-P., Alvarez, I., Vagnoni, L., Trono, K., & Willems, L. (2014). Vaccination against δ -retroviruses: The bovine leukemia virus paradigm. *Viruses*, 6(6), 2416–2427. <https://doi.org/10.3390/v6062416>.

25. Polat, M., Takeshima, S.-n., & Aida, Y. (2017). Epidemiology and genetic diversity of bovine leukemia virus. *Virology Journal*, 14(1), 209. <https://doi.org/10.1186/s12985-017-0876-4>.

26. World Organisation for Animal Health. (2018). Chapter 3.4.9. Enzootic bovine leukosis. In *Terrestrial Manual*. https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.04.09_EBL.pdf.

27. Callebaut, I., Vonèche, V., Mager, A., Fumière, O., Krchnak, V., Merza, M., Zavada, J., Mammerickx, M., Burny, A., & Portetelle, D. (1993). Mapping of B-neutralizing and T-helper cell epitopes on the bovine leukemia virus external glycoprotein gp51. *Journal of Virology*, 67(9), 5321–5327. <https://doi.org/10.1128/jvi.67.9.5321-5327.1993>.

28. Lin, Q., Lim, J. Y. C., Xue, K., Yew, P. Y. M., Owh, C., Chee, P. L., & Loh, X. J. (2020). Sanitizing agents for virus inactivation and disinfection. *View*, 1(2), e16. <https://doi.org/10.1002/viw2.16>.

29. Sandoval-Monzón, R. S., Arévalo-Rodríguez, I. C. K., Carrillo-Torres, A. A., & Ruiz-García, L. F. (2021). Efficacy of physical and chemical treatments on the inactivation of bovine leukosis virus present in milk. *Clinical and Experimental Vaccine Research*, 10(1), 52–58. <https://doi.org/10.7774/cevr.2021.10.1.52>.

30. Kapes, T., Quinn, C., Cragun, A. E., House, T., Nims, R. W., & Zhou, S. S. (2024). Differing susceptibilities to certain microbicidal chemistries among three representative enveloped viruses. *Microorganisms*, 12(3), 535. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12030535>.
31. Corredor, A., St-Louis, M.-C., & Archambault, D. (2010). Molecular and biological aspects of the bovine immunodeficiency virus. *Current HIV Research*, 8(1), 2–13. <https://doi.org/10.2174/157016210790416343>.
32. Keshavarz, H., Mohammadi, A., & Morovati, S. (2022). Evidence of bovine immunodeficiency virus: A molecular survey in water buffalo populations of Iran. *Veterinary Medicine and Science*, 8(5), 2167–2172. <https://doi.org/10.1002/vms3.872>.
33. Garvey, K. J., Oberste, M. S., Elser, J. E., Braun, M. J., & Gonda, M. A. (1990). Nucleotide sequence and genome organization of biologically active proviruses of the bovine immunodeficiency-like virus. *Virology*, 175(2), 391–409. [https://doi.org/10.1016/0042-6822\(90\)90424-p](https://doi.org/10.1016/0042-6822(90)90424-p).
34. González-Fernández, V. D., Tórtora Pérez, J. L., García Flores, M. M., Aguilar Setién, J. Á., & Ramírez Álvarez, H. (2020). First evidence of bovine immunodeficiency virus infection in Mexican cattle. *Transboundary and Emerging Diseases*, 67(5), 1768–1775. <https://doi.org/10.1111/tbed.13530>.
35. Egberink, H., & Horzinek, M. C. (1992). Animal immunodeficiency viruses. *Veterinary Microbiology*, 33(1–4), 311–331. [https://doi.org/10.1016/0378-1135\(92\)90059-3](https://doi.org/10.1016/0378-1135(92)90059-3).
36. Балак, О. К., & Лиманська, О. Ю. (2023). Характеризація генів та білків вірусу імунодефіциту великої рогатої худоби. *Ветеринарна медицина*, (109), 35–42. <https://doi.org/10.36016/VM-2023-109-6>.
37. de Pablo-Maiso, L., Doménech, A., Echeverría, I., Gómez-Arrebola, C., de Andrés, D., Rosati, S., Gómez-Lucia, E., & Reina, R. (2018). Prospects in innate immune responses as potential control strategies against non-primate lentiviruses. *Viruses*, 10(8), 435. <https://doi.org/10.3390/v10080435>.
38. Meas, S., Ohashi, K., Tum, S., Chhin, M., Te, K., Miura, K., Sugimoto, C., & Onuma, M. (2000). Seroprevalence of bovine immunodeficiency virus and bovine

leukemia virus in draught animals in Cambodia. *Journal of Veterinary Medical Science*, 62(7), 779–781. <https://doi.org/10.1292/jvms.62.779>.

39. Khan, A. S., Bodem, J., Buseyne, F., Gessain, A., Johnson, W., Kuhn, J. H., Kuzmak, J., Lindemann, D., Linial, M. L., Löchelt, M., Materniak-Kornas, M., Soares, M. A., & Switzer, W. M. (2018). Spumaretroviruses: Updated taxonomy and nomenclature. *Virology*, 516, 158–164. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2017.12.035>.

40. Hooks, J. J., & Gibbs, C. J. (1975). The foamy viruses. *Bacteriological Reviews*, 39(3), 169–185. <https://doi.org/10.1128/br.39.3.169-185.1975>.

41. Okamoto, M., Oguma, K., Yamashita-Kawanishi, N., Ichijo, T., Hatama, S., Endo, M., Ishikawa, M., & Haga, T. (2020). Genomic characterization and distribution of bovine foamy virus in Japan. *Journal of Veterinary Medical Science*, 82(11), 1607–1613. <https://doi.org/10.1292/jvms.20-0429>.

42. Materniak, M., Bicka, L., & Kuźmak, J. (2006). Isolation and partial characterization of bovine foamy virus from Polish cattle. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 9(4), 207–211.

43. Cho, S.-Y., Kim, K.-D., & Shin, C.-G. (2024). Advances in foamy virus vector systems: Development and applications. *Virology*, 110270. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2024.110270>.

44. Fernández, I., Dynesen, L. T., Coquin, Y., Pederzoli, R., Brun, D., Haouz, A., Gessain, A., Rey, F. A., Buseyne, F., & Backovic, M. (2023). The crystal structure of a simian foamy virus receptor binding domain provides clues about entry into host cells. *Nature Communications*, 14(1), 1262. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-36923-0>.

45. Materniak-Kornas, M., Tan, J., Heit-Mondrzyk, A., Hotz-Wagenblatt, A., & Löchelt, M. (2019). Bovine foamy virus: shared and unique molecular features in vitro and in vivo. *Viruses*, 11(12), 1084. <https://doi.org/10.3390/v11121084>.

46. Hütter, S., Zurnic, I., & Lindemann, D. (2013). Foamy virus budding and release. *Viruses*, 5(4), 1075–1098. <https://doi.org/10.3390/v5041075>.

47. Soltero-Rivera, M., Goldschmidt, S., & Arzi, B. (2023). Feline chronic gingivostomatitis current concepts in clinical management. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 25(8), 1098612X231186834. <https://doi.org/10.1177/1098612x231186834>.

48. Winkler, I. G., Löchelt, M., & Flower, R. L. P. (1999). Epidemiology of feline foamy virus and feline immunodeficiency virus infections in domestic and feral cats: A seroepidemiological study. *Journal of Clinical Microbiology*, 37(9), 2848–2851. <https://doi.org/10.1128/jcm.37.9.2848-2851.1999>.

49. Office of the Gene Technology Regulator. (2005). *The Biology of Bovine Herpesvirus 1 (BoHV-1)*. https://www.ogtr.gov.au/sites/default/files/files/2021-07/the_biology_of_bovine_herpesvirus.pdf.

50. Перфілова, С. І., Олешко, А. Ю., & Герілович, А. П. (2020). Проблема вірусних пневмоентеритів у скотарстві (огляд літератури). *Ветеринарна медицина*, (106), 40–47. <https://doi.org/10.36016/VM-2020-106-8>.

51. Державна служба ветеринарної медицини України. (2000). *Інструкція про заходи з профілактики та боротьби з інфекційним ринотрахеїтом — пустульозним вульвовагінітом (баланопоститом) великої рогатої худоби* (наказ № 47 від 10.10.2000). <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0741-00>.

52. Rimayanti, R., Khairullah, A., Lestari, T., Moses, I., Utama, S., Damayanti, R., Mulyati, S., Raharjo, H., Kusala, M., Raissa, R., Wibowo, S., Abdila, S., Fauzia, K., Yanestria, S., Fauziah, I., & Siregar, J. (2024). Infectious bovine rhinotracheitis (IBR): Unveiling the hidden threat to livestock productivity and global trade. *Open Veterinary Journal*, 14(10), 2525–2538. <https://doi.org/10.5455/ovj.2024.v14.i10.3>.

53. Rijsewijk, F. A., Kaashoek, M. J., Langeveld, J. P., Meloen, R., Judek, J., BieŃkowska-Szewczyk, K., Maris-Veldhuis, M. A., & van Oirschot, J. T. (1999). Epitopes on glycoprotein C of bovine herpesvirus-1 (BHV-1) that allow differentiation between BHV-1.1 and BHV-1.2 strains. *Journal of General Virology*, 80(6), 1477–1483. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-80-6-1477>.

54. Ostler, J. B., & Jones, C. (2023). The bovine herpesvirus 1 latency-reactivation cycle, a chronic problem in the cattle industry. *Viruses*, 15(2), 552. <https://doi.org/10.3390/v15020552>.

55. Righi, C., Iscaro, C., Ferroni, L., Rosati, S., Pellegrini, C., Nogarol, C., Rossi, E., Dettori, A., Feliziani, F., & Petrini, S. (2022). Validation of a commercial

indirect ELISA kit for the detection of *Bovine alphaherpesvirus1* (BoHV-1)-specific glycoprotein E antibodies in bulk milk samples of dairy cows. *Veterinary Sciences*, 9(7), 311. <https://doi.org/10.3390/vetsci9070311>.

56. d'Offay, J. M., Eberle, R., Fulton, R. W., & Kirkland, P. D. (2016). Complete genomic sequence and comparative analysis of four genital and respiratory isolates of bovine herpesvirus subtype 1.2b (BoHV-1.2b), including the prototype virus strain K22. *Archives of Virology*, 161(11), 3269–3274. <https://doi.org/10.1007/s00705-016-3026-1>.

57. Edwards, S., White, H., & Nixon, P. (1990). A study of the predominant genotypes of bovid herpesvirus 1 found in the U.K. *Veterinary Microbiology*, 22(2–3), 213–223. [https://doi.org/10.1016/0378-1135\(90\)90108-8](https://doi.org/10.1016/0378-1135(90)90108-8).

58. Jones, C. (2019). Bovine herpesvirus 1 counteracts immune responses and immune-surveillance to enhance pathogenesis and virus transmission. *Frontiers in Immunology*, 10, 1008. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01008>.

59. Ackermann, M., & Engels, M. (2006). Pro and contra IBR-eradication. *Veterinary Microbiology*, 113(3–4), 293–302. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2005.11.043>.

60. Нижник, Б. Ю., & Вальчук, О. А. (2023) Комплексна діагностика абортів у великої рогатої худоби. *Науковий вісник ветеринарної медицини*, (2), 6–14. <https://doi.org/10.33245/2310-4902-2023-184-2-6-14>.

61. Moeller, R. B., Adaska, J., Reynolds, J., & Blanchard, P. C. (2013). Systemic Bovine herpesvirus 1 infections in neonatal dairy calves. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 25(1), 136–141. <https://doi.org/10.1177/1040638712470448>.

62. Graham, D. A. (2013). Bovine herpes virus-1 (BoHV-1) in cattle-a review with emphasis on reproductive impacts and the emergence of infection in Ireland and the United Kingdom. *Irish Veterinary Journal*, 66(1), 15. <https://doi.org/10.1186/2046-0481-66-15>.

63. Fulton, R. W., d'Offay, J. M., Eberle, R., Moeller, R. B., Campen, H. V., O'Toole, D., Chase, C., Miller, M. M., Sprowls, R., & Nydam, D. V. (2015). Bovine herpesvirus-1: Evaluation of genetic diversity of subtypes derived from field strains of

varied clinical syndromes and their relationship to vaccine strains. *Vaccine*, 33(4), 549–558. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2014.11.033>.

64. Ostler, J. B., Sawant, L., Harrison, K., & Jones, C. (2021). Regulation of neurotropic herpesvirus productive infection and latency-reactivation cycle by glucocorticoid receptor and stress-induced transcription factors. *Vitamins and Hormones*, 117, 101–132. <https://doi.org/10.1016/bs.vh.2021.06.005>.

65. Ackermann, M., & Wyler, R. (1984). The DNA of an IPV strain of bovid herpesvirus 1 in sacral ganglia during latency after intravaginal infection. *Veterinary Microbiology*, 9(1), 53–63. [https://doi.org/10.1016/0378-1135\(84\)90078-6](https://doi.org/10.1016/0378-1135(84)90078-6).

66. El-Mayet, F. S., Sawant, L., Wijesekera, N., & Jones, C. (2020). Progesterone increases the incidence of bovine herpesvirus 1 reactivation from latency and stimulates productive infection. *Virus Research*, 276, 197803. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2019.197803>.

67. Winkler, M. T. C., Doster, A., & Jones, C. (2000). Persistence and reactivation of bovine herpesvirus 1 in the tonsils of latently infected calves. *Journal of Virology*, 74(11), 5337–5346. <https://doi.org/10.1128/jvi.74.11.5337-5346.2000>.

68. Jones, C., & Chowdhury, S. (2007). A review of the biology of bovine herpesvirus type 1 (BHV-1), its role as a cofactor in the bovine respiratory disease complex and development of improved vaccines. *Animal Health Research Reviews*, 8(2), 187–205. <https://doi.org/10.1017/s146625230700134x>.

69. Shahin, F., Raza, S., Yang, K., Hu, C., Chen, Y., Chen, H., & Guo, A. (2017). Bovine herpesvirus 1 tegument protein UL21 plays critical roles in viral secondary envelopment and cell-to-cell spreading. *Oncotarget*, 8(55), 94462–94480. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.21776>.

70. Кокаре́в, А., Голда, К., Масюк, Д., Васи́ленко, Т., & Глебе́нюк, В (2020). Особливості лабораторної діагностики та контролю вірусної діареї ВРХ. *Молоко і ферма*, 2(57), 76–82. <https://dspace.dsau.dp.ua/bitstream/123456789/3316/1/4.pdf>.

71. International Committee on Taxonomy of Viruses. (2025). Genus: *Pestivirus*. In *ICTV Report — Flaviviridae*. <https://ictv.global/report/chapter/flaviviridaeport/flaviviridaeport/flaviviridae/pestivirus>.

72. Silveira, S., Falkenberg, S. M., Dassanayake, R. P., Walz, P. H., Ridpath, J. F., Canal, C. W., & Neill, J. D. (2019). *In vitro* method to evaluate virus competition between BVDV-1 and BVDV-2 strains using the PrimeFlow RNA assay. *Virology*, 536, 101–109. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2019.07.029>.
73. Yeşilbağ, K., Alpay, G., & Becher, P. (2017). Variability and global distribution of subgenotypes of bovine viral diarrhea virus. *Viruses*, 9(6), 128. <https://doi.org/10.3390/v9060128>.
74. Mirosław, P., Rola-Łuszczak, M., Kuźmak, J., & Polak, M. P. (2022). Transcriptomic analysis of MDBK cells infected with cytopathic and non-cytopathic strains of bovine viral diarrhea virus (BVDV). *Viruses*, 14(6), 1276. <https://doi.org/10.3390/v14061276>.
75. Merwaiss, F., Czibener, C., & Alvarez, D. E. (2018). Cell-to-cell transmission is the main mechanism supporting bovine viral diarrhea virus spread in cell culture. *Journal of Virology*, 93(3), e01776–18. <https://doi.org/10.1128/jvi.01776-18>.
76. Charleston, B., Fray, M. D., Baigent, S., Carr, B. V., & Morrison, W. I. (2001). Establishment of persistent infection with non-cytopathic bovine viral diarrhoea virus in cattle is associated with a failure to induce type I interferon. *Journal of General Virology*, 82(8), 1893–1897. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-82-8-1893>.
77. Hilton, L., Moganeradj, K., Zhang, G., Chen, Y.-H., Randall, R. E., McCauley, J. W., & Goodbourn, S. (2006). The NPro product of bovine viral diarrhea virus inhibits DNA binding by interferon regulatory factor 3 and targets it for proteasomal degradation. *Journal of Virology*, 80(23), 11723–11732. <https://doi.org/10.1128/jvi.01145-06>.
78. Darweesh, M. F., Rajput, M. K. S., Braun, L. J., Ridpath, J. F., Neill, J. D., & Chase, C. C. L. (2015). Characterization of the cytopathic BVDV strains isolated from 13 mucosal disease cases arising in a cattle herd. *Virus Research*, 195, 141–147. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2014.09.015>.
79. Becher, P., Orlich, M., König, M., & Thiel, H.-J. (1999). Nonhomologous RNA recombination in bovine viral diarrhea virus: Molecular characterization of a

variety of subgenomic RNAs isolated during an outbreak of fatal mucosal disease. *Journal of Virology*, 73(7), 5646–5653. <https://doi.org/10.1128/jvi.73.7.5646-5653.1999>.

80. Peterhans, E., Bachofen, C., Stalder, H., & Schweizer, M. (2010). Cytopathic bovine viral diarrhea viruses (BVDV): emerging pestiviruses doomed to extinction. *Veterinary Research*, 41(6), 44. <https://doi.org/10.1051/vetres/2010016>.

81. Beilleau, G., Stalder, H., Almeida, L., Oliveira Esteves, B. I., Alves, M. P., & Schweizer, M. (2024). The pestivirus RNase erns tames the interferon response of the respiratory epithelium. *Viruses*, 16(12), 1908. <https://doi.org/10.3390/v16121908>.

82. Thakur, N., Evans, H., Abdelsalam, K., Farr, A., Rajput, M. K. S., Young, A. J., & Chase, C. C. L. (2020). Bovine viral diarrhea virus compromises Neutrophil's functions in strain dependent manner. *Microbial Pathogenesis*, 149, 104515. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104515>.

83. Moennig, V., & Yarnall, M. J. (2021). The long journey to BVD eradication. *Pathogens*, 10(10), 1292. <https://doi.org/10.3390/pathogens10101292>.

84. Sandvik, T. (2005). Selection and use of laboratory diagnostic assays in BVD control programmes. *Preventive Veterinary Medicine*, 72(1–2), 3–16. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2005.08.015>.

85. Hou, P., Zhao, G., Wang, H., & He, H. (2018). Prevalence of bovine viral diarrhea virus in dairy cattle herds in eastern China. *Tropical Animal Health and Production*, 51(4), 791–798. <https://doi.org/10.1007/s11250-018-1751-z>.

86. Casey-Bryars, M., Tratalos, J. A., Graham, D. A., Guelbenzu-Gonzalo, M. P., Barrett, D., O'Grady, L., Madden, J. M., McGrath, G., & More, S. J. (2022). Risk factors for detection of bovine viral diarrhoea virus in low-risk herds during the latter stages of Ireland's eradication programme. *Preventive Veterinary Medicine*, 201, 105607. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2022.105607>.

87. Lanyon, S. R., Hill, F. I., Reichel, M. P., & Brownlie, J. (2014). Bovine viral diarrhoea: Pathogenesis and diagnosis. *The Veterinary Journal*, 199(2), 201–209. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2013.07.024>.

88. Oguejiofor, C. F., Thomas, C., Cheng, Z., & Wathes, D. C. (2019). Mechanisms linking bovine viral diarrhea virus (BVDV) infection with infertility in

cattle. *Animal Health Research Reviews*, 20(1), 72–85. <https://doi.org/10.1017/s1466252319000057>.

89. World Organisation for Animal Health. (2025). *Enzootic Bovine Leukosis*. WOA. <https://www.woah.org/en/disease/enzootic-bovine-leukosis/>.

90. Porta, N. G., Alvarez, I., Suarez Archilla, G., Ruiz, V., Abdala, A., & Trono, K. (2019). Experimental infection of sheep with Bovine leukemia virus (BLV): Minimum dose of BLV-FLK cells and cell-free BLV and neutralization activity of natural antibodies. *Revista Argentina de Microbiología*, 51(4), 316–323. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2019.01.004>.

91. Ruggiero, V. J., & Bartlett, P. C. (2019). Control of bovine leukemia virus in three US dairy herds by culling ELISA-positive cows. *Veterinary Medicine International*, 2019, 3202184. <https://doi.org/10.1155/2019/3202184>.

92. Marawan, M. A., Alouffi, A., El Tokhy, S., Badawy, S., Shirani, I., Dawood, A., Guo, A., Almutairi, M. M., Alshammari, F. A., & Selim, A. (2021). Bovine Leukaemia Virus: Current Epidemiological Circumstance and Future Prospective. *Viruses*, 13(11), 2167. <https://doi.org/10.3390/v13112167>.

93. Shrestha, S., Orsel, K., Droscha, C., Mijar, S., & van der Meer, F. (2024). Removing bovine leukemia virus infected animals with high proviral load leads to lowering within-herd prevalence and new case reduction. *Journal of Dairy Science*, 107(8), 6015–6024. <https://doi.org/10.3168/jds.2023-24484>.

94. Bech-Nielsen, S., Piper, C. E., & Ferrer, J. F. (1978). Natural mode of transmission of the bovine leukemia virus: Role of bloodsucking insects. *American Journal of Veterinary Research*, 39(7), 1089–1092. <https://doi.org/10.2460/ajvr.1978.39.07.1089>.

95. Foil, L. D., Seger, C. L., French, D. D., Issel, C. J., McManus, J. M., Ohrberg, C. L., & Ramsey, R. T. (1988). Mechanical transmission of bovine leukemia virus by horse flies (Diptera: Tabanidae). *Journal of Medical Entomology*, 25(5), 374–376. <https://doi.org/10.1093/jmedent/25.5.374>.

96. Freitas, T. R., & Romero, C. H. (1991). Experimental transmission of bovine leukosis virus by leucocytes recovered from the stable fly *Stomoxys calcitrans* L. *Brazilian Journal of Medical and biological Research*, 24(10), 1017–1023.
97. Panei, C. J., Larsen, A. E., Fuentealba, N. A., Metz, G. E., Echeverría, M. G., Galosi, C. M., & Valera, A. R. (2019). Study of horn flies as vectors of bovine leukemia virus. *Open Veterinary Journal*, 9(1), 33–37. <https://doi.org/10.4314/ovj.v9i1.6>.
98. Moratorio, G., Fischer, S., Bianchi, S., Tomé, L., Rama, G., Obal, G., Carrión, F., Pritsch, O., & Cristina, J. (2013). A detailed molecular analysis of complete bovine leukemia virus genomes isolated from B-cell lymphosarcomas. *Veterinary Research*, 44(1), 19. <https://doi.org/10.1186/1297-9716-44-19>.
99. Trueblood, E. S., Brown, W. C., Palmer, G. H., Davis, W. C., Stone, D. M., & McElwain, T. F. (1998). B-Lymphocyte proliferation during bovine leukemia virus-induced persistent lymphocytosis is enhanced by T-lymphocyte-derived interleukin-2. *Journal of Virology*, 72(4), 3169–3177. <https://doi.org/10.1128/jvi.72.4.3169-3177.1998>.
100. Lv, G., Wang, J., Lian, S., Wang, H., & Wu, R. (2024). The global epidemiology of bovine leukemia virus: Current trends and future implications. *Animals*, 14(2), 297. <https://doi.org/10.3390/ani14020297>.
101. Dequiedt, F., Cantor, G. H., Hamilton, V. T., Pritchard, S. M., Davis, W. C., Kerkhofs, P., Burny, A., Kettmann, R., & Willems, L. (1999). Bovine leukemia virus-induced persistent lymphocytosis in cattle does not correlate with increased ex vivo survival of B lymphocytes. *Journal of Virology*, 73(2), 1127–1137. <https://doi.org/10.1128/jvi.73.2.1127-1137.1999>.
102. Hendrick, S. H. (2002). Atypical sporadic bovine leukosis in a beef feedlot heifer. *The Canadian Veterinary Journal*, 43(8), 617–619. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC339403>.
103. Underwood, W. J., Blauwiekel, R., Delano, M. L., Gillesby, R., Mischler, S. A., & Schoell, A. (2015). Biology and diseases of ruminants (sheep, goats, and cattle). In *Laboratory Animal Medicine* (pp. 623–694). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-409527-4.00015-8>.

104. Mekata, H., Yamamoto, M., Kirino, Y., Sekiguchi, S., Konnai, S., Horii, Y., & Norimine, J. (2018). New hematological key for bovine leukemia virus-infected Japanese Black cattle. *Journal of Veterinary Medical Science*, 80(2), 316–319. <https://doi.org/10.1292/jvms.17-0455>.
105. EFSA Panel on Animal Health and Welfare. (2015). Enzootic bovine leukosis. *EFSA Journal*, 13(7), 4188. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2015.4188>.
106. Jaimes-Dueñez, J., Goyeneche-Ortiz, E., Tique-Oviedo, M., Ortiz-Pineda, M. C., Cardenas-Pinto, L., Jimenez-Leaño, A. P., & Ruiz-Saenz, J. (2024). Molecular frequency of bovine leukemia virus in Creole cattle of Eastern Colombia. *Veterinary and Animal Science*, 25, 100372. <https://doi.org/10.1016/j.vas.2024.100372>.
107. Pereira, J. G., Silva, C. d. A., Silva, L. D., Lima, C. A. A., do Rosário, C. J. R. M., Silva, E. M. C., Oliveira, M. d. S. C., Ribeiro, L. S. d. S., Santos, H. P., Abreu-Silva, A. L., & Melo, F. A. (2023). Diagnosis and phylogenetic analysis of bovine leukemia virus in dairy cattle in northeastern Brazil. *Frontiers in Veterinary Science*, 9, 1080994. <https://doi.org/10.3389/fvets.2022.1080994>.
108. Yoneyama, S., Kobayashi, S., Matsunaga, T., Tonosaki, K., Leng, D., Sakai, Y., Yamada, S., Kimura, A., Ichijo, T., Hikono, H., & Murakami, K. (2022). Comparative evaluation of three commercial quantitative real-time PCRs used in Japan for bovine leukemia virus. *Viruses*, 14(6), 1182. <https://doi.org/10.3390/v14061182>.
109. John, E. E., Cameron, M., Stryhn, H., Keefe, G., & McClure, J. T. (2024). Temporal patterns of bovine leukemia virus infection in dairy herds in Atlantic Canada. *The Canadian Veterinary Journal*, 65(5), 488–495. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11017928>.
110. Kuczewski, A., Orsel, K., Barkema, H. W., Mason, S., Erskine, R., & van der Meer, F. (2021). Invited review: Bovine leukemia virus—Transmission, control, and eradication. *Journal of Dairy Science*, 104(6), 6358–6375. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-18925>.
111. Nishimori, A., Andoh, K., Matsuura, Y., Okagawa, T., & Konnai, S. (2024). Effect of C-to-T transition at CpG sites on tumor suppressor genes in tumor

development in cattle evaluated by somatic mutation analysis in enzootic bovine leukosis. *mSphere*, 9(11), e0021624. <https://doi.org/10.1128/msphere.00216-24>.

112. St-Louis, M.-C., Cojocariu, M., & Archambault, D. (2004). The molecular biology of bovine immunodeficiency virus: a comparison with other lentiviruses. *Animal Health Research Reviews*, 5(2), 125–143. <https://doi.org/10.1079/ahr200496>.

113. Yamada, E., Yoshikawa, R., Nakano, Y., Misawa, N., Kobayashi, T., Ren, F., Izumi, T., Miyazawa, T., Koyanagi, Y., & Sato, K. (2016). A naturally occurring bovine APOBEC3 confers resistance to bovine lentiviruses: implication for the co-evolution of bovids and their lentiviruses. *Scientific Reports*, 6(1), 33988. <https://doi.org/10.1038/srep33988>.

114. Jacobs, R. M., Jefferson, B. J., & Suarez, D. L. (1998). Prevalence of bovine immunodeficiency-like virus in bulls as determined by serology and proviral detection. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 62(3), 231–233. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC1189481>.

115. Straub, O., & Lévy, D. (1999). Bovine immunodeficiency virus and analogies with human immunodeficiency virus. *Leukemia*, 13(S1), S106–S109. <https://doi.org/10.1038/sj.leu.2401324>.

116. Moody, C. A., Pharr, G. T., Murphey, J., Hughlett, M. B., Weaver, C. C., Nelson, P. D., & Coats, K. S. (2002). Confirmation of vertical transmission of bovine immunodeficiency virus in naturally infected dairy cattle using the polymerase chain reaction. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 14(2), 113–119. <https://doi.org/10.1177/104063870201400204>.

117. Nash, J. W., Hanson, L. A., & Coats, K. S. C. (1995). Detection of bovine immunodeficiency virus in blood and milk-derived leukocytes by use of polymerase chain reaction. *American Journal of Veterinary Research*, 56(4), 445–449. <https://doi.org/10.2460/ajvr.1995.56.04.445>.

118. Steeneveld, W., van den Borne, B. H. P., Kok, A., Rodenburg, T. B., & Hogeveen, H. (2024). Invited review: Quantifying multiple burdens of dairy cattle production diseases and reproductive inefficiency-Current knowledge and proposed

metrics. *Journal of Dairy Science*, 107(11), 8765–8795. <https://doi.org/10.3168/jds.2023-24538>.

119. Snider, T. G., Hoyt, P. G., Coats, K. S., Graves, K. F., Cooper, C. R., Storts, R. W., Luther, D. G., & Jenny, B. F. (2003). Natural bovine lentiviral type 1 infection in Holstein dairy cattle. I. Clinical, serological, and pathological observations. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 26(2), 89–101. [https://doi.org/10.1016/s0147-9571\(02\)00021-8](https://doi.org/10.1016/s0147-9571(02)00021-8).

120. Desport, M., & Lewis, J. (2010). Jembrana disease virus: Host responses, viral dynamics and disease control. *Current HIV Research*, 8(1), 53–65. <https://doi.org/10.2174/157016210790416370>.

121. Mokhtari, A., & Mahzounieh, M. R. (2014). The first study of bovine immunodeficiency virus (BIV) and bovine viral diarrhea virus (BVDV) co- infection in industrial herds of cattle in two provinces of Iran. *Iranian Journal of Veterinary Medicine*, 8(1), 27–33. <https://doi.org/10.22059/ijvm.2014.50561>.

122. Malmquist, W. A., Van der Maaten, M. J., & Boothe, A. D. (1969). Isolation, immunodiffusion, immunofluorescence, and electron microscopy of a syncytial virus of lymphosarcomatous and apparently normal cattle. *Cancer Research*, 29(1), 188–200. <https://aacrjournals.org/cancerres/article/29/1/188/477078>.

123. Kamdi, B., Singh, R., Singh, V., Singh, S., Kumar, P., Singh, K. P., George, N., & Dhama, K. (2020). Immunofluorescence and molecular diagnosis of bovine respiratory syncytial virus and bovine parainfluenza virus in the naturally infected young cattle and buffaloes from India. *Microbial Pathogenesis*, 145, 104165. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104165>.

124. Hechler, T., Materniak, M., Kehl, T., Kuzmak, J., & Lochelt, M. (2012). Complete genome sequences of two novel European clade bovine foamy viruses from Germany and Poland. *Journal of Virology*, 86(19), 10905–10906. <https://doi.org/10.1128/jvi.01875-12>.

125. Yu, H., Li, T., Qiao, W., Chen, Q., & Geng, Y. (2007). Guanine tetrad and palindromic sequence play critical roles in the RNA dimerization of bovine foamy

virus. *Archives of Virology*, 152(12), 2159–2167. <https://doi.org/10.1007/s00705-007-1047-5>.

126. Materniak, M., Hechler, T., Lochelt, M., & Kuzmak, J. (2013). Similar patterns of infection with bovine foamy virus in experimentally inoculated calves and sheep. *Journal of Virology*, 87(6), 3516–3525. <https://doi.org/10.1128/jvi.02447-12>.

127. Materniak-Kornas, M., Löchelt, M., Rola, J., & Kuźmak, J. (2020). Infection with foamy virus in wild ruminants — evidence for a new virus reservoir? *Viruses*, 12(1), 58. <https://doi.org/10.3390/v12010058>.

128. Johnson, R. H., De La Rosa, J., Abher, I., Kertanadnya, I. G., Entwistle, K. W., Fordyce, G., & Holroyd, R. G. (1988). Epidemiological studies of bovine spumavirus. *Veterinary Microbiology*, 16(1), 25–33. [https://doi.org/10.1016/0378-1135\(88\)90124-1](https://doi.org/10.1016/0378-1135(88)90124-1).

129. Meiering, C. D., & Maxine L. Linial. (2001). Historical perspective of foamy virus epidemiology and infection. *Clinical Microbiology Reviews*, 14(1), 165–176. <https://doi.org/10.1128/cmr.14.1.165-176.2001>.

130. Romen, F., Backes, P., Materniak, M., Sting, R., Vahlenkamp, T. W., Riebe, R., Pawlita, M., Kuzmak, J., & Löchelt, M. (2007). Serological detection systems for identification of cows shedding bovine foamy virus via milk. *Virology*, 364(1), 123–131. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2007.03.009>.

131. Kertayadnya, I. G., Johnson, R. H., Abher, I., & Burgess, G. W. (1988). Detection of immunological tolerance to bovine spumavirus (BSV) with evidence for salivary excretion and spread of BSV from the tolerant animal. *Veterinary Microbiology*, 16(1), 35–39. [https://doi.org/10.1016/0378-1135\(88\)90125-3](https://doi.org/10.1016/0378-1135(88)90125-3).

132. Bouillant, A. M., & Ruckerbauer, G. M. (1984). Isolation of bovine syncytial virus from lymphocytes recovered from fluids used to flush uterus and oviducts of superovulated cattle. *Canadian Journal of Comparative Medicine*, 48(3), 332–334. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC1236073>.

133. Jacobs, R. M., Pollari, F. L., McNab, W. B., & Jefferson, B. (1995). A serological survey of bovine syncytial virus in Ontario: Associations with bovine leukemia and immunodeficiency-like viruses, production records, and management

practices. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 59(4), 271–278. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC1263781>.

134. Wang, J., Tan, J., Guo, H., Zhang, Q., Jia, R., Xu, X., Geng, Y., & Qiao, W. (2010). Bovine foamy virus transactivator BTas interacts with cellular RelB to enhance viral transcription. *Journal of Virology*, 84(22), 11888–11897. <https://doi.org/10.1128/jvi.01036-10>.

135. Scheffer, C. M., Varela, A. P. M., Teixeira, T. F., Schmidt, C., Cibulski, S. P., Dos Santos, H. F., Duarte, P. M., Campos, F. S., Franco, A. C., & Roehe, P. M. (2023). Neutralizing antibodies to bovine and bubaline alphaherpesviruses in water buffaloes (*Bubalus bubalis*). *Brazilian Journal of Microbiology*, 54(2), 1231–1237. <https://doi.org/10.1007/s42770-023-00930-6>.

136. Khaneabad, A., Taktaz, T., Goodarzi, S., & Momtaz, H. (2023). BoHV-1 affects abortion and progesterone in dairy cows *Bovine alphaherpesvirus 1* (BoHV-1) seropositivity, progesterone levels and embryo loss of 30-day-old pregnant dairy cows in Zagros Industrial Dairy Farm in Shahrekord: Examination and analysis. *Veterinary Medicine and Science*, 9(4), 1934–1939. <https://doi.org/10.1002/vms3.1187>.

137. Han, Z., Gao, J., Li, K., Shahzad, M., Nabi, F., Zhang, D., Li, J., & Liu, Z. (2016). Prevalence of circulating antibodies to *Bovine herpesvirus 1* in yaks (*Bos grunniens*) on the Qinghai-Tibetan Plateau, China. *Journal of Wildlife Diseases*, 52(1), 164–167. <https://doi.org/10.7589/2015-01-018>.

138. Callaby, R., Toye, P., Jennings, A., Thumbi, S. M., Coetzer, J. A. W., Conradie Van Wyk, I. C., Hanotte, O., Mbole-Kariuki, M. N., Bronsvoort, B. M. d. C., Kruuk, L. E. B., Woolhouse, M. E. J., & Kiara, H. (2016). Seroprevalence of respiratory viral pathogens of indigenous calves in Western Kenya. *Research in Veterinary Science*, 108, 120–124. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2016.08.010>.

139. Oliveira, T. E. S., Pelaquim, I. F., Flores, E. F., Massi, R. P., Valdiviezo, M. J. J., Pretto-Giordano, L. G., Alfieri, A. A., Saut, J. P. E., & Headley, S. A. (2019). *Mycoplasma bovis* and viral agents associated with the development of bovine respiratory disease in adult dairy cows. *Transboundary and Emerging Diseases*, 67(S2), 82–93. <https://doi.org/10.1111/tbed.13223>.

140. Fernandes, L. G., Pituco, E. M., de Campos Nogueira Romaldini, A. H., De Stefano, E., Clementino, I. J., Maia, A. R. A., de Sousa Américo Batista Santos, C., Alves, C. J., & de Azevedo, S. S. (2018). Spatial analysis for bovine viral diarrhea virus and bovine herpesvirus type 1 infections in the state of Paraíba, northeastern Brazil. *BMC Veterinary Research*, 14(1), 102. <https://doi.org/10.1186/s12917-018-1412-5>.
141. Segura-Correa, J. C., Zapata-Campos, C. C., Jasso-Obregón, J. O., Martinez-Burnes, J., & López-Zavala, R. (2016). Seroprevalence and risk factors associated with bovine herpesvirus 1 and bovine viral diarrhea virus in North-Eastern Mexico. *Open Veterinary Journal*, 6(2), 143. <https://doi.org/10.4314/ovj.v6i2.12>.
142. The European Parliament and The Council of the European Union. (2016). Regulation (EU) 2016/429 of the European Parliament and of the Council of 9 March 2016 on transmissible animal diseases and amending and repealing certain acts in the area of animal health ('Animal Health Law') (Text with EEA relevance). *Official Journal of the European Union*, L 84, 1–208. <http://data.europa.eu/eli/reg/2016/429/oj>.
143. Socha, W., Larska, M., Rola, J., & Bednarek, D. (2022). Occurrence of bovine coronavirus and other major respiratory viruses in cattle in Poland. *Journal of Veterinary Research*, 66(4), 479–486. <https://doi.org/10.2478/jvetres-2022-0059>.
144. Sayers, R. G., Byrne, N., O'Doherty, E., & Arkins, S. (2015). Prevalence of exposure to bovine viral diarrhoea virus (BVDV) and bovine herpesvirus-1 (BoHV-1) in Irish dairy herds. *Research in Veterinary Science*, 100, 21–30. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2015.02.011>.
145. The European Commission. (2020). Commission Delegated Regulation (EU) 2020/689 of 17 December 2019 supplementing Regulation (EU) 2016/429 of the European Parliament and of the Council as regards rules for surveillance, eradication programmes, and disease-free status for certain listed and emerging diseases (Text with EEA relevance). *Official Journal of the European Union*, L 174, 211–340. http://data.europa.eu/eli/reg_del/2020/689/oj.
146. Iscaro, C., Cambiotti, V., Petrini, S., & Feliziani, F. (2021). Control programs for infectious bovine rhinotracheitis (IBR) in European countries: an

overview. *Animal Health Research Reviews*, 22(2), 136–146. <https://doi.org/10.1017/s1466252321000116>.

147. Vonk Noordegraaf, A., Buijtel, J. A. A. M., Dijkhuizen, A. A., Franken, P., Stegeman, J. A., & Verhoeff, J. (1998). An epidemiological and economic simulation model to evaluate the spread and control of infectious bovine rhinotracheitis in the Netherlands. *Preventive Veterinary Medicine*, 36(3), 219–238. [https://doi.org/10.1016/s0167-5877\(98\)00081-6](https://doi.org/10.1016/s0167-5877(98)00081-6).

148. Kahrs, R. F. (1977). Infectious bovine rhinotracheitis: A review and update. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 171(10), 1055–1064. <https://doi.org/10.2460/javma.1977.171.10.1055>.

149. Petrini, S., Righi, C., Iscaro, C., Viola, G., Gobbi, P., Scoccia, E., Rossi, E., Pellegrini, C., & De Mia, G. M. (2020). Evaluation of passive immunity induced by immunisation using two inactivated gE-deleted marker vaccines against Infectious Bovine Rhinotracheitis (IBR) in calves. *Vaccines*, 8(1), 14. <https://doi.org/10.3390/vaccines8010014>.

150. Машкей, А. Н., Чечеткина, Н. П., & Мищенко, А. А. (2010). Комнатная муха (*Musca domestica*) как возможный механический переносчик герпес- и пести вирусов. *Ветеринарна медицина*, 94, 282–283. http://nbuv.gov.ua/UJRN/vetmed_2010_94_118.

151. Milićević, V., Sapundžić, Z. Z., Glišić, D., Kureljušić, B., Vasković, N., Dorđević, M., & Mirčeta, J. (2024). Cross-sectional serosurvey of selected infectious diseases in wild ruminants in Serbia. *Research in Veterinary Science*, 170, 105183. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2024.105183>.

152. Rola, J., Larska, M., Socha, W., Rola, J. G., Materniak, M., Urban-Chmiel, R., Thiry, E., & Żmudziński, J. F. (2017). Seroprevalence of bovine herpesvirus 1 related alphaherpesvirus infections in free-living and captive cervids in Poland. *Veterinary Microbiology*, 204, 77–83. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2017.04.006>.

153. Selim, A., Shoulah, S., Alsubki, R. A., Albohairy, F. M., Attia, K. A., & Kimiko, I. (2022). Sero-survey of bovine herpes virus-1 in dromedary camels and

associated risk factors. *BMC Veterinary Research*, 18(1), 362. <https://doi.org/10.1186/s12917-022-03448-5>.

154. Gür, S., Erol, N., Yapıcı, O., Kale, M., Tan, M. T., Turan, T., Çakmak, M. A., Tosun, C., Yılmaz, S., Acar, A., Özenli, I., & Gür, C. (2018). The role of goats as reservoir hosts for bovine herpes virus 1 under field conditions. *Tropical Animal Health and Production*, 51(4), 753–758. <https://doi.org/10.1007/s11250-018-1746-9>.

155. Newcomer, B. W., & Givens, D. (2016). Diagnosis and control of viral diseases of reproductive importance. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 32(2), 425–441. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2016.01.011>.

156. Tuncer-Göktuna, P., Alpay, G., Öner, E. B., & Yeşilbağ, K. (2016). The role of herpesviruses (BoHV-1 and BoHV-4) and pestiviruses (BVDV and BDV) in ruminant abortion cases in western Turkey. *Tropical Animal Health and Production*, 48(5), 1021–1027. <https://doi.org/10.1007/s11250-016-1050-5>.

157. Raaperi, K., Bougeard, S., Aleksejev, A., Orro, T., & Viltrop, A. (2012). Association of herd BRSV and BHV-1 seroprevalence with respiratory disease and reproductive performance in adult dairy cattle. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 54(1), 4. <https://doi.org/10.1186/1751-0147-54-4>.

158. El-Mohamady, R. S., Behour, T. S., & Rawash, Z. M. (2020). Concurrent detection of bovine viral diarrhoea virus and bovine herpesvirus-1 in bulls' semen and their effect on semen quality. *International Journal of Veterinary Science and Medicine*, 8(1), 106–114. <https://doi.org/10.1080/23144599.2020.1850197>.

159. Sayers, R. G. (2017). Associations between exposure to bovine herpesvirus 1 (BoHV-1) and milk production, reproductive performance, and mortality in Irish dairy herds. *Journal of Dairy Science*, 100(2), 1340–1352. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11113>.

160. Hage, J. J., Schukken, Y. H., Dijkstra, T., Barkema, H. W., van Valkengoed, P. H. R., & Wentink, G. H. (1998). Milk production and reproduction during a subclinical bovine herpesvirus 1 infection on a dairy farm. *Preventive Veterinary Medicine*, 34(2–3), 97–106. [https://doi.org/10.1016/s0167-5877\(97\)00088-3](https://doi.org/10.1016/s0167-5877(97)00088-3).

161. Statham, J. M. E., Randall, L. V., & Archer, S. C. (2015). Reduction in daily milk yield associated with subclinical bovine herpesvirus 1 infection. *Veterinary Record*, 177(13), 339. <https://doi.org/10.1136/vr.103105>.
162. van Schaik, G., Shoukri, M., Martin, S. W., Schukken, Y. H., Nielen, M., Hage, J. J., & Dijkhuizen, A. A. (1999). Modeling the effect of an outbreak of bovine herpesvirus type 1 on herd-level milk production of dutch dairy farms. *Journal of Dairy Science*, 82(5), 944–952. [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(99\)75313-0](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(99)75313-0).
163. Righi, C., Franzoni, G., Feliziani, F., Jones, C., & Petrini, S. (2023). The cell-mediated immune response against Bovine alphaherpesvirus 1 (BoHV-1) Infection and Vaccination. *Vaccines*, 11(4), 785. <https://doi.org/10.3390/vaccines11040785>.
164. Qi, S., Wo, L., Sun, C., Zhang, J., Pang, Q., & Yin, X. (2022). Host Cell Receptors implicated in the cellular tropism of BVDV. *Viruses*, 14(10), 2302. <https://doi.org/10.3390/v14102302>.
165. Tao, J., Liao, J., Wang, Y., Zhang, X., Wang, J., & Zhu, G. (2013). Bovine viral diarrhea virus (BVDV) infections in pigs. *Veterinary Microbiology*, 165(3–4), 185–189. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2013.03.010>.
166. Wernike, K., & Beer, M. (2024). Comparison of bovine viral diarrhea virus detection methods: Results of an international proficiency trial. *Veterinary Microbiology*, 290, 109985. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2024.109985>.
167. Pinior, B., Firth, C. L., Richter, V., Lebl, K., Trauffler, M., Dzieciol, M., Hutter, S. E., Burgstaller, J., Obritzhauser, W., Winter, P., & Käsbohrer, A. (2017). A systematic review of financial and economic assessments of bovine viral diarrhea virus (BVDV) prevention and mitigation activities worldwide. *Preventive Veterinary Medicine*, 137, 77–92. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2016.12.014>.
168. Moennig, V., & Becher, P. (2018). Control of bovine viral diarrhea. *Pathogens*, 7(1), 29. <https://doi.org/10.3390/pathogens7010029>.
169. Viet, A. F., Fourichon, C., & Seegers, H. (2006). Review and critical discussion of assumptions and modelling options to study the spread of the bovine viral diarrhoea virus (BVDV) within a cattle herd. *Epidemiology and Infection*, 135(5), 706–721. <https://doi.org/10.1017/s095026880600745x>.

170. Braun, U., Hilbe, M., Janett, F., Hässig, M., Zanoni, R., Frei, S., & Schweizer, M. (2015). Transmission of border disease virus from a persistently infected calf to seronegative heifers in early pregnancy. *BMC Veterinary Research*, 11(1), 43. <https://doi.org/10.1186/s12917-014-0275-7>.
171. Passler, T., & Walz, P. H. (2009). Bovine viral diarrhea virus infections in heterologous species. *Animal Health Research Reviews*, 11(2), 191–205. <https://doi.org/10.1017/s1466252309990065>.
172. Köster, J., Schneider, K., Höper, D., Salditt, A., Beer, M., Miller, T., & Wernike, K. (2024). Novel pestiviruses detected in cattle interfere with bovine viral diarrhea virus diagnostics. *Viruses*, 16(8), 1301. <https://doi.org/10.3390/v16081301>.
173. Chamorro, M. F., Passler, T., Givens, M. D., Edmondson, M. A., Wolfe, D. F., & Walz, P. H. (2010). Evaluation of transmission of bovine viral diarrhea virus (BVDV) between persistently infected and naive cattle by the horn fly (*Haematobia irritans*). *Veterinary Research Communications*, 35(2), 123–129. <https://doi.org/10.1007/s11259-010-9453-7>.
174. Gomez-Romero, N., Ridpath, J. F., Basurto-Alcantara, F. J., & Verdugo-Rodriguez, A. (2021). Bovine viral diarrhea virus in cattle from Mexico: Current status. *Frontiers in Veterinary Science*, 8, 673577. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.673577>.
175. Mahmoud, H., & Ali, A. (2022). Epidemiological investigation on Bovine alphaherpesvirus 1 and bovine viral diarrhea virus in cattle and camels in southern Egypt. *Veterinaria Italiana*, 58(4), 399–404. <https://doi.org/10.12834/VetIt.2361.14459.2>.
176. Alocilla, O. A., & Monti, G. (2022). Bovine viral diarrhea virus within and herd prevalence on pasture-based dairy systems, in southern Chile dairy farms. *Preventive Veterinary Medicine*, 198, 105533. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2021.105533>.
177. Jokar, M., Rahmanian, V., Farhoodi, M., Abdous, A., Shams, F., & Karami, N. (2021). Seroprevalence of bovine viral diarrhea virus (BVDV) infection in cattle population in Iran: a systematic review and meta-analysis. *Tropical Animal Health and Production*, 53(5), 449. <https://doi.org/10.1007/s11250-021-02918-6>.

178. Diao, N.-C., Gong, Q.-L., Li, J.-M., Zhao, D., Li, D., Zhao, B., Ge, G.-Y., Li, D.-L., Shi, K., & Du, R. (2020). Prevalence of bovine viral diarrhea virus (BVDV) in yaks between 1987 and 2019 in mainland China: A systematic review and meta-analysis. *Microbial Pathogenesis*, 144, 104185. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104185>.
179. Stott, A. W., Humphry, R. W., Gunn, G. J., Higgins, I., Hennessy, T., O'Flaherty, J., & Graham, D. A. (2012). Predicted costs and benefits of eradicating BVDV from Ireland. *Irish Veterinary Journal*, 65(1), 12. <https://doi.org/10.1186/2046-0481-65-12>.
180. Griebel, P. J. (2015). BVDV vaccination in North America: risks versus benefits. *Animal Health Research Reviews*, 16(1), 27–32. <https://doi.org/10.1017/s1466252315000080>.
181. Givens, M. D., & Newcomer, B. W. (2015). Perspective on BVDV control programs. *Animal Health Research Reviews*, 16(1), 78–82. <https://doi.org/10.1017/s1466252315000043>.
182. Lozach, P.-Y. (2018). Early virus–host cell interactions. *Journal of Molecular Biology*, 430(17), 2555–2556. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2018.06.049>.
183. Rumlová, M., & Ruml, T. (2018). In vitro methods for testing antiviral drugs. *Biotechnology Advances*, 36(3), 557–576. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2017.12.016>.
184. Pruijssers, A. J., George, A. S., Schäfer, A., Leist, S. R., Gralinski, L. E., Dinnon, K. H., Yount, B. L., Agostini, M. L., Stevens, L. J., Chappell, J. D., Lu, X., Hughes, T. M., Gully, K., Martinez, D. R., Brown, A. J., Graham, R. L., Perry, J. K., Du Pont, V., Pitts, J., ... Sheahan, T. P. (2020). Remdesivir inhibits SARS-CoV-2 in human lung cells and chimeric SARS-CoV expressing the SARS-CoV-2 RNA polymerase in mice. *Cell Reports*, 32(3), 107940. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.107940>.
185. Yin, J., & Redovich, J. (2018). Kinetic modeling of virus growth in cells. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 82(2), e00066–17. <https://doi.org/10.1128/mmbr.00066-17>.

186. Graves, D. C., & Ferrer, J. F. (1976). *In vitro* transmission and propagation of the bovine leukemia virus in monolayer cell cultures. *Cancer Research*, 36(11 Pt 1), 4152–4159. https://aacrjournals.org/cancerres/article/36/11_Part_1/4152/480910.
187. Olaya-Galán, N. N., Blume, S., Tong, K., Shen, H., Gutierrez, M. F., & Buehring, G. C. (2022). In vitro Susceptibility of Human Cell Lines Infection by Bovine Leukemia Virus. *Frontiers in Microbiology*, 13, 793348. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.793348>.
188. Kerkhofs, P., Adam, E., Droogmans, L., Portetelle, D., Mammerickx, M., Burny, A., Kettmann, R., & Willems, L. (1996). Cellular pathways involved in the ex vivo expression of bovine leukemia virus. *Journal of Virology*, 70(4), 2170–2177. <https://doi.org/10.1128/jvi.70.4.2170-2177.1996>.
189. Sato, H., Watanuki, S., Bai, L., Borjigin, L., Ishizaki, H., Matsumoto, Y., Hachiya, Y., Sentsui, H., & Aida, Y. (2019). A sensitive luminescence syncytium induction assay (LuSIA) based on a reporter plasmid containing a mutation in the glucocorticoid response element in the long terminal repeat U3 region of bovine leukemia virus. *Virology Journal*, 16(1), 66. <https://doi.org/10.1186/s12985-019-1172-2>.
190. Llames, L., Goyache, J., Domenech, A., Arjona, A., Suarez, G., & Gomez-Lucia, E. (2001). Evaluation of virus excretion by cells persistently infected with the bovine leukaemia virus (BLV) using monoclonal antibodies. *Journal of Clinical Virology*, 22(1), 31–39. [https://doi.org/10.1016/s1386-6532\(01\)00154-8](https://doi.org/10.1016/s1386-6532(01)00154-8).
191. Beier, D., Riebe, R., Blankenstein, P., Starick, E., Bondzio, A., & Marquardt, O. (2004). Establishment of a new bovine leukosis virus producing cell line. *Journal of Virological Methods*, 121(2), 239–246. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2004.06.017>.
192. Rapak, A. & Ziolo, E. (2010). *Elisa Assay for Detecting Antibodies Against BLV Surface Antigen gp 51 in Bovine Serum* (WIPO Patent WO/2010/036134). World Intellectual Property Organization. <https://patentscope.wipo.int/search/en/detail.jsf?docId=WO2010036134>.
193. Gorbatenko, S. K., Stegnyy, M. Yu., & Korneykov, A. N. (2016). Reproduction capability of bovine leucosis field isolates in some cell cultures. *Journal*

for *Veterinary Medicine, Biotechnology and Biosafety*, 2(1), 16–19. https://jvmbbs.kharkov.ua/archive/2016/volume2/issue1/pJVMBBS_2016021_016-019.pdf.

194. Suzuki, T., Ikeda, H., & Mase, M. (2018). Restricted viral cDNA synthesis in cell lines that fail to support productive infection by bovine leukemia virus. *Archives of Virology*, 163(9), 2415–2422. <https://doi.org/10.1007/s00705-018-3887-6>.

195. Camargos, M. F., Rajão, D. S., Leite, R. C., Stancek, D., Heinemann, M. B., & Reis, J. K. P. (2014). Genetic variation of bovine leukemia virus (BLV) after replication in cell culture and experimental animals. *Genetics and Molecular Research*, 13(1), 1717–1723. <https://doi.org/10.4238/2014.january.22.11>.

196. Шаповалова, О. В. (2016). Теоретические и практические аспекты получения рекомбинантных антигенов для диагностики лейкоза крупного рогатого скота. *Annals of Mechnikov Institute*, (4), 72–78. <https://doi.org/10.5281/zenodo.192322>.

197. Olivero-Deibe, N., Tomé-Poderti, L., Carrión, F., Bianchi, S., Fló, M., Prieto, D., Rammauro, F., Addiego, A., Ibañez, N., Portela, M., Duran, R., Berois, M., & Pritsch, O. (2021). Expression, purification, and characterization of bovine leukemia virus-like particles produced in drosophila S2 cells. *Frontiers in Virology*, 1, 756559. <https://doi.org/10.3389/fviro.2021.756559>.

198. Wannemuehler, Y., Isaacson, J., Wannemuehler, M., Wood, C., Roth, J. A., & Carpenter, S. (1993). In vitro detection of bovine immunodeficiency-like virus using monoclonal antibodies generated to a recombinant gag fusion protein. *Journal of Virological Methods*, 44(1), 117–127. [https://doi.org/10.1016/0166-0934\(93\)90014-i](https://doi.org/10.1016/0166-0934(93)90014-i).

199. Podolny, Y., Herzig, E., & Hizi, A. (2017). Insights into the molecular and biological features of the dUTPase-related gene of bovine immunodeficiency virus. *Virology*, 506, 55–63. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2017.03.006>.

200. Meas, S., Kabeya, H., Yoshihara, S., Ohashi, K., Matsuki, S., Mikami, Y., Sugimoto, C., & Onuma, M. (1998). Seroprevalence and field isolation of bovine immunodeficiency virus. *Journal of Veterinary Medical Science*, 60(11), 1195–1202. <https://doi.org/10.1292/jvms.60.1195>.

201. Yao, X., Guo, H.-Y., Liu, C., Xu, X., Du, J.-S., Liang, H.-Y., Geng, Y.-Q., & Qiao, W.-T. (2010). A quantitative assay for measuring of bovine immunodeficiency virus using a luciferase-based indicator cell line. *Virologica Sinica*, 25(2), 137–144. <https://doi.org/10.1007/s12250-010-3109-1>.
202. Wright, S. M., Mleczko, A., & Coats, K. S. (2002). Bovine immunodeficiency virus expression in vitro is reduced in the presence of beta-chemokines, MIP-1alpha, MIP-1beta and RANTES. *Veterinary Research Communications*, 26(3), 239–250. <https://doi.org/10.1023/a:1015209806058>.
203. Hachiya, Y., Kimura, K., Oguma, K., Ono, M., Horikita, T., & Sentsui, H. (2018). Isolation of bovine foamy virus in Japan. *Journal of Veterinary Medical Science*, 80(10), 1604–1609. <https://doi.org/10.1292/jvms.18-0121>.
204. Saïb, A. (2003). Non-primate foamy viruses. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, 277, 197–211. https://doi.org/10.1007/978-3-642-55701-9_9.
205. Schmidt, M., Aguzzi, A., Rethwilm, A., Niewiesk, S., & Heeney, J. (1997). Mouse model to study the replication of primate foamy viruses. *Journal of General Virology*, 78(8), 1929–1933. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-78-8-1929>.
206. Горбатенко, С. К., Солодянкін, О. С., Горбатенко, В. П., Коваленко, Л. В., Рудова, Н. Г., Кузнецова, О. В., Мягких, Н. В., & Зданевич, П. П. (2020). Вивчення біологічних властивостей спумавірусу BPX на моделі лабораторних тварин. *Ветеринарна медицина*, 106, 24–28. <https://doi.org/10.36016/vm-2020-106-5>.
207. Ruiz-Saenz, J., Jaime, J., Ramirez, G., & Vera, V. (2012). Molecular and in vitro characterization of field isolates of bovine herpesvirus-1. *Virologica Sinica*, 27(1), 26–37. <https://doi.org/10.1007/s12250-012-3221-5>.
208. Uehara, E. U., Shida, B. d. S., & de Brito, C. A. (2015). Role of nitric oxide in immune responses against viruses: beyond microbicidal activity. *Inflammation Research*, 64(11), 845–852. <https://doi.org/10.1007/s00011-015-0857-2>.
209. Enan, G., Abdallah, F. M., & Sobhy, H. (2012). Effect of acyclovir on bovine herpesvirus type 1 infection in in vitro cultured cells. *International Journal of Virology*, 8(4), 307–312. <https://doi.org/10.3923/ijv.2012.307.312>.

210. Marin, M. S., Leunda, M. R., Verna, A. E., Faverín, C., Pérez, S. E., & Odeón, A. C. (2012). In vitro replication of bovine herpesvirus types 1 and 5. *Journal of Virological Methods*, 181(1), 80–85. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2012.01.016>.

211. Гулянич, М. М., & Недосеков, В. В. (2017). Дослідження інфекційної активності вірусу інфекційного ринотрахеїту великої рогатої худоби за тривалого пасажування в культурі клітин. *Ветеринарна біотехнологія*, 30, 57–62. https://doi.org/10.31073/vet_biotech30-06.

212. Masoumeh, M., Mohsen, L., Fattah, S. N., & Ashraf, M. (2023). Characterization of razi bovine kidney (RBK) cell line as a sensitive cell to bovine herpesvirus-1 (BoHV-1). *Archives of Razi Institute*, 78(5), 1528–1541. <https://doi.org/10.22092/ARI.2023.78.5.1410>.

213. Thunuguntla, P., El-mayet, F. S., & Jones, C. (2017). Bovine herpesvirus 1 can efficiently infect the human (SH-SY5Y) but not the mouse neuroblastoma cell line (Neuro-2A). *Virus Research*, 232, 1–5. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2017.01.011>.

214. Steukers, L., Vandekerckhove, A. P., Van den Broeck, W., Glorieux, S., & Nauwynck, H. J. (2012). Kinetics of BoHV-1 dissemination in an in vitro culture of bovine upper respiratory tract mucosa explants. *ILAR Journal*, 53(1), E43–E54. <https://doi.org/10.1093/ilar.53.1.43>.

215. Xu, J., Li, X., Jiang, B., Feng, X., Wu, J., Cai, Y., Zhang, X., Huang, X., Sealy, J. E., Iqbal, M., & Li, Y. (2018). Antiviral immunotoxin against bovine herpesvirus-1: Targeted inhibition of viral replication and apoptosis of infected cell. *Frontiers in Microbiology*, 9, 653. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00653>.

216. Hewicker-Trautwein, M., Trautwein, G., Moennig, V., & Liess, B. (1992). Infection of ovine fetal brain cell cultures with cytopathogenic and non-cytopathogenic bovine viral diarrhoea virus. *Veterinary Microbiology*, 33(1–4), 239–248. [https://doi.org/10.1016/0378-1135\(92\)90052-u](https://doi.org/10.1016/0378-1135(92)90052-u).

217. Marshall, D. J., Moxley, R. A., & Kelling, C. L. (1996). Distribution of virus and viral antigen in specific pathogen-free calves following inoculation with noncytopathic bovine viral diarrhoea virus. *Veterinary Pathology*, 33(3), 311–318. <https://doi.org/10.1177/030098589603300308>.

218. Fray, M. D., Mann, G. E., Clarke, M. C., & Charleston, B. (2000). Bovine viral diarrhoea virus: its effects on ovarian function in the cow. *Veterinary Microbiology*, 77(1–2), 185–194. [https://doi.org/10.1016/s0378-1135\(00\)00275-3](https://doi.org/10.1016/s0378-1135(00)00275-3).
219. Ran, X., Chen, X., Ma, L., Wen, X., Zhai, J., Wang, M., Tong, X., Hou, G., & Ni, H. (2019). A systematic review and meta-analysis of the epidemiology of bovine viral diarrhea virus (BVDV) infection in dairy cattle in China. *Acta Tropica*, 190, 296–303. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2018.08.031>.
220. Li, Z., Zhao, B., Zhang, Y., Fan, W., Xue, Q., Chen, X., Wang, J., & Qi, X. (2024). Mitochondria-mediated ferroptosis contributes to the inflammatory responses of bovine viral diarrhea virus (BVDV) *in vitro*. *Journal of Virology*, 98(2), e0188023. <https://doi.org/10.1128/jvi.01880-23>.
221. Zhao, Y. Q., Wang, X. F., Zhang, J. L., Wu, Y., Wang, J., & Wang, J. F. (2024). Melatonin inhibits bovine viral diarrhea virus replication by ER stress-mediated NF- κ B signal pathway and autophagy in MDBK cells. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 14, 1431836. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2024.1431836>.
222. Тулепов, Б., Нисанова, р., Акшалова, П., Башенова, Э., Маманова, С., Карабасова, А., Жапбар, А., Акылбай, А., Туркеев, М., & Икрамкулова, Ф. (2025). Вирусная диарея крупного рогатого скота в Казахстане: эпизоотическая ситуация и методы контроля 2024 год. *Наука и образование*, 1(2(79)). <https://doi.org/10.52578/2305-9397-2025-2-1-34-44>.
223. Muhsen, M., Aoki, H., Ikeda, H., & Fukusho, A. (2012). Biological properties of bovine viral diarrhea virus quasispecies detected in the RK13 cell line. *Archives of Virology*, 158(4), 753–763. <https://doi.org/10.1007/s00705-012-1538-x>.
224. Gray, A. R., Wood, B. A., Henry, E., King, D. P., & Mioulet, V. (2021). Elimination of non-cytopathic bovine viral diarrhea virus from the LFBK- α v β 6 cell line. *Frontiers in Veterinary Science*, 8, 715120. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.715120>.
225. Chu, P.-P., Chen, S.-N., Zhou, X., Wei, Z.-Z., & Zhai, S.-L. (2025). Getah Virus: A New Contaminant in Veterinary Vaccines. *Veterinary Sciences*, 12(2), 82. <https://doi.org/10.3390/vetsci12020082>.

226. Корнейков, О. М., Горбатенко, С. К., Завгородній, А. І., Стегній, Б. Т., & Мандигра, М. С. (2019). Сучасні підходи щодо оздоровлення тваринництва України від лейкозу ВРХ. *Ветеринарна медицина*, 105, 37–41. <https://doi.org/10.36016/VM-2019-105-7>.

227. Resende, C. F., Galinari, G. C. F., Victor, R. M., Kassir, T. C., Arcebispo, T. L. M., Delarmelina, E., Leite, R. C., & Reis, J. K. P. (2020). Indirect ELISA (iELISA) standardization for the diagnosis of bovine enzootic leukosis. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 40(12), 977–984. <https://doi.org/10.1590/1678-5150-pvb-6731>.

228. Zhang, S., Troyer, D. L., Kapil, S., Zheng, L., Kennedy, G., Weiss, M., Xue, W., Wood, C., & Minocha, H. C. (1997). Detection of proviral DNA of bovine immunodeficiency virus in bovine tissues by polymerase chain reaction (PCR) and PCR in Situ Hybridization. *Virology*, 236(2), 249–257. <https://doi.org/10.1006/viro.1997.8740>.

229. Yamamoto, M., Okagawa, T., Konnai, S., & Mekata, H. (2025). Development of a multiplex real-time PCR assay for bovine immunodeficiency virus and bovine leukemia virus and its application to a large-scale survey in Kyushu, Japan. *Journal of Veterinary Medical Science*, 87(10), 1164–1169. <https://doi.org/10.1292/jvms.25-0278>.

230. Meas, S., Ohashi, K., Sugimoto, C., & Onuma, M. (2001). Phylogenetic relationships of bovine immunodeficiency virus in cattle and buffaloes based on surface envelope gene sequences. *Archives of Virology*, 146(5), 1037–1045. <https://doi.org/10.1007/s007050170134>.

231. Materniak-Kornas, M., Osiński, Z., Rudzki, M., & Kuźmak, J. (2017). Development of a recombinant protein-based ELISA for detection of antibodies against bovine foamy virus. *Journal of Veterinary Research*, 61(3), 247–252. <https://doi.org/10.1515/jvetres-2017-0034>.

232. Bao, Q., Hipp, M., Hugo, A., Lei, J., Liu, Y., Kehl, T., Hechler, T., & Löchelt, M. (2015). *In vitro* evolution of bovine foamy virus variants with enhanced

cell-free virus titers and transmission. *Viruses*, 7(11), 5855–5874. <https://doi.org/10.3390/v7112907>.

233. Pamba, R., Jeronimo, C., & Archambault, D. (1999). Detection of bovine retrospumavirus by the polymerase chain reaction. *Journal of Virological Methods*, 78(1–2), 199–208. [https://doi.org/10.1016/s0166-0934\(98\)00179-7](https://doi.org/10.1016/s0166-0934(98)00179-7).

234. Lew, A. E., Bock, R. E., Miles, J., Cuttell, L. B., Steer, P., & Nadin-Davis, S. A. (2004). Sensitive and specific detection of bovine immunodeficiency virus and bovine syncytial virus by 5' Taq nuclease assays with fluorescent 3' minor groove binder-DNA probes. *Journal of Virological Methods*, 116(1), 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2003.10.006>.

235. Kramps, J. A., Perrin, B., Edwards, S., & van Oirschot, J. T. (1996). A European inter-laboratory trial to evaluate the reliability of serological diagnosis of bovine herpesvirus 1 infections. *Veterinary Microbiology*, 53(1-2), 153–161. [https://doi.org/10.1016/s0378-1135\(96\)01243-6](https://doi.org/10.1016/s0378-1135(96)01243-6).

236. Mayers, J., & Sawyer, J. (2012). Development and evaluation of a multiplex enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of antibodies to bovine respiratory diseases on the Meso Scale Discovery platform. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 24(4), 725–729. <https://doi.org/10.1177/1040638712446506>.

237. Toker, E. B., & Yeşilbağ, K. (2021). Molecular characterization and comparison of diagnostic methods for bovine respiratory viruses (BPIV-3, BRSV, BVDV, and BoHV-1) in field samples in northwestern Turkey. *Tropical Animal Health and Production*, 53(1), 79. <https://doi.org/10.1007/s11250-020-02489-y>.

238. Nautiyal, S., Nandi, S., Sharma, K., Gairola, V., Sai Balaji, K. G., Biswas, S. K., Agrawal, R., Mahajan, S., Singh, K. P., & Sharma, G. K. (2023). Development and evaluation of recombinant gD protein based ELISA for sero-surveillance of BoHV-1 in India. *Biologicals*, 84, 101720. <https://doi.org/10.1016/j.biologicals.2023.101720>.

239. Araujo, I. L., Piraine, R. E. A., Fischer, G., & Leite, F. P. L. (2023). Recombinant BoHV-5 glycoprotein (rgD5) elicits long-lasting protective immunity in cattle. *Virology*, 584, 44–52. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2023.04.004>.

240. Danu, A. M., Deresa, A. K., & Dinagde, C. G. (2024). Seroprevalence and associated risk factors of infectious bovine rhinotracheitis (IBR) and animal owners' knowledge, attitude and practice (KAP) towards the disease in selected districts of East Wollega Zone, Oromia Regional State, Ethiopia. *Veterinary Medicine and Science*, 10(6), e70043. <https://doi.org/10.1002/vms3.70043>.
241. Keuser, V., Schynts, F., Detry, B., Collard, A., Robert, B., Vanderplasschen, A., Pastoret, P. P., & Thiry, E. (2004). Improved antigenic methods for differential diagnosis of bovine, caprine, and cervine alphaherpesviruses related to bovine herpesvirus 1. *Journal of Clinical Microbiology*, 42(3), 1228–1235. <https://doi.org/10.1128/jcm.42.3.1228-1235.2004>.
242. Yu, Z., Zhao, Z., Chen, L., Yan, H., Cui, Q., Ju, X., Yong, Y., Liu, X., Ma, X., & Zhang, G. (2022). Development of a droplet digital PCR assay to detect bovine alphaherpesvirus 1 in bovine semen. *BMC Veterinary Research*, 18(1), 125. <https://doi.org/10.1186/s12917-022-03235-2>.
243. Chandranaik, B. M., Rathnamma, D., Patil, S. S., Kovi, R. C., Dhawan, J., Ranganatha, S., Isloor, S., Renukaprasad, C., & Prabhudas, K. (2012). Development of a probe based real time PCR assay for detection of bovine herpes virus-1 in semen and other clinical samples. *Indian Journal of Virology*, 24(1), 16–26. <https://doi.org/10.1007/s13337-012-0112-1>.
244. Samrath, D., Shakya, S., Rawat, N., Gilhare, V. R., & Singh, F. (2016). Isolation and adaptation of bovine herpes virus Type 1 in embryonated chicken eggs and in Madin–Darby bovine kidney cell line. *Veterinary World*, 9(2), 222–225. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2016.222-225>.
245. Brock, K. V. (1995). Diagnosis of bovine viral diarrhea virus infections. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 11(3), 549–561. [https://doi.org/10.1016/s0749-0720\(15\)30466-7](https://doi.org/10.1016/s0749-0720(15)30466-7).
246. Toplak, I., Hostnik, P., Černe, D., Mrkun, J., & Starič, J. (2021). The principles of the voluntary programme for the control and elimination of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) from infected herds in Slovenia. *Frontiers in Veterinary Science*, 19(8), 676473. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.676473>.

247. Jiang, L., Zhang, G., Wang, P., Niu, X., Liu, Q., Zhang, S., Gao, W., & Li, Y. (2024). Simultaneous detection of bovine viral diarrhea virus (BVDV) and bovine herpesvirus 1 (BoHV-1) using recombinase polymerase amplification. *Scientific Reports*, 14(1), 10169. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-56869-7>.

248. Wernike, K., & Beer, M. (2022). International proficiency trial for bovine viral diarrhea virus (BVDV) antibody detection: limitations of milk serology. *BMC Veterinary Research*, 18(1), 168. <https://doi.org/10.1186/s12917-022-03265-w>.

249. Brodersen, B. W. (2004). Immunohistochemistry used as a screening method for persistent bovine viral diarrhea virus infection. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 20(1), 85–93. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2003.11.007>.

250. Deshmukh, S. P., Patil, S. M., Mullani, S. B., & Delekar, S. D. (2019). Silver nanoparticles as an effective disinfectant: A review. *Materials Science and Engineering: C*, 97, 954–965. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.12.102>.

251. Aderibigbe, B. (2017). Metal-based nanoparticles for the treatment of infectious diseases. *Molecules*, 22(8), 1370. <https://doi.org/10.3390/molecules22081370>.

252. Jiang, H., Li, L., Li, Z., & Chu, X. (2024). Metal-based nanoparticles in antibacterial application in biomedical field: Current development and potential mechanisms. *Biomedical Microdevices*, 26(1), 12. <https://doi.org/10.1007/s10544-023-00686-8>.

253. Su, Y., Wang, B., Tong, X., Peng, S., Liu, S., Xing, B., & Ji, R. (2022). Steam disinfection enhances bioaccessibility of metallic nanoparticles in nano-enabled silicone-rubber baby bottle teats, pacifiers, and teethers. *Journal of Environmental Sciences*, 136, 161–171. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2022.08.001>.

254. Yin, I. X., Zhang, J., Zhao, I. S., Mei, M. L., Li, Q., & Chu, C. H. (2020). The antibacterial mechanism of silver nanoparticles and its application in dentistry. *International Journal of Nanomedicine*, 15, 2555–2562. <https://doi.org/10.2147/ijn.s246764>.

255. Carrapiço, A., Martins, M. R., Caldeira, A. T., Mirão, J., & Dias, L. (2023). Biosynthesis of metal and metal oxide nanoparticles using microbial cultures:

Mechanisms, antimicrobial activity and applications to cultural heritage. *Microorganisms*, 11(2), 378. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11020378>.

256. Huang, Q., Luo, A., Jiang, L., Zhou, Y., Yang, Y., Liu, Q., & Zhang, C. (2019). Disinfection efficacy of green synthesized gold nanoparticles for medical disinfection applications. *African Health Sciences*, 19(1), 1441–1448. <https://doi.org/10.4314/ahs.v19i1.17>.

257. Wahab, S., Salman, A., Khan, Z., Khan, S., Krishnaraj, C., & Yun, S.-I. (2023). Metallic nanoparticles: A promising arsenal against antimicrobial resistance — unraveling mechanisms and enhancing medication efficacy. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(19), 14897. <https://doi.org/10.3390/ijms241914897>.

258. Franco, D., Calabrese, G., Guglielmino, S. P. P., & Conoci, S. (2022). Metal-based nanoparticles: antibacterial mechanisms and biomedical application. *Microorganisms*, 10(9), 1778. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10091778>.

259. Amaro, F., Morón, Á., Díaz, S., Martín-González, A., & Gutiérrez, J. C. (2021). Metallic nanoparticles — friends or foes in the battle against antibiotic-resistant bacteria? *Microorganisms*, 9(2), 364. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9020364>.

260. Li, S., Guo, X., Gao, R., Sun, M., Xu, L., Xu, C., & Kuang, H. (2021). Recent progress on biomaterials fighting against viruses. *Advanced Materials*, 33(14), e2005424. <https://doi.org/10.1002/adma.202005424>.

261. Dagan, N., Barda, N., Kepten, E., Miron, O., Perchik, S., Katz, M. A., Hernán, M. A., Lipsitch, M., Reis, B., & Balicer, R. D. (2021). BNT162b2 mRNA Covid-19 vaccine in a nationwide mass vaccination setting. *New England Journal of Medicine*, 384(15), 1412–1423. <https://doi.org/10.1056/nejmoa2101765>.

262. Maduray, K., & Parboosing, R. (2021). Metal Nanoparticles: a Promising Treatment for Viral and Arboviral Infections. *Biological Trace Element Research*, 199(8), 3159–3176. <https://doi.org/10.1007/s12011-020-02414-2>.

263. Shoueir, K. R., El-Desouky, N., Rashad, M. M., Ahmed, M. K., Janowska, I., & El-Kemary, M. (2020). Chitosan based-nanoparticles and nanocapsules: Overview, physicochemical features, applications of a nanofibrous scaffold, and

bioprinting. *International Journal of Biological Macromolecules*, 167, 1176–1197. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.11.072>.

264. Liu, X.-B., Yu, G.-W., Gao, X.-Y., Huang, J.-L., Qin, L.-T., Ni, H.-B., & Lyu, C. (2021). Intranasal delivery of plasmids expressing bovine herpesvirus 1 gB/gC/gD proteins by polyethyleneimine magnetic beads activates long-term immune responses in mice. *Virology Journal*, 18(1), 60. <https://doi.org/10.1186/s12985-021-01536-w>.

265. Wibowo, D., Jorritsma, S. H. T., Gonzaga, Z. J., Evert, B., Chen, S., & Rehm, B. H. A. (2021). Polymeric nanoparticle vaccines to combat emerging and pandemic threats. *Biomaterials*, 268, 120597. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2020.120597>.

266. Hou, X., Zaks, T., Langer, R., & Dong, Y. (2021). Lipid nanoparticles for mRNA delivery. *Nature Reviews Materials*, 6(12), 1078–1094. <https://doi.org/10.1038/s41578-021-00358-0>.

267. Simon, M., Veit, M., Osterrieder, K., & Gradzielski, M. (2021). Surfactants — Compounds for inactivation of SARS-CoV-2 and other enveloped viruses. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 55, 101479. <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2021.101479>.

268. Tuladhar, E., de Koning, M. C., Fundeanu, I., Beumer, R., & Duizer, E. (2012). Different virucidal activities of hyperbranched quaternary ammonium coatings on poliovirus and influenza virus. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(7), 2456–2458. <https://doi.org/10.1128/aem.07738-11>.

269. Crisci, E., Bárcena, J., & Montoya, M. (2012). Virus-like particles: The new frontier of vaccines for animal viral infections. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 148(3–4), 211–225. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2012.04.026>.

270. Kobayashi, T., Yasuno, T., Takahashi, K., Nakamura, S., Mashino, T., & Ohe, T. (2021). Novel pyridinium-type fullerene derivatives as multitargeting inhibitors of HIV-1 reverse transcriptase, HIV-1 protease, and HCV NS5B polymerase. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 49, 128267. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2021.128267>.

271. Ibrahim Fouad, G. (2021). A proposed insight into the anti-viral potential of metallic nanoparticles against novel coronavirus disease-19 (COVID-19). *Bulletin of the National Research Centre*, 45(1), 36. <https://doi.org/10.1186/s42269-021-00487-0>.

272. Gautam, S., Das, D. K., Kaur, J., Kumar, A., Ubaidullah, M., Hasan, M., Yadav, K. K., & Gupta, R. K. (2023). Transition metal-based nanoparticles as potential antimicrobial agents: recent advancements, mechanistic, challenges, and future prospects. *Discover Nano*, 18(1), 84. <https://doi.org/10.1186/s11671-023-03861-1>.

273. Burlec, A. F., Corciova, A., Boev, M., Batir-Marin, D., Mircea, C., Cioanca, O., Danila, G., Danila, M., Bucur, A. F., & Hancianu, M. (2023). Current overview of metal nanoparticles' synthesis, characterization, and biomedical applications, with a focus on silver and gold nanoparticles. *Pharmaceuticals*, 16(10), 1410. <https://doi.org/10.3390/ph16101410>.

274. Kaur, R., Kaur, K., Alyami, M. H., Lang, D. K., Saini, B., Bayan, M. F., & Chandrasekaran, B. (2023). Combating microbial infections using metal-based nanoparticles as potential therapeutic alternatives. *Antibiotics*, 12(5), 909. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12050909>.

275. Paliy, A. P., Kovalenko, L. V., Romanko, M. Y., Stegnyy, M. Y., Kolchyk, O. V., Zavgorodniy, A. I., & Kornieikov, O. M. (2023). Biological properties of nanomaterials (literature review). *Journal for Veterinary Medicine, Biotechnology and Biosafety*, 9(1–2), 20–30. <https://doi.org/10.36016/jymbbs-2023-9-1-2-4>.

276. Singh, P., Ali, S. W., & Kale, R. D. (2023). antimicrobial nanomaterials as advanced coatings for self-sanitizing of textile clothing and personal protective equipment. *ACS Omega*, 8(9), 8159–8171. <https://doi.org/10.1021/acsomega.2c06343>.

277. Wang, L., Hu, C., & Shao, L. (2017). The antimicrobial activity of nanoparticles: present situation and prospects for the future. *International Journal of Nanomedicine*, 12, 1227–1249. <https://doi.org/10.2147/ijn.s121956>.

278. Medic, B. S., Tomic, N., Lagopati, N., Gazouli, M., & Pojskic, L. (2024). Advances in metal and metal oxide nanomaterials for topical antimicrobial applications: insights and future perspectives. *Molecules*, 29(23), 5551. <https://doi.org/10.3390/molecules29235551>.

279. Sánchez-López, E., Gomes, D., Esteruelas, G., Bonilla, L., Lopez-Machado, A. L., Galindo, R., Cano, A., Espina, M., Ettcheto, M., Camins, A., Silva, A. M., Durazzo, A., Santini, A., Garcia, M. L., & Souto, E. B. (2020). Metal-based nanoparticles as antimicrobial agents: an overview. *Nanomaterials*, 10(2), 292. <https://doi.org/10.3390/nano10020292>.
280. Guerrero Correa, M., Martínez, F. B., Vidal, C. P., Streitt, C., Escrig, J., & de Dicastillo, C. L. (2020). Antimicrobial metal-based nanoparticles: a review on their synthesis, types and antimicrobial action. *Beilstein Journal of Nanotechnology*, 11, 1450–1469. <https://doi.org/10.3762/bjnano.11.129>.
281. Kadiyala, U., Kotov, N. A., & VanEpps, J. S. (2018). Antibacterial metal oxide nanoparticles: challenges in interpreting the literature. *Current Pharmaceutical Design*, 24(8), 896–903. <https://doi.org/10.2174/1381612824666180219130659>.
282. Fayadoglu, M., Fayadoglu, E., Er, S., Koparal, A. T., & Koparal, A. S. (2022). Determination of biological activities of nanoparticles containing silver and copper in water disinfection with/without ultrasound technique. *Journal of Environmental Health Science and Engineering*, 21(1), 73–83. <https://doi.org/10.1007/s40201-022-00839-6>.
283. Venis, R. A., & Basu, O. D. (2023). Elution and disinfection of silver and zinc nanoparticles in co-fired ceramic water filters. *Science of The Total Environment*, 887, 163317. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.163317>.
284. Yuan, Z., Chen, Y., Li, T., & Yu, C.-P. (2013). Reaction of silver nanoparticles in the disinfection process. *Chemosphere*, 93(4), 619–625. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.06.010>.
285. Jin, S.-E., Hwang, W., Lee, H. J., & Jin, H.-E. (2017). Dual UV irradiation-based metal oxide nanoparticles for enhanced antimicrobial activity in *Escherichia coli* and M13 bacteriophage. *International Journal of Nanomedicine*, 12, 8057–8070. <https://doi.org/10.2147/ijn.s144236>.
286. Hu, Z.-T., Chen, Y., Fei, Y.-F., Loo, S.-L., Chen, G., Hu, M., Song, Y., Zhao, J., Zhang, Y., & Wang, J. (2022). An overview of nanomaterial-based novel disinfection technologies for harmful microorganisms: Mechanism, synthesis, devices

and application. *Science of The Total Environment*, 837, 155720. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.155720>.

287. Bruna, T., Maldonado-Bravo, F., Jara, P., & Caro, N. (2021). Silver nanoparticles and their antibacterial applications. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(13), 7202. <https://doi.org/10.3390/ijms22137202>.

288. Xu, L., Wang, Y.-Y., Huang, J., Chen, C.-Y., Wang, Z.-X., & Xie, H. (2020). Silver nanoparticles: Synthesis, medical applications and biosafety. *Theranostics*, 10(20), 8996–9031. <https://doi.org/10.7150/thno.45413>.

289. Lara, H. H., Ayala-Núñez, N. V., Ixtapan-Turrent, L., & Rodriguez-Padilla, C. (2010). Mode of antiviral action of silver nanoparticles against HIV-1. *Journal of Nanobiotechnology*, 8(1), 1. <https://doi.org/10.1186/1477-3155-8-1>.

290. Lin, N., Verma, D., Saini, N., Arbi, R., Munir, M., Jovic, M., & Turak, A. (2021). Antiviral nanoparticles for sanitizing surfaces: A roadmap to self-sterilizing against COVID-19. *Nano Today*, 40, 101267. <https://doi.org/10.1016/j.nantod.2021.101267>.

291. Jamshidinia, N., & Mohammadipanah, F. (2022). Nanomaterial-augmented formulation of disinfectants and antiseptics in controlling SARS CoV-2. *Food and Environmental Virology*, 14(2), 105–119. <https://doi.org/10.1007/s12560-022-09517-0>.

292. Park, S., Park, H. H., Ko, Y.-S., Lee, S. J., Le, T. S., Woo, K., & Ko, G. (2017). Disinfection of various bacterial pathogens using novel silver nanoparticle-decorated magnetic hybrid colloids. *Science of The Total Environment*, 609, 289–296. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.07.071>.

293. More, P. R., Pandit, S., Filippis, A. D., Franci, G., Mijakovic, I., & Galdiero, M. (2023). Silver Nanoparticles: Bactericidal and Mechanistic Approach against Drug Resistant Pathogens. *Microorganisms*, 11(2), 369. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11020369>.

294. Shkodenko, L., Kassirov, I., & Koshel, E. (2020). Metal oxide nanoparticles against bacterial biofilms: perspectives and limitations. *Microorganisms*, 8(10), 1545. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8101545>.

295. Santos, A. S. G. G., Ramalho, P. S. F., Viana, A. T., Lopes, A. R., Gonçalves, A. G., Nunes, O. C., Pereira, M. F. R., & Soares, O. S. G. P. (2021). Feasibility of using magnetic nanoparticles in water disinfection. *Journal of Environmental Management*, 288, 112410. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.112410>.
296. Dykman, L. A., & Khlebtsov, N. G. (2019). Gold nanoparticles in chemo-, immuno-, and combined therapy: review [Invited]. *Biomedical Optics Express*, 10(7), 3152. <https://doi.org/10.1364/boe.10.003152>.
297. Al-Fahham, B. M., Mohamed, R. A., Al-Talqani, J. M. T., Fahad, A. H., & Haider, J. (2023). Evaluating antimicrobial effectiveness of gold nanoparticles against streptococcus oralis. *International Journal of Dentistry*, 2023, 1–8. <https://doi.org/10.1155/2023/9935556>.
298. Жолобак, Н. М., Олевинская, З. М., Спивак, Н. Я., Щербаков, А. Б., & Иванов, В. К., Усатенко, А. В. (2010). Антивирусное действие наночастиц оксида церия, стабилизированных низкомолекулярной полиакриловой кислотой. *Мікробіологічний журнал*, 72(3), 42–47. http://nbuv.gov.ua/UJRN/MicroBiol_2010_72_3_8.
299. Celardo, I., Pedersen, J. Z., Traversa, E., & Ghibelli, L. (2011). Pharmacological potential of cerium oxide nanoparticles. *Nanoscale*, 3(4), 1411–1420. <https://doi.org/10.1039/c0nr00875c>.
300. Shcherbakov, A. B., Zholobak, N. M., & Ivanov, V. K. (2020). Biological, biomedical and pharmaceutical applications of cerium oxide. In *Cerium Oxide (CeO₂): Synthesis, Properties and Applications* (pp. 279–358). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-815661-2.00008-6>.
301. Naz, S., Kazmi, S. T. B., & Zia, M. (2019). CeO₂ nanoparticles synthesized through green chemistry are biocompatible: *In vitro* and *in vivo* assessment. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 33(5), e22291. <https://doi.org/10.1002/jbt.22291>.
302. Nefedova, A., Rausalu, K., Zusinaite, E., Vanetsev, A., Rosenberg, M., Koppel, K., Lilla, S., Visnapuu, M., Smits, K., Kisand, V., Tätte, T., & Ivask, A. (2022).

Antiviral efficacy of cerium oxide nanoparticles. *Scientific Reports*, 12(1), 18746. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-23465-6>.

303. De Souza e Silva, J. M., Hanchuk, T. D. M., Santos, M. I., Kobarg, J., Bajgelman, M. C., & Cardoso, M. B. (2016). Viral inhibition mechanism mediated by surface-modified silica nanoparticles. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 8(26), 16564–16572. <https://doi.org/10.1021/acsami.6b03342>.

304. Korsvik, C., Patil, S., Seal, S., & Self, W. T. (2007). Superoxide dismutase mimetic properties exhibited by vacancy engineered ceria nanoparticles. *Chemical Communications*, (10), 1056. <https://doi.org/10.1039/b615134e>.

305. Banik, B. L., Fattahi, P., & Brown, J. L. (2015). Polymeric nanoparticles: the future of nanomedicine. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*, 8(2), 271–299. <https://doi.org/10.1002/wnan.1364>.

306. Ahmed, H. E., Iqbal, Y., Aziz, M. H., Atif, M., Batool, Z., Hanif, A., Yaqub, N., Farooq, W. A., Ahmad, S., Fatehmulla, A., & Ahmad, H. (2021). Green Synthesis of CeO₂ nanoparticles from the abelmoschus esculentus extract: Evaluation of antioxidant, anticancer, antibacterial, and wound-healing activities. *Molecules*, 26(15), 4659. <https://doi.org/10.3390/molecules26154659>.

307. Tang, J. L. Y., Moonshi, S. S., & Ta, H. T. (2023). Nanoceria: an innovative strategy for cancer treatment. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 80(2), 46. <https://doi.org/10.1007/s00018-023-04694-y>.

308. Sarnatskaya, V., Shlapa, Y., Yushko, L., Shton, I., Solopan, S., Ostrovska, G., Kalachniuk, L., Negelia, A., Garmanchuk, L., Prokopenko, I., Khudenko, N., Maslenny, V., Bubnovskaya, L., Belous, A., & Nikolaev, V. (2020). Biological activity of cerium dioxide nanoparticles. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 108(8), 1703–1712. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.36936>.

309. Uzair, B., Akhtar, N., Sajjad, S., Bano, A., Fasim, F., Zafar, N., & Leghari, S. A. K. (2020). Targeting microbial biofilms: by *Arctium lappa* L. synthesised biocompatible CeO₂-NPs encapsulated in nano-chitosan. *IET Nanobiotechnology*, 14(3), 217–223. <https://doi.org/10.1049/iet-nbt.2019.0294>.

310. Shcherbakov, A. B., Reukov, V. V., Yakimansky, A. V., Krasnopeeve, E. L., Ivanova, O. S., Popov, A. L., & Ivanov, V. K. (2021). CeO₂ nanoparticle-containing polymers for biomedical applications: A review. *Polymers*, 13(6), 924. <https://doi.org/10.3390/polym13060924>.
311. Deshpande, S., Patil, S., Kuchibhatla, S. V., & Seal, S. (2005). Size dependency variation in lattice parameter and valency states in nanocrystalline cerium oxide. *Applied Physics Letters*, 87(13), 133113. <https://doi.org/10.1063/1.2061873>.
312. Nadeem, M., Khan, R., Afridi, K., Nadhman, A., Ullah, S., Faisal, S., Mabood, Z. U., Hano, C., & Abbasi, B. H. (2020). Green synthesis of cerium oxide nanoparticles (CeO₂ NPs) and their antimicrobial applications: A review. *International Journal of Nanomedicine*, 15, 5951–5961. <https://doi.org/10.2147/ijn.s255784>.
313. Zolnik, B. S., González-Fernández, A., Sadrieh, N., & Dobrovolskaia, M. A. (2010). Minireview: Nanoparticles and the immune system. *Endocrinology*, 151(2), 458–465. <https://doi.org/10.1210/en.2009-1082>.
314. Sohaebuddin, S. K., Thevenot, P. T., Baker, D., Eaton, J. W., & Tang, L. (2010). Nanomaterial cytotoxicity is composition, size, and cell type dependent. *Particle and Fibre Toxicology*, 7(1), 22. <https://doi.org/10.1186/1743-8977-7-22>.
315. Mohammadinejad, R., Moosavi, M. A., Tavakol, S., Vardar, D. Ö., Hosseini, A., Rahmati, M., Dini, L., Hussain, S., Mandegary, A., & Klionsky, D. J. (2018). Necrotic, apoptotic and autophagic cell fates triggered by nanoparticles. *Autophagy*, 15(1), 4–33. <https://doi.org/10.1080/15548627.2018.1509171>.
316. Niles, A. L., Moravec, R. A., & Riss, T. L. (2009). In vitro Viability and Cytotoxicity Testing and Same-Well Multi-Parametric Combinations for High Throughput Screening. *Current Chemical Genomics*, 3, 33–41. <https://doi.org/10.2174/1875397300903010033>.
317. Khalef, L., Lydia, R., Filicia, K., & Moussa, B. (2024). Cell viability and cytotoxicity assays: Biochemical elements and cellular compartments. *Cell Biochemistry and Function*, 42(3), e4007. <https://doi.org/10.1002/cbf.4007>.

318. Kim, I.-S., Baek, M., & Choi, S.-J. (2010). Comparative cytotoxicity of Al_2O_3 , CeO_2 , TiO_2 and ZnO nanoparticles to human lung cells. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 10(5), 3453–3458. <https://doi.org/10.1166/jnn.2010.2340>.

319. Salas-Orozco, M. F., Lorenzo-Leal, A. C., de Alba Montero, I., Marín, N. P., Santana, M. A. C., & Bach, H. (2024). Mechanism of escape from the antibacterial activity of metal-based nanoparticles in clinically relevant bacteria: A systematic review. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 55, 102715. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2023.102715>.

320. Shkromada, O., Skliar, O., Paliy, A., Ulko, L., Gerun, I., Naumenko, O., Ishchenko, K., Kysterna, O., Musiienko, O., & Paliy, A. (2019). Development of measures to improve milk quality and safety during production. *Eastern-European Journal of Enterprise Technologies*, 3(11 (99)), 30–39. <https://doi.org/10.15587/1729-4061.2019.168762>.

321. Палій, А. П., Церенюк, О. М., & Рибалко, В. П. (2024). Сучасні питання благополуччя та забезпечення здоров'я тварин у свинарстві (оглядова). *Свинарство і агропромислове виробництво*, 3(81), 168–193. [https://doi.org/10.37143/2786-7730-2024-3\(81\)12](https://doi.org/10.37143/2786-7730-2024-3(81)12).

322. Палій, А. П., Завгородній, А. І., Стегній, Б. Т., Палій, А. П. (2020). *Науково-методичні основи контролю розробки та застосування засобів дезінфекції*. Харків : Міськдрук. <https://doi.org/10.36016/VB-2020-1>.

323. Scheib, S., Leimbach, S., Avramidis, G., Bellmann, M., Nitz, J., Ochs, C., Tellen, A., Wente, N., Zhang, Y., Viöl, W., & Krömker, V. (2023). Intermediate cluster disinfection: which disinfection solution is most effective on milking liners? A comparison of microorganism reduction on liner inner surfaces using quantitative swab sampling technique. *Pathogens*, 12(4), 560. <https://doi.org/10.3390/pathogens12040560>.

324. Connor, J. T. O., Clegg, T. A., & More, S. J. (2017). Efficacy of washing and disinfection in cattle markets in Ireland. *Irish Veterinary Journal*, 70(1), 6. <https://doi.org/10.1186/s13620-017-0081-1>.

325. Палій, А. П., Коваленко, Л. В., Павліченко, О. В., Яценко, С. В., Палій, Н. В., Родченко, Л. М. (2025). Організація дезбар'єрів та знезараження

ґрунту у тваринництві. *Ветеринарія, технології тваринництва та природокористування*, 11, 131–137. <https://doi.org/10.31890/vttp.2025.11.12>.

326. Paliy, A., Biloivan, O., Michalchenko, S., Korkh, I., & Pavlichenko, O. (2024). Sanitation of air in livestock facilities. *The Scientific and Technical Bulletin of the Institute of Animal Science NAAS of Ukraine*, (132), 219–230. <https://doi.org/10.32900/2312-8402-2024-132-219-230>.

327. Makovska, I., Chantziaras, I., Caekebeke, N., Dhaka, P., & Dewulf, J. (2024). Assessment of Cleaning and Disinfection Practices on Pig Farms across Ten European Countries. *Animals*, 14(4), 593. <https://doi.org/10.3390/ani14040593>.

328. Мирончук, В. О., & Пелено, р. А. (2023). Ретроспективний аналіз виробництва основних активних інгредієнтів та асортименту дезінфекційних засобів в Україні. *Науковий вісник ЛНУ ветеринарної медицини та біотехнологій. Серія: Ветеринарні науки*, 25(110), 69–75. <https://doi.org/10.32718/nvlvet11011>.

329. Paliy, A., Zavgorodnii, A., Rodionova, K., Borovkov, S., Pavlichenko, O., Dubin, R., & Ihnatieva, T. (2024). Resistance of different types of nontuberculous mycobacteria to aldehyde disinfectants. *Veterinarski Arhiv*, 94(6), 499–512. <https://doi.org/10.24099/vet.arhiv.2515>.

330. van Dijk, H. F. G., Verbrugh, H. A., Abee, T., Andriessen, J. W., van Dijk, H. F. G., ter Kuile, B. H., Mevius, D. J., Montforts, M. H. M. M., van Schaik, W., Schmitt, H., Smidt, H., Veening, J.-W., & Voss, A. (2022). Resisting disinfectants. *Communications Medicine*, 2(1), 6. <https://doi.org/10.1038/s43856-021-00070-8>.

331. Tong, C., Hu, H., Chen, G., Li, Z., Li, A., & Zhang, J. (2021). Disinfectant resistance in bacteria: Mechanisms, spread, and resolution strategies. *Environmental Research*, 195, 110897. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.110897>.

332. Rakshit, P., Singh, A., Singh, R., & Banerjee, T. (2024). An in-depth study on survival mechanism of bacterial isolates in disinfectants within the hospital environment. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 14, 1442914. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2024.1442914>.

333. Meade, E., Slattery, M. A., & Garvey, M. (2021). Biocidal Resistance in Clinically Relevant Microbial Species: A Major Public Health Risk. *Pathogens*, 10(5), 598. <https://doi.org/10.3390/pathogens10050598>.

334. Mc Carlie, S., Boucher, C. E., & Bragg, R. R. (2022). Corrigendum to “Molecular basis of bacterial disinfectant resistance” [Drug Resist. Updates 48 (2020) 100672]. *Drug Resistance Updates*, 65, 100867. <https://doi.org/10.1016/j.drug.2022.100867>.

335. Guo, A., Li, Q., Liu, L., Zhang, X., Liu, W., & Ruan, Y. (2021). Formation of multi-species biofilms and their resistance to disinfectants in food processing environments: A review. *Journal of Food Protection*, 8(12), 2071–2083. <https://doi.org/10.4315/jfp-21-071>.

336. Kamal, M. A., Khalaf, M. A., Ahmed, Z. A. M., & El Jakee, J. (2019). Evaluation of the efficacy of commonly used disinfectants against isolated chlorine-resistant strains from drinking water used in Egyptian cattle farms. *December-2019*, 12(12), 2025–2035. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2019.2025-2035>.

337. Maertens, H., De Reu, K., Meyer, E., Van Coillie, E., & Dewulf, J. (2019). Limited association between disinfectant use and either antibiotic or disinfectant susceptibility of *Escherichia coli* in both poultry and pig husbandry. *BMC Veterinary Research*, 15(1), 310. <https://doi.org/10.1186/s12917-019-2044-0>.

338. Ózsvári, L., & Ivanyos, D. (2022). The use of teat disinfectants and milking machine cleaning products in commercial Holstein-Friesian farms. *Frontiers in Veterinary Science*, 9, 956843. <https://doi.org/10.3389/fvets.2022.956843>.

339. Ichii, O., Nakamura, T., Hiraishi, M., Namba, T., Rubel, M. Z. U., Umeyama, T., & Asai, M. (2025). Application of chlorous acid water for disinfection of surgical site in dairy cows. *Frontiers in Veterinary Science*, 12, 1444674. <https://doi.org/10.3389/fvets.2025.1444674>.

340. Gosling, R. J., Mawhinney, I., Vaughan, K., Davies, R. H., & Smith, R. P. (2017). Efficacy of disinfectants and detergents intended for a pig farm environment where *Salmonella* is present. *Veterinary Microbiology*, 204, 46–53. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2017.04.004>.

341. Dewaele, I., Ducatelle, R., Herman, L., Heyndrickx, M., & De Reu, K. (2011). Sensitivity to disinfection of bacterial indicator organisms for monitoring the Salmonella Enteritidis status of layer farms after cleaning and disinfection. *Poultry Science*, 90(6), 1185–1190. <https://doi.org/10.3382/ps.2010-01178>.
342. Paliy, A., Pavlichenko, O., Yatsenko, S., & Palii, N. (2025). Innovations in sanitation and hygiene in cattle breeding. *Agrarian Bulletin of the Black Sea Littoral*, (114), 47–57. <https://doi.org/10.37000/abbsl.2025.114.05>.
343. Paliy, A. P., Kovalenko, L. V., Rodionova, K. O., Pavlichenko, O. V., Khimych, M. S., & Balta, M. P. (2024). Pathomorphological changes in laboratory animals exposed to lethal doses of disinfectants. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 15(1), 107–112. <https://doi.org/10.15421/022416>.
344. AlZain, S. (2019). Effect of 0.5% glutaraldehyde disinfection on surface wettability of elastomeric impression materials. *The Saudi Dental Journal*, 31(1), 122–128. <https://doi.org/10.1016/j.sdentj.2018.10.002>.
345. Qiu, Y., Xu, J., Xu, Y., Shi, Z., Wang, Y., Zhang, L., & Fu, B. (2023). Disinfection efficacy of sodium hypochlorite and glutaraldehyde and their effects on the dimensional stability and surface properties of dental impressions: a systematic review. *PeerJ*, 11, e14868. <https://doi.org/10.7717/peerj.14868>.
346. Brill, F. H. H., Becker, B., Todt, D., Steinmann, E., Steinmann, J., Paulmann, D., Bischoff, B., & Steinmann, J. (2020). Virucidal efficacy of glutaraldehyde for instrument disinfection. *GMS hygiene and infection control*, 15, Doc34. <https://doi.org/10.3205/dgkh000369>.
347. Ma, H., Li, Q., Feng, K., Zhang, Y., Zhu, H., Chen, C., & Yan, K. (2017). Glutaraldehyde inactivation of enveloped DNA viruses in the preparation of haemoglobin-based oxygen carriers. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 46(1), 33–38. <https://doi.org/10.1080/21691401.2017.1394875>.
348. Panny, L. E., Piper, A. E., Gardner, C. L., & Burke, C. W. (2024). Formalin and 2.5% Glutaraldehyde/2% Paraformaldehyde in 0.1 M Cacodylate Buffer Inactivation Protocols to Ensure the Proper Fixation of Positive Sense RNA Viruses and

Genomic Material Prior to Removal from Containment. *Methods and Protocols*, 7(6), 105. <https://doi.org/10.3390/mps7060105>.

349. Chambon, M., Archimbaud, C., Bailly, J. L., Gourgand, J. M., Charbonné, F., & Peigue-Lafeuille, H. (2004). Virucidal efficacy of glutaraldehyde against enteroviruses is related to the location of lysine residues in exposed structures of the VP1 capsid protein. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(3), 1717–1722. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.3.1717-1722.2004>.

350. Lin, W., Guan, X., Cao, J., Niu, B., & Chen, Q. (2017). Bactericidal mechanism of glutaraldehyde-didecyltrimethylammonium bromide as a disinfectant against *Escherichia coli*. *Journal of Applied Microbiology*, 122(3), 676–685. <https://doi.org/10.1111/jam.13384>.

351. Sehmi, S. K., Allan, E., MacRobert, A. J., & Parkin, I. (2016). The bactericidal activity of glutaraldehyde-impregnated polyurethane. *MicrobiologyOpen*, 5(5), 891–897. <https://doi.org/10.1002/mbo3.378>.

352. Merchel Piovesan Pereira, B., Adil Salim, M., Rai, N., & Tagkopoulos, I. (2021). Tolerance to glutaraldehyde in *Escherichia coli* mediated by overexpression of the aldehyde reductase YqhD by YqhC. *Frontiers in Microbiology*, 12, 680553. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.680553>.

353. Kode, S. S., Pawar, S. D., Tare, D. S., & Mullick, J. (2021). Application of frozen and stored glutaraldehyde-fixed turkey red blood cells for hemagglutination and hemagglutination inhibition assays for the detection and identification of influenza viruses. *Journal of Virological Methods*, 289, 114046. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2020.114046>.

354. Paliy, A. P., Stegnyy, B. T., Bolotin, V. I., Rodionova, K. A., Ihnatieva, T. M., Bobrytska, O. M., Kushnir, V. Y., Matsenko, O. V., Kushch, L. L., Bulavina, V. S., Ilyna, O. V., & Paliy, A. P. (2021). Study of disinfectants bactericidal properties against *Campylobacter spp.* at sub-zero temperatures. *Ukrainian Journal of Ecology*, 11(1), 391–398. <https://www.ujecology.com/abstract/study-of-disinfectants-bactericidal-properties-against-campylobacter-spp-at-subzero-temperatures-64173.html>.

355. Paliy, A. P., Sumakova, N. V., Rodionova, K. O., Nalivayko, L. I., Boyko, V. S., Ihnatieva, T. M., Zhigalova, O. Ye., Dudus, T. V., Anforova, M. V., & Kazakov, M. V. (2020). Disinvasive action of aldehyde and chlorine disinfectants on the test-culture of *Toxocara canis* eggs. *Ukrainian Journal of Ecology*, 10(4), 175–183. <https://www.ujecology.com/articles/disinvasive-action-of-aldehyde-and-chlorine-disinfectants-on-the-testculture-of-toxocara-canis-eggs.pdf>.

356. Stegnyy, B. T., Paliy, A. P., Pavlichenko, O. V., Muzyka, D. V., Tkachenko, S. V., & Usova, L. P. (2019). Virucidal properties of innovative disinfectant to Avian influenza virus and Newcastle disease virus. *Journal for Veterinary Medicine, Biotechnology and Biosafety*, 5(3), 27–33. <https://doi.org/10.36016/jvmbbs-2019-5-3-6>.

357. Paliy, A. P., Sumakova, N. V., Mashkey, A. M., Gontar, V. V., Palii, A. P., & Yurchenko, D. A. (2020). Study of disinvasive properties of innovative aldehyde disinfectant. *Journal for Veterinary Medicine, Biotechnology and Biosafety*, 6(2), 32–36. <https://doi.org/10.36016/jvmbbs-2020-6-2-6>.

358. Paliy, A., Stegnyy, B., Muzyka, D., Gerilovych, A., & Korneykov, O. (2016). The study of the properties of the novel virucidal disinfectant. *Agricultural Science and Practice*, 3(3), 41–47. <https://doi.org/10.15407/agrisp3.03.041>.

359. Paliy, A., Kolchyk, O., Yaroshenko, M., Sumakova, N., Kovalenko, L., Belikov, K., Ganova, L., & Zavgorodnii, A. (2025). Biocidal properties of mixtures of Silver, Zinc and Copper nanoparticles. *Mikrobiolohichni Zhurnal*, 87(3), 15–32. <https://doi.org/10.15407/microbiolj87.03.015>.

360. Палій, А. П., Завгородній, А. І., Сумакова, Н. В., Ярошенко, М. О., Кольчик, О. В., Корнейков, О. М., Коваленко, Л. В., Бєліков, К. М., Варченко, В. В., & Буніна, З. Ю. (2024). Вивчення біоцидних властивостей сумішей бінарних наночастинок металів (срібло, цинк, мідь). *Ветеринарна медицина*, 110, 145–154. <https://doi.org/10.36016/VM-2024-110-23>.

361. Kovalenko, L. V., Paliy, A. P., Kornieikov, O. M., Belikov, K. M., & Bryleva, K. Y. (2024). Toxicological properties of mixtures of binary silver-copper, silver-zinc, and copper nanoparticles on cell culture model and laboratory animals.

Regulatory Mechanisms in Biosystems, 15(3), 552–560. <https://doi.org/10.15421/022477>.

362. Chumakov, V., Pinchuk, N., Kharchenko, O., Muraveynik, V., Ostrizhnyi, M., Tsymbalyuk, V., Polka, N., Bolotin, V., Kornieikov, O., & Paliy, A. (2025). Determining the effect of high power pulse ultraviolet (UV) radiation on *Bacillus anthracis*. *Eastern-European Journal of Enterprise Technologies*, 1(5 (133)), 6–11. <https://doi.org/10.15587/1729-4061.2025.322730>.

363. Lagunas-Solar, M. C., Cullor, J. S., Zeng, N. X., Truong, T. D., Essert, T. K., Smith, W. L., & Piña, C. (2005). Disinfection of Dairy and Animal Farm Wastewater with Radiofrequency Power. *Journal of Dairy Science*, 88(11), 4120–4131. [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(05\)73096-4](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(05)73096-4).

364. Paliy, A., Pavlichenko, O., Berezovskyi, A., Fotin, A., Kisil, D., & Panasenko, O. (2023). Baktericidna svojstva nekih organskih kiselina u odnosu na mikobakterije. *Veterinarska Stanica*, 55(4), 375–386. <https://doi.org/10.46419/vs.55.4.8>.

365. Ponomarenko, G. V., Kovalenko, V. L., Balatskiy, Y. O., Ponomarenko, O. V., Paliy, A. P., & Shulyak, S. V. (2021). Bactericidal efficiency of preparation based on essential oils used in aerosol disinfection in the presence of poultry. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 12(4), 635–641. <https://doi.org/10.15421/022187>.

366. Bondarchuk, A. O., Pavlichenko, O. V., Zavgorodniy, A. I., & Paliy, A. P. (2021). Development of ‘Bondarmine’ disinfectant formulation and study of its Tuberculosis effect. *Journal for Veterinary Medicine, Biotechnology and Biosafety*, 7(1–2), 27–31. <https://doi.org/10.36016/jymbbs-2021-7-1-2-5>.

367. Rodionova, K., Paliy, A., & Khimych, M. (2021). Veterinary and sanitary assessment and disinfection of refrigerator chambers of meat processing enterprises. *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences*, 15, 616–626. <https://doi.org/10.5219/1628>.

368. Myronchuk, V. O., & Peleno, R. A. (2025). Comparison of the recovery rates of different morphotinctorial groups of bacteria in pigsties after disinfection with ‘Volcano Max’ and ‘Sviteco PIP Multi’. *Journal for Veterinary Medicine, Biotechnology and Biosafety*, 11(1), 30–38. <https://doi.org/10.36016/jymbbs-2025-11-1-5>.

369 Kotwal, M., Singh, V., Mushtaq, H., Ahmed, R., Rai, G., & Kumar, A. (2021). Disinfection of impression materials with glutaraldehyde, ultraviolet radiation, and autoclave: A comparative study. *Journal of Pharmacy And Bioallied Sciences*, 13(5), 289–292. https://doi.org/10.4103/jpbs.jpbs_755_20.

370. Scollo, A., Perrucci, A., Stella, M. C., Ferrari, P., Robino, P., & Nebbia, P. (2023). Biosecurity and hygiene procedures in pig farms: Effects of a tailor-made approach as monitored by environmental samples. *Animals*, 13(7), 1262. <https://doi.org/10.3390/ani13071262>.

371. Hansson, I., Dzieciolowski, T., Rydén, J., & Boqvist, S. (2025). Evaluation of cleaning and disinfection procedures on poultry farms. *Poultry Science*, 104(9), 105453. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2025.105453>.

372. World Organisation for Animal Health. (2025). WAHIS: World Animal Health Information System [Retrieved July 15, 2025]. <https://wahis.woah.org/#/dashboards/country-or-disease-dashboard>.

373. MapChart. (2025). MapChart: Create custom maps [Retrieved July 18, 2025]. <https://www.mapchart.net/>.

374. Rogan, W. J., & Gladen, B. (1978). Estimating prevalence from the results of a screening test. *American Journal of Epidemiology*, 107(1), 71–76. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a112510>.

375. Tenny, S., & Hoffman, M. R. (2023). Prevalence. In *StatPearls*. StatPearls Publishing. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK430867/>.

376. Державна служба статистики України. <https://www.ukrstat.gov.ua/>.

377. Державний департамент ветеринарної медицини Міністерства сільського господарства і продовольства України. (1997). *Правила відбору зразків патологічного матеріалу, крові, кормів, води та пересилання їх для лабораторного дослідження* (затверджено 15 квітня 1997 р., № 15-14/111)

378. Vilcek, S., Nettleton, P. F., Herring, J. A., & Herring, A. J. (1994). Rapid detection of bovine herpesvirus 1 (BHV 1) using the polymerase chain reaction. *Veterinary Microbiology*, 42(1), 53–64. [https://doi.org/10.1016/0378-1135\(94\)90077-9](https://doi.org/10.1016/0378-1135(94)90077-9).

379. Patil, S. S., Prajapati, A., Hemadri, D., Suresh, K. P., Desai, G. S., Reddy, G. B. M., Chandranaik, B. M., Ranganatha, S., & Rahman, H. (2016). Phylogenetic analysis of glycoprotein B gene sequences of bovine herpesvirus 1 isolates from India reveals the predominance of subtype 1.1. *Veterinary World*, 9(12), 1364–1369. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2016.1364-1369>.
380. González, M., Alarcón-Elbal, P. M., Valle-Mora, J., & Goldarazena, A. (2016). Comparison of different light sources for trapping *Culicoides* biting midges, mosquitoes and other dipterans. *Veterinary Parasitology*, 226, 44–49. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2016.06.020>.
381. Askin, A., Küçüktopçu, Y., Saruhan, I., & Akça, İ. (2023). Collecting and preserving techniques for insects. In *15th International Istanbul Scientific Research Congress on Life, Engineering, and Applied Sciences: proceedings book* (pp. 203–210). https://www.researchgate.net/publication/376835565_Collecting_and_Preserving_Techniques_for_Insects.
382. Soltani, A., Jamalidoust, M., Hosseinpour, A., Vahedi, M., Ashraf, H., & Yousefinejad, S. (2021). First molecular-based detection of SARS-CoV-2 virus in the field-collected houseflies. *Scientific Reports*, 11(1), 13884. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-93439-7>.
383. World Organisation for Animal Health. (2024). Chapter 3.4.11. Infectious bovine rhinotracheitis / infectious pustular vulvovaginitis. In *Terrestrial Manual*. https://www.woah.org/fileadmin/Home/fr/Health_standards/tahm/3.04.11_IBR_IPV.pdf.
384. World Organisation for Animal Health. (2024). Chapter 3.4.7. Bovine viral diarrhoea. In *Terrestrial Manual*. https://www.woah.org/fileadmin/Home/fr/Health_standards/tahm/3.04.07_BVD.pdf.
385. Стегній, Б. Т., & Герілович, А. П. (Ред.). (2014). *Молекулярно-генетичні методи діагностики у ветеринарній медицині та біотехнології*. СТ-Друк.
386. Kliučinskas, A. P., Lukauskas, K., Milius, J., Vyšniauskis, G., Kliučinskas, D., & Salomskas, A. (2008). Detection of bovine viral diarrhoea virus in saliva samples. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, 52(1), 31–37. <https://jvetres.piwet.pulawy.pl/files/archive/20081/20081031038.pdf>.

387. Стегній, Б. Т., Герілович, А. П., Лиманська, О. Ю., Болотін, В. І., Скрипник, А. В., Сапко, С. А., & Анічин, А. Ю. (2010). *Полімеразна ланцюгова реакція у практиці ветеринарної медицини та біологічних дослідженнях*. НТМТ.

388. Домбровський, О. Б., Корнієнко, Л. Є., Ярчук, Б. М., Корнієнко, Л. М., Домбровська, Ю. О. (2003). *Лейкоз великої рогатої худоби*. Біла Церква.

389. Wittekind, D. H., & Gehring, T. (1985). On the nature of Romanowsky-Giemsa staining and the Romanowsky-Giemsa effect. I. Model experiments on the specificity of Azures B-Eosin Y stain as compared with other thiazine dye-Eosin Y combinations. *The Histochemical Journal*, 17(3), 263–289. <https://doi.org/10.1007/bf01004591>.

390. Дудченко, І. О., Фадєєва, Г. А., Качковська, В. В., Орловський, О. В. (2019). *Методи дослідження в гематології*. Суми : Сумський державний університет. https://essuir.sumdu.edu.ua/bitstream/123456789/74594/1/Prystupa_hematolohiia.pdf.

391. Влізло, В. В. (Ред.). (2012). *Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині*. Львів : Сполом.

392. Гладких, Ф. В. (2022). *Нестероїдні протизапальні засоби: терапевтичні та небажані ефекти, шляхи їх оптимізації*. Вінниця : Твори.

393. Стегній, Б. Т., Коваленко, Л. В., Михайлова, С. А., Руденко, О. П., Бойко, В. С., Матюша, Л. В., & Кротовська, Ю. М. (2013). *Методи досліджень маркерів функціонального стану клітин периферичної крові та кісткового мозку тварин*. Харків : ННЦ «ІЕКВМ».

394. Стегній, М. Ю., Стегній, Б. Т., Палій, А. П., Стешенко, Л. М., & Корнейкова, О. Б. (2024). *Спосіб підвищення виходу вірусу лейкозу та його антигенів за допомогою підбору клітин FLK-BLV* (Патент на корисну модель UA 156791). Національний орган інтелектуальної власності Державна організація «Український національний офіс інтелектуальної власності та інновацій». <https://sis.nipo.gov.ua/uk/search/detail/1813607/>.

395. Baust, J. M., Buehring, G. C., Campbell, L., Elmore, E., Harbell, J. W., Nims, R. W., Price, P., Reid, Y. A., & Simione, F. (2017). Best practices in cell culture:

an overview. *In vitro Cellular & Developmental Biology — Animal*, 53(8), 669–672. <https://doi.org/10.1007/s11626-017-0177-7>.

396. Puckrin, Z. (2022). How to isolate PBMCs from whole blood using density gradient centrifugation. *ReproCELL*. https://www.reprocell.com/blog/cls/protocol-isolating-pbmcs-whole-blood?utm_source=chatgpt.com

397 Shanmugam, P. S. T., Sampath, T., Jagadeeswaran, I., Thamizharasan, S., Fathima, S., & V., K. (2023). Cytotoxicity. In *Biocompatibility Protocols for Medical Devices and Materials* (pp. 1–18). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-323-91952-4.00020-9>.

398. Державний комітет України з питань технічного регулювання та споживчої політики. (2005). *Препарати ветеринарні імунологічні. Методи визначання бактеріальної і грибної контамінації* (ДСТУ 4483:2005). Київ: Держспоживстандарт.

399. Сюрин, В. Н., Белоусова, Б. Н., Фомина, Н. В. (1984). *Ветеринарная вирусология*. Колос.

400. Рада Європи. (18.03.1986). *Європейська конвенція про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей*: офіційний переклад. https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/994_137#Text.

401. Міністерство освіти і науки, молоді та спорту України. (01.03.2012). *Наказ № 249 «Про затвердження Порядку проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах»*. <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0416-12#Text>.

402. Резніков, О. Г. (2003). Загальні етичні принципи експериментів на тваринах. *Перший національний конгрес з біоетики. Ендокринологія*, 8(1), 142–145.

403. Weiskirchen, S., Schröder, S. K., Buhl, E. M., & Weiskirchen, R. (2023). A Beginner's Guide to Cell Culture: Practical Advice for Preventing Needless Problems. *Cells*, 12(5), 682. <https://doi.org/10.3390/cells12050682>.

404. Aoki-Utsubo, C., Chen, M., & Hotta, H. (2018). Time-of-addition and temperature-shift assays to determine particular step(s) in the viral life cycle that is

blocked by antiviral substance(s). *BIO-PROTOCOL*, 8(9), e2830. <https://doi.org/10.21769/bioprotoc.2830>.

405. Скроцька, О. І., Жолобак, Н. М., Антоненко, С. В., Співак, М. Я., & Карпов, О. В. (2007). Протигерпетична дія молекулярного комплексу РНК-тилорон у культурі клітин. *Мікробіологічний журнал*, 69(3), 62–68.

406. Шемендюк, О. В., Жолнер, Л. Г., Жолобок, Н. М., & Співак, М. Я. (2015). Антивірусна й інтерфероніндукуюча дія аміноетоксидифенілів. *Наукові вісті Національного технічного університету України «Київський політехнічний інститут»*, (3), 84–90. http://nbuv.gov.ua/UJRN/NVKPI_2015_3_13.

407. U. S. Department of Health and Human Services. Food and Drug Administration. Center for Drug Evaluation and Research (CDER). (2006). *Guidance for Industry Antiviral Product Development — Conducting and Submitting Virology Studies to the Agency*. Rockville, Md. : CDER. <https://www.fda.gov/media/71223/download>.

408. Viegas, D. J., da Silva, V. D., Buarque, C. D., Bloom, D. C., & Abreu, P. A. (2021). Antiviral activity of 1,4-disubstituted-1,2,3-triazoles against HSV-1 in vitro. *Antiviral Therapy*, 25(8), 399–410. <https://doi.org/10.3851/imp3387>.

409. Якубчак, О. М. (2010). Ветеринарна дезінфекція: інструкція та методичні рекомендації. Компанія Біопром.

410. Коваленко, В. Л. (Ред.). (2014). *Методи контролю дезінфікуючих засобів*. ВСП «ІПО КНУБА».

411. Дмитруха, Н. М., Короленко, Т. К., Лагутіна, О. С., & Легкоступ, Л. А. (2022). Оцінка потенційної токсичності мийно-дезінфекційних засобів на культурі клітин *in vitro*. *Environment & Health*, 2(103), 4–9. <http://www.dovkil-zdorov.kiev.ua/env/103-0004.pdf>.

412. Міністерство охорони здоров'я України. (08.04.2009). *Наказ № 231 Про затвердження методичних рекомендацій «Визначення віруліцидної дії дезінфікуючих засобів»*. <https://zakon.rada.gov.ua/go/v0231282-09>.

413. Атраментова, Л. О., & Утєвська, О. М. (2007). *Статистичні методи в біології*. Харків : ХНУ ім. В. Н. Каразіна.

414. Sokal, R. R., & Rohlf, F. J. (2012). *Biometry: The Principles and Practice of Statistics in Biological Research*. W. H. Freeman and Co.

415. Van Emden, H. F. (2019) *Statistics for Terrified Biologists* (2nd ed.). Hoboken, NJ: John Wiley & Sons.

416. AAT Bioquest, Inc. (12.04.2023). Quest Graph™ IC50 Calculator. AAT Bioquest. <https://www.aatbio.com/tools/ic50-calculator>.

417. Горбатенко, С. К., Корнейкова, О. Б., Кузнецова, О. В., Мягких, Н. В., Бриль, Н. Ф., & Фісенко, С. А. (2025). Досвід реалізації оздоровчих програм та сучасні засоби ліквідації лейкозу у тваринництві. *Ветеринарна медицина*, 111, 59–63. <https://doi.org/10.36016/VM-2025-111-9>.

418. Gorbatenko, S. K., Kornieikova, O. B., Rudova, N. H., Dunaiev, Yu. K., Stegnyy, B. T., & Kornieikov, O. M. (2023). Insufficiently studied minor viral infections in livestock of Ukraine. *Journal for Veterinary Medicine, Biotechnology and Biosafety*, 9(1–2), 8–11. <https://doi.org/10.36016/jvmbbs-2023-9-1-2-2>.

419. Горбатенко, С. К., Рудова, Н. Г., Корнейкова, О. Б., Стегній, М. Ю., Коваленко, Л. В., Кузнецова, О. В., & Мягких, Н. В. (2023). Вивчення розповсюдження та біологічних властивостей польових ізолятів збудників імунodefіциту і спумавірусної інфекції великої рогатої худоби. *Ветеринарна медицина*, 109, 61–66. <https://doi.org/10.36016/VM-2023-109-11>.

420. Корнейков, О. М., Бородай, Н. І., & Корнейкова, О. Б. (2023). Ефективність заходів контролю інфекційного ринотрахеїту та вірусної діареї в стадах великої рогатої худоби України. *Матеріали міжнародної науково-практичної конференції «Біотехнологія та її роль в забезпеченні здоров'я людей та тварин»*, м. Київ, 20 грудня 2023 року (с. 118–120).

421. Горбатенко, С. К., Кузнецова, О. В., Мягких, Н. В., & Корнейкова, О. Б. (2021). Маловивчені вірусні мінорні інфекції великої рогатої худоби. 1. Бичачий імунodefіцит (огляд літератури). *Ветеринарна медицина*, 107, 51–55. <https://doi.org/10.36016/VM-2021-107-8>.

422. Gorbatenko, S. K., Biloivan, O. V., Kovalenko, L. V., Paliy, A. P., Korneykova, O. B., Didyk, T. B., Kuznetsova, O. V., Myagkykh, N. V., & Bryl, N. F.

(2024). On the issue of prevention and eradication of minor viral bovine diseases in Ukraine. *Journal for Veterinary Medicine, Biotechnology and Biosafety*, 10(3), 22–28. <https://doi.org/10.36016/jvmbbs-2024-10-3-4>.

423. Gorbatenko, S. K., Kornieikova, O. B., Stegnyy, B. T., Kuznetsova, O. V., & Miahkykh, N. V. (2024). The current situation regarding Bovine leukemia in livestock production and a strategic approach to anti-epizootic measures in the post-war context. *Journal for Veterinary Medicine, Biotechnology and Biosafety*, 10(4), 18–23. <https://doi.org/10.36016/jvmbbs-2024-10-4-2>.

424. Biloivan, O. V., Didyk, T. B., Yurko, P. S., Korneikova, O. B., Paliy, A. P., Gorbatenko, S. K., & Bryl, N. F. (2023). Study of the spread of minor viral cattle infections (Leukemia, Immunodeficiency, and Spumavirus infection) using polymerase chain reaction. *Journal for Veterinary Medicine, Biotechnology and Biosafety*, 9(4), 3–6. <https://doi.org/10.36016/jvmbbs-2023-9-4-1>.

425. Корнейкова, О. Б., Сумакова, Н. В., Горбатенко, С. К., & Родченко, Л. М. (2025). Вивчення ролі членистоногих в поширенні вірусів лейкозу, інфекційного ринотрахеїту та вірусної діареї великої рогатої худоби. *Тези доповідей онлайн-конференції аспірантів і молодих вчених у сфері Єдиного здоров'я та біотехнології «VetBioConnect», м. Харків, 3–4 червня 2025 року* (с. 31–34). https://iekvm.kharkov.ua/documents/VetBioConnect_2025_theses.pdf.

426. Корнейков, О. М., Бородай, Н. І., & Корнейкова, О. Б. (2024). Вивчення чутливості перещеплюваних ліній клітин до ізоляту герпесвірусу-1 типу. *Матеріали міжнародної науково-практичної конференції «Актуальні аспекти розвитку ветеринарної медицини в умовах євроінтеграції», м. Одеса, 17–18 жовтня 2024 року* (с. 123–127). https://osau.edu.ua/wp-content/uploads/2024/11/2024_ZBIRNYK_FVM.pdf.

427. Gorbatenko, S. K., Korneikova, O. B., Paliy, A. P., Korneikov, O. M., & Rodchenko, L. M. (2025). Susceptibility of rabbits, as heterologous animals, to Bovine leukemia virus. *Journal for Veterinary Medicine, Biotechnology and Biosafety*, 11(2), 19–23. <https://doi.org/10.36016/jvmbbs-2025-11-2-4>.

428. Kampf, G., Todt, D., Pfaender, S., & Steinmann, E. (2020). Persistence of coronaviruses on inanimate surfaces and their inactivation with biocidal agents. *Journal of Hospital Infection*, 104(3), 246–251. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2020.01.022>.

429. Zeng, L., Li, J., Lv, M., Li, Z., Yao, L., Gao, J., Wu, Q., Wang, Z., Yang, X., Tang, G., Qu, G., & Jiang, G. (2023). Environmental stability and transmissibility of enveloped viruses at varied animate and inanimate interfaces. *Environment & Health*, 1(1), 15–31. <https://doi.org/10.1021/envhealth.3c00005>.

430. Stegnyy, B. T., Demchenko, O. A., Korneykov, O. M., Stegnyy, M. Yu., Oleshko, A. Yu., Korneikova, O. B., Korovin, I. V., Babenko, L. P., & Spivak, M. Ya. (2021). Antiviral effect of cerium dioxide nanoparticles on the model of the causative agent of bovine viral diarrhea. *Mikrobiologichnyi Zhurnal*, 83(6), 65–74. <https://doi.org/10.15407/microbiolj83.06.065>.

431. Paliy, A. P., Kornieikov, O. M., Stegnyy, B. T., Al Jabari, M., Stegnyy, M. Y., Kornieikova, O. B., & Palii, A. P. (2021). Evaluation of the virucidal action of disinfectant against pathogens of infectious rhinotracheitis and viral diarrhea in cattle. *Ukrainian Journal of Ecology*, 11(6), 117–126. <https://www.ujecology.com/articles/evaluation-of-virucidal-action-of-disinfectant-against-pathogens-of-infectious-rhinotracheitis-and-viral-diarrhea-in-cat.pdf>.

432. Bouvard, V., Baan, R., Straif, K., Grosse, Y., Secretan, B., Ghissassi, F. E., Benbrahim-Tallaa, L., Guha, N., Freeman, C., Galichet, L., & Coglian, V. (2009). A review of human carcinogens — Part B: biological agents. *The Lancet Oncology*, 10(4), 321–322. [https://doi.org/10.1016/s1470-2045\(09\)70096-8](https://doi.org/10.1016/s1470-2045(09)70096-8).

433. Canova, R., Weber, M. N., Budaszewski, R. F., da Silva, M. S., Schwingel, D., Canal, C. W., & Kreutz, L. C. (2021). Bovine leukemia viral DNA found on human breast tissue is genetically related to the cattle virus. *One Health*, 13, 100252. <https://doi.org/10.1016/j.onehlt.2021.100252>.

434. Buehring, G. C., Shen, H. M., Jensen, H. M., Jin, D. L., Hudes, M., & Block, G. (2015). Exposure to bovine leukemia virus is associated with breast cancer: A case-control study. *PLOS ONE*, 10(9), Article e0134304. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0134304>.

435. Korniienko, L. Y., Pyskun, A. V., Tsarenko, T. M., Ukhovskiy, V. V., Kyivska, G. V., Moroz, O. A., Kovalenko, V. L., & Aliekseieva, G. B. (2020). Retrospective analysis of the epizootic situation of enzootic bovine leukosis in Ukraine in 1994–2019. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 11(3), 372–377. <https://doi.org/10.15421/022057>.
436. Nekouei, O., Durocher, J., & Keefe, G. (2016). Diagnostic performance of an indirect enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) to detect bovine leukemia virus antibodies in bulk-tank milk samples. *The Canadian Veterinary Journal*, 57(7), 778–780. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4904818>.
437. Тітаренко, О. В., Зерко, П. О., Киричко, О. Б., & Петренко, М. О. (2022). Поширення лейкозу серед поголів'я великої рогатої худоби у Полтавській області. *Вісник Полтавської державної аграрної академії*, (4), 230–238. <https://doi.org/10.31210/visnyk2022.04.27>.
438. Horalskyi, L. P., Sokulskyi, I. M., Gutyj, B. V., Goralskaya, I. Y., & Kolesnik, N. L. (2022). Pathogenetic aspects of retroviral infections. *Ukrainian Journal of Veterinary and Agricultural Sciences*, 5(1), 58–65. <https://doi.org/10.32718/ujvas5-1.10>.
439. Amborski, G. F., Lo, J. L., & Seger, C. L. (1989). Serological detection of multiple retroviral infections in cattle: Bovine leukemia virus, bovine syncytial virus and bovine visna virus. *Veterinary Microbiology*, 20(3), 247–253. [https://doi.org/10.1016/0378-1135\(89\)90048-5](https://doi.org/10.1016/0378-1135(89)90048-5).
440. Barrett, D., Lane, E., Lozano, J. M., O'Keeffe, K., & Byrne, A. W. (2024). Bovine Herpes Virus Type 1 (BoHV-1) seroprevalence, risk factor and Bovine Viral Diarrhoea (BVD) co-infection analysis from Ireland. *Scientific Reports*, 14(1), 867. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-50433-5>.
441. Martinez-Ibeas, A. M., Power, C., McClure, J., & Sayers, R. G. (2015). Prevalence of BoHV-1 seropositive and BVD virus positive bulls on Irish dairy farms and associations between bull purchase and herd status. *Irish Veterinary Journal*, 68(1), 28. <https://doi.org/10.1186/s13620-015-0059-9>.

442. Romero-Palomo, F., Risalde, M. A., Molina, V., Lauzi, S., Bautista, M. J., & Gómez-Villamandos, J. C. (2015). Characterization of thymus atrophy in calves with subclinical BVD challenged with BHV-1. *Veterinary Microbiology*, 177(1–2), 32–42. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2015.02.018>.

443. Stegnyy, B., Gerilovych, A., Vilcek, S., Peterhans, E., Kucheriavenko, R., Stegnyy, M., Goraichuk, I., Bolotin, V., & Solodianskin, O. (2014). Molecular Epidemiology Issues of BVDV Infection in the Eastern Ukraine. *Agricultural Science and Practice*, 1(1), 37–41. <https://doi.org/10.15407/agrisp1.01.037>.

444. McAtee, T. B., Pinnell, L. J., Powledge, S. A., Wolfe, C. A., Morley, P. S., & Richeson, J. T. (2023). Effects of respiratory virus vaccination and bovine respiratory disease on the respiratory microbiome of feedlot cattle. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1203498. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1203498>.

445. Hanada, S., Pirzadeh, M., Carver, K. Y., & Deng, J. C. (2018). Respiratory viral infection-induced microbiome alterations and secondary bacterial pneumonia. *Frontiers in Immunology*, 9, 2640. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02640>.

446. Paslaru, A. I., Maurer, L. M., Vöggtlin, A., Hoffmann, B., Torgerson, P. R., Mathis, A., & Veronesi, E. (2022). Putative roles of mosquitoes (Culicidae) and biting midges (*Culicoides* spp.) as mechanical or biological vectors of lumpy skin disease virus. *Medical and Veterinary Entomology*, 36(3), 381–389. <https://doi.org/10.1111/mve.12576>.

447. Gorbatenko, S. K., Stegnyy, M. Yu., Korneykov, A. N., Myagkyh, N. V., Magats, D. Yu., & Gorbatenko, V. P. (2017). Dimethyl sulfoxide as the stimulant antigen producing activity of the cell culture FLK-BLV. *Journal for Veterinary Medicine, Biotechnology and Biosafety*, 3(1), 17–20. <https://jvmbbs.kharkov.ua/archive/2017/volume3/issue1/article3.php>.

448. Bouillant, A. M. P., Ruckerbauer, G. M., & Nielsen, K. H. (1989). Replication of the bovine immunodeficiency-like virus in diploid and aneuploid cells: Permanent, latent and virus-productive infections in vitro. *Research in Virology*, 140(6), 511–529. [https://doi.org/10.1016/s0923-2516\(89\)80138-4](https://doi.org/10.1016/s0923-2516(89)80138-4).

449. Lamb, D., Schüttelkopf, A. W., van Aalten, D. M., & Brighty, D. W. (2008). Highly specific inhibition of leukaemia virus membrane fusion by interaction of peptide antagonists with a conserved region of the coiled coil of envelope. *Retrovirology*, 5(1), 70. <https://doi.org/10.1186/1742-4690-5-70>.
450. Rethwilm, A. (2003). The replication strategy of foamy viruses. *Current topics in microbiology and immunology*, 277, 1–26. https://doi.org/10.1007/978-3-642-55701-9_1.
451. Ma, Z., Qiao, W.-T., Xuan, C.-H., Xie, J.-H., Chen, Q.-M., & Geng, Y.-Q. (2007). Detection and analysis of bovine foamy virus infection by an indicator cell line. *Acta Pharmacologica Sinica*, 28(7), 994–1000. <https://doi.org/10.1111/j.1745-7254.2007.00563.x>.
452. Geiser, V., Rose, S., & Jones, C. (2008). Bovine herpesvirus type 1 induces cell death by a cell-type-dependent fashion. *Microbial Pathogenesis*, 44(6), 459–466. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2007.10.014>.
453. Kornieikov, O. M., Stegnyy, M. Yu., Arefiev, V. L., Oleshko, A. Yu., Borodai, N. I., Dunaiev, Yu. K., Gerilovych, A. P., & Al Jabari, M. (2021). Study of isolate of Infectious rynotracheitis virus identified in the acute course of the disease. *Journal for Veterinary Medicine, Biotechnology and Biosafety*, 7(4), 19–25. <https://doi.org/10.36016/jvmbbs-2021-7-4-4>.
454. Rahman, M. T., Sobur, M. A., Islam, M. S., Ievy, S., Hossain, M. J., El Zowalaty, M. E., Rahman, A. T., & Ashour, H. M. (2020). Zoonotic Diseases: Etiology, Impact, and Control. *Microorganisms*, 8(9), 1405. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8091405>.
455. Arooj, A., Rehman, A., Naeem, R. F., Ashfaq, K., Ryash, A. A., Iqbal, H., Wei, C. R., Rohulamin, de Oliveira, B. H., & Tahir, S. (2023). Simian foamy virus; Zoonosis. *Unique Scientific Publishers*, 3, 176–186. <https://doi.org/10.47278/book.zoon/2023.95>.
456. Kalvatchev, Z., Walder, R., Perez, F., Garzaro, D., & Barrios, M. (1998). Infection of rabbits with R29 strain of bovine immunodeficiency virus: Virulence,

immunosuppression, and progressive mesenteric lymphadenopathy. *Viral Immunology*, 11(3), 159–166. <https://doi.org/10.1089/vim.1998.11.159>.

457. Hong, Y., Xiaohong, K., Chenghao, X., Jinzhong, W., Qimin, C., & Yunqi, G. (2003). The study on the infection of rabbits with bovine foamy virus 3026'. *Virologica Sinica*, 18(6), 566–570. [https://www.virosin.org/fileZGBDX/journal/article/vs/2003/6/PDF/1003-5125\(2003\)06-0566-0.pdf](https://www.virosin.org/fileZGBDX/journal/article/vs/2003/6/PDF/1003-5125(2003)06-0566-0.pdf).

458. Khan, S., Ansari, A. A., Rolfo, C., Coelho, A., Abdulla, M., Al-Khayal, K., & Ahmad, R. (2017). Evaluation of *in vitro* cytotoxicity, biocompatibility, and changes in the expression of apoptosis regulatory proteins induced by cerium oxide nanocrystals. *Science and Technology of Advanced Materials*, 18(1), 364–373. <https://doi.org/10.1080/14686996.2017.1319731>.

459. Fernández-Bertólez, N., Touzani, A., Ramos-Pan, L., Reis, A. T., Teixeira, J. P., Laffon, B., & Valdiglesias, V. (2025). Biocompatibility testing and antioxidant properties of cerium dioxide nanoparticles in human nervous system cells. *Archives of Toxicology*, 99(9), 3625–3640. <https://doi.org/10.1007/s00204-025-04096-y>.

460. Pirmohamed, T., Dowding, J. M., Singh, S., Wasserman, B., Heckert, E., Karakoti, A. S., King, J. E. S., Seal, S., & Self, W. T. (2010). Nanoceria exhibit redox state-dependent catalase mimetic activity. *Chemical Communications*, 46(16), 2736–2738. <https://doi.org/10.1039/b922024k>.

ДОДАТКИ

ДОДАТОК А

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА

ТА ВІДОМОСТІ ПРО АПРОБАЦІЮ

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації

Стаття у виданні, що включена до наукометричної бази даних Scopus

1. Stegnyy, B. T., Demchenko, O. A., Korneykov, O. M., Stegnyy, M. Yu., Oleshko, A. Yu., **Korneikova, O. B.**, Korovin, I. V., Babenko, L. P., & Spivak, M. Ya. (2021). Antiviral effect of cerium dioxide nanoparticles on the model of the causative agent of bovine viral diarrhea. *Mikrobiolohichnyi Zhurnal*, 83(6), 65–74. <https://doi.org/10.15407/microbiolj83.06.065>. (Дисертанткою проведено аналіз літературних джерел, вірусологічні дослідження, аналіз отриманих даних).

Статті у фахових виданнях України категорії «Б»

2. Горбатенко, С. К., Кузнецова, О. В., Мягких, Н. В., & **Корнєйкова, О. Б.** (2021). Маловивчені вірусні мінорні інфекції великої рогатої худоби. 1. Бичачий імунodefіцит (огляд літератури). *Ветеринарна медицина*, 107, 51–55. <https://doi.org/10.36016/VM-2021-107-8>. (Дисертанткою проведено пошук літературних джерел та їх аналіз).

3. Gorbatenko, S. K., **Kornieikova, O. B.**, Rudova, N. H., Dunaiev, Yu. K., Stegnyy, B. T., & Kornieikov, O. M. (2023). Insufficiently studied minor viral infections in livestock of Ukraine. *Journal for Veterinary Medicine, Biotechnology and Biosafety*, 9(1–2), 8–11. <https://doi.org/10.36016/jvmbbs-2023-9-1-2-2>. (Дисертанткою проведено аналіз літературних джерел, відбір матеріалу, прийнято участь в молекулярно-генетичних дослідженнях, аналіз отриманих даних).

4. Горбатенко, С. К., Рудова, Н. Г., **Корнєйкова, О. Б.**, Стегній, М. Ю., Коваленко, Л. В., Кузнецова, О. В., & Мягких, Н. В. (2023). Вивчення розповсюдження та біологічних властивостей польових ізолятів збудників імунodefіциту і спумавірусної інфекції великої рогатої худоби. *Ветеринарна*

медицина, 109, 61–66. <https://doi.org/10.36016/VM-2023-109-11>. (Дисертанткою проведено аналіз літературних джерел, відбір матеріалу, вірусологічні дослідження, прийнято участь в молекулярно-генетичних дослідженнях, аналіз результатів).

5. Biloivan, O. V., Didyk, T. B., Yurko, P. S., **Korneikova, O. B.**, Paliy, A. P., Gorbatenko, S. K., & Bryl, N. F. (2023). Study of the spread of minor viral cattle infections (Leukemia, Immunodeficiency, and Spumavirus infection) using polymerase chain reaction. *Journal for Veterinary Medicine, Biotechnology and Biosafety*, 9(4), 3–6. <https://doi.org/10.36016/jvmbbs-2023-9-4-1>. (Дисертанткою проведено аналіз літературних джерел, відбір матеріалу, прийнято участь в молекулярно-генетичних дослідженнях, аналіз отриманих даних).

6. Gorbatenko, S. K., Biloivan, O. V., Kovalenko, L. V., Paliy, A. P., **Korneykova, O. B.**, Didyk, T. B., Kuznetsova, O. V., Myagkykh, N. V., & Bryl, N. F. (2024). On the issue of prevention and eradication of minor viral bovine diseases in Ukraine. *Journal for Veterinary Medicine, Biotechnology and Biosafety*, 10(3), 22–28. <https://doi.org/10.36016/jvmbbs-2024-10-3-4>. (Дисертанткою проведено аналіз літературних джерел, відбір матеріалу, вірусологічні дослідження, прийнято участь в молекулярно-генетичних та біохімічних дослідженнях, аналіз результатів).

7. Gorbatenko, S. K., **Kornieikova, O. B.**, Stegnyy, B. T., Kuznetsova, O. V., & Miahkykh, N. V. (2024). The current situation regarding Bovine leukemia in livestock production and a strategic approach to anti-epizootic measures in the post-war context. *Journal for Veterinary Medicine, Biotechnology and Biosafety*, 10(4), 18–23. <https://doi.org/10.36016/jvmbbs-2024-10-4-2>. (Дисертанткою проведено аналіз літературних джерел, результатів серологічних досліджень і отриманих даних).

8. Gorbatenko, S. K., **Korneikova, O. B.**, Paliy, A. P., Korneikov, O. M., & Rodchenko, L. M. (2025). Susceptibility of rabbits, as heterologous animals, to Bovine leukemia virus. *Journal for Veterinary Medicine, Biotechnology and Biosafety*, 11(2), 19–23. <https://doi.org/10.36016/jvmbbs-2025-11-2-4>. (Дисертанткою проведено аналіз літературних джерел, прийнято участь в вірусологічних,

серологічних, біохімічних та молекулярно-генетичних дослідженнях, аналіз отриманих результатів).

9. Горбатенко, С. К., **Корнєйкова, О. Б.**, Кузнецова, О. В., Мягких, Н. В., Бриль, Н. Ф., & Фісенко, С. А. (2025). Досвід реалізації оздоровчих програм та сучасні засоби ліквідації лейкозу у тваринництві. *Ветеринарна медицина*, 111, 59–63. <https://doi.org/10.36016/VM-2025-111-9>. (Дисертанткою проведено аналіз літературних джерел, прийнято участь в серологічних дослідженнях, аналіз отриманих даних).

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації

Тези та матеріали конференцій

10. Корнєйков, О. М., Бородай, Н. І., & **Корнєйкова, О. Б.** (2023). Ефективність заходів контролю інфекційного ринотрахеїту та вірусної діареї в стадах великої рогатої худоби України. *Матеріали міжнародної науково-практичної конференції «Біотехнологія та її роль в забезпеченні здоров'я людей та тварин», м. Київ, 20 грудня 2023 року* (с. 118–120). (Дисертанткою проведено аналіз літературних джерел, відбір матеріалу, епізоотологічні та серологічні дослідження, аналіз отриманих даних).

11. Корнєйков, О. М., Бородай, Н. І., & **Корнєйкова, О. Б.** (2024). Вивчення чутливості перещеплюваних ліній клітин до ізоляту герпесвірусу-1 типу. *Матеріали міжнародної науково-практичної конференції «Актуальні аспекти розвитку ветеринарної медицини в умовах євроінтеграції», м. Одеса, 17–18 жовтня 2024 року* (с. 123–127). https://osau.edu.ua/wp-content/uploads/2024/11/2024_ZBIRNYK_FVM.pdf. (Дисертанткою проведено аналіз літературних джерел, вірусологічні дослідження, аналіз отриманих результатів).

12. **Корнєйкова, О. Б.**, Сумакова, Н. В., Горбатенко, С. К., & Родченко, Л. М. (2025). Вивчення ролі членистоногих в поширенні вірусів лейкозу, інфекційного ринотрахеїту та вірусної діареї великої рогатої худоби. *Тези доповідей онлайн-конференції аспірантів і молодих вчених у сфері Єдиного здоров'я та біотехнології «VetBioConnect», м. Харків, 3–4 червня 2025 року* (с. 31–34).

https://iekvm.kharkov.ua/documents/VetBioConnect_2025_theses.pdf. (Дисертанткою проведено аналіз літературних джерел, збір матеріалу, прийнято участь в ентомологічних та молекулярно-генетичних дослідженнях, аналіз отриманих даних).

Наукові праці, які додатково відображають наукові результати дисертації

Патент України на корисну модель

13. Стегній, М. Ю., Стегній, Б. Т., Палій, А. П., Стешенко, Л. М., & Корнєйкова, О. Б. (2024). Спосіб підвищення виходу вірусу лейкозу та його антигенів за допомогою підбору клітин FLK-BLV (Патент на корисну модель UA 156791). Національний орган інтелектуальної власності Державна організація «Український національний офіс інтелектуальної власності та інновацій». <https://sis.nipo.gov.ua/uk/search/detail/1813607/>.

Стаття в іншому науковому виданні

14. Paliy, A. P., Kornieikov, O. M., Stegnyy, B. T., Al Jabari, M., Stegnyy, M. Y., **Kornieikova, O. B.**, & Palii, A. P. (2021). Evaluation of the virucidal action of disinfectant against pathogens of infectious rhinotracheitis and viral diarrhea in cattle. *Ukrainian Journal of Ecology*, 11(6), 117–126. <https://www.ujecology.com/articles/evaluation-of-virucidal-action-of-disinfectant-against-pathogens-of-infectious-rhinotracheitis-and-viral-diarrhea-in-cat.pdf>. (Дисертанткою проведено аналіз літературних джерел, вірусологічні дослідження, аналіз отриманих результатів).

Апробація результатів дисертації

Основні результати досліджень, які представлені в дисертаційній роботі, доповідалися й отримали позитивну оцінку на звітних сесіях вченої ради ННЦ «ІЕКВМ» протягом 2021–2025 рр. Основні результати експериментальної частини дисертації були представлені та обговорювалися на конференціях різного рівня, а саме: міжнародній науково-практичній конференції «Біотехнологія та її роль в забезпеченні здоров'я людей та тварин», присвяченій 25-річчю Державного

науково-контрольного інституту біотехнології і штамів мікроорганізмів (ДНКІБШМ), м. Київ, 20 грудня 2023 р., усна доповідь; II міжнародній науково-практичній конференції науково-педагогічних працівників та молодих науковців «Актуальні аспекти розвитку ветеринарної медицини в умовах Євроінтеграції», ОДАУ, Одеса, 17–18 жовтня 2024 року, постер; онлайн конференції аспірантів і молодих вчених у сфері Єдиного здоров'я та біотехнології «VetBioConnect», м. Харків, 3–4 червня 2025 року, усна доповідь.

ДОДАТОК Б





УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **156791** (13) **U**
 (51) МПК
G01N 33/531 (2006.01)
G01N 33/574 (2006.01)
G01N 33/558 (2006.01)

НАЦІОНАЛЬНИЙ ОРГАН
 ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ ВЛАСНОСТІ
 ДЕРЖАВНА ОРГАНІЗАЦІЯ
 "УКРАЇНСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ
 ОФІС ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
 ВЛАСНОСТІ ТА ІННОВАЦІЙ"

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2023 05909 (22) Дата подання заявки: 07.12.2023 (24) Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності: 08.08.2024 (46) Публікація відомостей про державну реєстрацію: 07.08.2024, Бюл.№ 32	(72) Винахідник(и): Стегній Марина Юріївна (UA), Стегній Борис Тимофійович (UA), Палій Анатолій Павлович (UA), Стещенко Людмила Миколаївна (UA), Корнєйкова Ольга Борисівна (UA) (73) Володілець (володільці): НАЦІОНАЛЬНИЙ НАУКОВИЙ ЦЕНТР "ІНСТИТУТ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ І КЛІНІЧНОЇ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ", вул. Пушкінська, 83, м. Харків, 61023 (UA)
---	--

(54) СПОСІБ ПІДВИЩЕННЯ ВИХОДУ ВІРУСУ ЛЕЙКОЗУ ТА ЙОГО АНТИГЕНІВ ЗА ДОПОМОГОЮ ПІДБОРУ КЛІТИН FLK-BLV

(57) Реферат:

Спосіб підвищення виходу вірусу лейкозу та його антигенів за допомогою підбору клітин FLK-BLV включає використання ліній клітин FLK-BLV, накопичення вірус-культуральної маси. Використовують сублінії перещеплюваних культур, а саме клітин FLK-50/100, FLK-71, FLK-SBBL, розведення субліній перещеплюваних культур клітин FLK-50/100, FLK-71, FLK-Пол, FLK-SBBL проводять до низької клоногенної щільності, визначення антигенпродукуючої активності субліній клітин FLK-50/100, FLK-71, FLK-Пол, FLK-SBBL проводять в умовах розведення клітинної культури до низької щільності, з яких отримано клон із підвищеною антигенпродукуючою активністю та специфічністю діагностичних антигенів.

UA 156791 U

UA 156791 U

Корисна модель належить до ветеринарної медицини, клітинної біології та біотехнології і може використовуватись для отримання клону клітин із підвищеною антигенпродукуючою активністю та специфічністю діагностичних антигенів.

Методи підбору культур клітин на сучасному етапі розвитку широко використовуються у найбільш перспективних прикладних та фундаментальних дослідженнях в області ветеринарії, біології, вірусології, мікробіології, імунології, цитології та генетики. Перещеплювана культура клітин FLK (fetal lamb kidney) на сьогодні займає лідируючу позицію серед клітинних продуцентів вірусу лейкозу великої рогатої худоби (BLV). Клітини ембріональної нирки вівці, хронічно інокульовані лейкоцитами-носіями вірусу лейкозу великої рогатої худоби (FLK-BLV), були отримані Van Der Maaten M.J., Miller J.M. у 1976 році в США, штат Айова, у вигляді моношару в культуральному середовищі RPMI 1629 з 10 % ембріональної сироватки BPX.

Існує спосіб підвищення антигенпродукуючої активності перещеплюваних культур клітин FLK-71 та FLK-SBBL за допомогою наночасток срібла (Аргентуму), що включає перещеплювану лінію клітин FLK-BLV, поживні середовища, сироватку BPX очищену від імуноглобулінів, концентрування вірусу лейкозу на ультрафільтраційних модулях з порожнистими волокнами та одноразове додавання (як стимулятора мітотичної активності клітин) наночасток срібла. (Патент UA № 116537, МПК А61К 39/00, 25.05. 2017 Бюл. № 10). Але при застосуванні наночасток з ними потрібно поводитись як з інфекційними агентами. Окрім того наночастки спроможні акумулюватися з накопичувальним ефектом у біологічних системах.

Найбільш близьким за технічною суттю до способу, що заявляється є спосіб одержання антигену для діагностики лейкозу великої рогатої худоби в реакції імунодифузії (РІД), (Патент UA № 52744, МПК кл. А61К 39/00 10.09.2010 Бюл. № 17). За цим способом проводять культивування перещеплюваних клітин на суміші ростових середовищ, які містять сироватку BPX, освітлення культуральної рідини, осадження антигену, використовують вільну від γ -глобулінів сироватку крові BPX, концентрують культуральну рідину методом ультрафільтрації на колонках з порожнистими волокнами, освітлюють сконцентровану культуральну рідину центрифугуванням. Недоліком способу є те, що використовують культуру клітин FLK-BLV без первісного підбору і на ній починають виробляти антиген.

В основу корисної моделі поставлена задача розробити спосіб підвищення виходу вірусу лейкозу та його антигенів за допомогою підбору клітин FLK-BLV, що включає використання субліній клітин FLK-BLV, їх клонування задля отримання клону клітин із підвищеною антигенпродукуючою активністю та специфічністю діагностичних антигенів.

Поставлена задача вирішується у способі підвищення виходу вірусу лейкозу та його антигенів за допомогою підбору клітин FLK-BLV, що включає використання ліній клітин FLK-BLV, накопичення вірус-культуральної маси, згідно з корисною моделлю, використовують сублінії перещеплюваних культур, а саме клітин FLK-50/100; FLK-71; FLK-SBBL, розведення субліній перещеплюваних культур клітин FLK-50/100; FLK-71; FLK-Пол; FLK-SBBL проводять до низької клоногенної щільності, визначення антигенпродукуючої активності субліній клітин FLK-50/100; FLK-71; FLK-Пол; FLK-SBBL проводять в умовах розведення клітинної культури до низької щільності, з яких отримано клон із підвищеною антигенпродукуючою активністю та специфічністю діагностичних антигенів.

Використання субліній перещеплюваних культур клітин, а саме FLK-50/100; FLK-71; FLK-SBBL; розведення субліній перещеплюваних культур клітин FLK-50/100; FLK-71; FLK-Пол; FLK-SBBL до низької клоногенної щільності, визначення антигенпродукуючої активності субліній клітин, FLK-50/100; FLK-71; FLK-Пол; FLK-SBBL в умовах розведення клітинної культури до низької щільності, щоб забезпечити ефективність способу.

Порівняльний аналіз з близьким аналогом дозволяє зробити висновок, що у запропонованому способі, на відміну від відомого використовуються сублінії перещеплюваних клітин, FLK-50/100; FLK-71; FLK-Пол; FLK-SBBL, з яких отримано клон із підвищеною антигенпродукуючою активністю та специфічністю діагностичних антигенів.

Спосіб виконується таким чином:

Розморожування клітинних культур FLK-50/100; FLK-71; FLK-SBBL із кріобанку здійснюють за допомогою водяної бані за температури 37-38 °С. Ресуспендування клітин проводять у ростовому середовищі, яке включає суміш поживних середовищ Ігла - DMEM та 199 (1:1) до концентрації 130-150 тис. кл./см³. Потім підраховують загальну концентрацію клітин у всіх квадратах камери Горяєва. Кількість клітин в 1 см³ суспензії визначають за формулою. Далі культури клітин ресуспендують у ростовому живильному середовищі, яке складається з рівних об'ємів середовищ Ігла та 199 з 10 % сироватки крові BPX, або фетальної сироватки крові ембріонів корів. Після проведення 2 відновлюваних пасажів проводять зняття культур клітин зі скляного або пластикового культурального посуду за допомогою 0,02 % розчину Версена з

UA 156791 U

- наступним підрахунком збережених клітин за формулою. Інкубування планшетів з клітинами проводять до утворення ними колоній в умовах CO₂. Після чого підраховується кількість лунок з колоніями та оцінюється ефективність клонування (ЕК) за формулою. Для вивчення антигенпродукуючої активності субліній FLK-BLV зі збірної проби культуральної рідини кожної сублінії окремо проводять очистку та концентрування ВЛ на ультрафільтраційних модулях з порожнистими волокнами. Оцінку активності антигену ВЛВРХ здійснюють за активністю у реакції імунодифузії (РІД) та кількісним виходом доз (доз АГ з 1 дм³ вірус-культуральної рідини). Активність антигену оцінюють за серологічним методом граничних розведень в реакції імунодифузії (РІД) з використанням контрольної позитивної діагностичної сироватки.
- Постановку реакції і облік результатів проводять у 2 повторях на чашках Петрі з використанням прямокутного штамп. Для визначення кінцевого титру антигену готують послідовні розведення експериментальних його серій від нативного до 1:6. Як розчинник антигенів використовують фосфатно-сольовий фізіологічний розчин з рН 7,0-7,2. Компоненти реакції вносять у лунки агару в об'ємі 40 мкл.
- Позитивним титром антигену вважають розведення, за якого в РІД спостерігається чітка лінія преципітації з позитивною контрольною сироваткою на два ++. З метою порівняння активності отриманих антигенів підраховують кінцевий вихід антигену з 1 дм³ культуральної рідини. Для розрахунку кінцевого виходу антигену за 1 дм³ культуральної рідини використовують формулу.
- Спосіб підбору клітин субліній FLK-BLV для клонування ілюструється наступними прикладами.
- Приклад 1. Оцінка ефективності клонування субліній FLK-BLV та впливу розведення субліній перещеплюваних культур FLK-50/100; FLK-71; FLK-Пол; FLK-SBBL до низької клоногенної щільності на їх проліферацію.
- Для вивчення ефективності клонування субліній FLK-BLV та впливу розведення субліній перещеплюваних культур використовують культури FLK-50/100; FLK-71; FLK-Пол; FLK-SBBL. Розморожування клітинних культур FLK-50/100; FLK-71; FLK-SBBL із кріобанку здійснювали за допомогою водяної бані за температури 37-38 °С, після чого вони були піддані центрифугуванню за 800-1000 об./хв. упродовж 10 хвилин для видалення кріозахищеного середовища. Ресуспендування клітин проводили у ростовому середовищі, яке включає суміш поживних середовищ Ігла - DMEM та 199 (1:1) до концентрації 130-150 тис. кл./см³. Потім підраховували загальну концентрацію клітин у всіх квадратах камери Горяєва при малому збільшенні та концентрацію збережених клітин - за виключенням пофарбованих 0,2 % трипанової сині. Для чого до 1 см³ клітинної суспензії додавали рівний об'єм 0,2 % розчину трипанової сині, ретельно перемішували і заправляли камеру Горяєва. Кількість клітин в 1 см³ суспензії визначали за формулою (1):
- $$X = A \times B \times 1000 / 0,9$$
- де X - кількість клітин у 1 см³ досліджуваної суспензії;
 А - кількість підрахованих живих клітин у камері Горяєва;
 В - коефіцієнт розведення (наприклад, 20);
 1000 - кількість кубічних міліметрів в 1 см³;
 0,9 - об'єм рахункової камери Горяєва у кубічних міліметрах. Далі культури клітин ресуспендували у ростовому живильному середовищі з розрахунку, щоб посівна концентрація клітин становила $1,3 \times 10^5$ - $1,8 \times 10^5$ клітин/см³ і висівали у культуральні посудини. Ростове живильне середовище складається з рівних об'ємів середовищ Ігла та 199 з 10 % сироватки крові ВРХ, або фетальної сироватки крові ембріонів корів. Перевірка на контамінацію перещеплюваних культур клітин грибовою та бактеріальною мікрофлорою здійснювалася згідно з ДСТУ 4483:2005. Після проведення 2 відновлюваних пасажів проводили зняття культур клітин зі скляного або пластикового культурального посуду за допомогою 0,02 % розчину Версена з наступним підрахунком збережених клітин за формулою (1) та приготуванням послідовних розведень клітин до концентрацій $5,0 \times 10^4$ - $2,5 \times 10^4$ - $5,0 \times 10^3$ клітин/см³. Потім висівали клітини за низької (клоногенної) щільності у 24-лункові планшети з наступним культивуванням у CO₂ - інкубаторі за температури 37 °С впродовж однієї - семи діб та на покривні скельця у пеніцилінові флакони. Після чого вирощений моношар клітин на покривних скельцях через 24-48-72-96-168 годин культивування виймали обполіскували у теплому фізіологічному розчині, підсушували та фіксували у спирт-оцтовому розчині. Зафіксовані на накривних скельцях клітини зберігали у 70 % спирті. Після чого промивали дистильованою водою та фарбували барвником Карачі впродовж 10 хв. Після фарбування препарати промивали аміачною водою, зневоднювали спиртом з підвищеною концентрацією, наприкінці - спирт-ксилолом з підвищеною концентрацією, а потім - чистим ксилолом протягом 3 хв. Після

UA 156791 U

висушування на повітрі препарати клітин покривали канадським бальзамом з наступним вивченням за допомогою імерсійного світлового мікроскопа. Мітотична активність визначалася за числом клітин, які діляться, віднесеному до загальної кількості клітин із розрахунку на 1000 облікованих, і виражається в (%) проміле. Інкубування планшетів з клітинами проводили до утворення ними колоній в умовах CO₂ - інкубатора шляхом щоденного спостереження за допомогою світлового мікроскопу. Після чого підраховували кількість лунок з колоніями та оцінювали ефективність клонування (ЕК) за формулою (2):

$$EK = P_1 / P \times 100 \%,$$

де P - кількість засіяних лунок

P₁ - кількість лунок з колоніями.

Приклад 2. Оцінка антигенпродукуючої активності ліній клітин FLK-50/100; FLK-71; FLK-Пол; FLK-SBBL в умовах розведення клітинної культури до низької щільності.

Для вивчення антигенпродукуючої активності субліній FLK-BLV зі збірної проби культуральної рідини кожної сублінії окремо проводили очистку та концентрування ВЛ на ультрафільтраційних модулях з порожнистими волокнами. Оцінку активності антигену ВЛВРХ здійснювали за активністю у реакції імунодифузії (РІД) та кількісним виходом доз (доз АГ з 1 дм³ вірус-культуральної рідини). Для чого сконцентрований антиген ресуспендували у фосфатно-сольовому фізіологічному розчині з рН 7,0-7,2. Активність антигену оцінювали за серологічним методом граничних розведень в реакції імунодифузії (РІД) з використанням контрольної позитивної діагностичної сироватки з "Набору компонентів сухих для серологічної діагностики лейкозу великої рогатої худоби в реакції імунодифузії (РІД)" за ТУУ 24.4. - 00497087-647-2002.

Постановку реакції і облік результатів було проведено згідно з "Листівки-вкладки до набору компонентів для серологічної діагностики лейкозу великої рогатої худоби в реакції імунодифузії" (№ 3272-14-0525-04/08-1/0 від 18.03.08) у 2 повторях на чашках Петрі з використанням прямокутного штампку. Для визначення кінцевого титру антигену готувалися послідовні розведення експериментальних його серій від нативного до 1:6. Як розчинник антигенів використовували фосфатно-сольовий фізіологічний розчин з рН 7,0-7,2. Компоненти реакції вносили у лунки агару в об'ємі 40 мкл. Для визначення титру отриманих антигенів готували послідовні розведення 1:1,5; 1:2; 1:2,5; 1:3; 1:4; 1:5; 1:6.

Позитивним титром антигену вважали розведення, за якого в РІД спостерігається чітка лінія преципітації з позитивною контрольною сироваткою на два ++. З метою порівняння активності отриманих антигенів підраховували кінцевий вихід антигену з 1 дм³ культуральної рідини. Для цього користувалися терміном "робочий титр антигену", за який вважають таке розведення антигену, при якому позитивна реакція з позитивною сироваткою на ++++. Для розрахунку кінцевого виходу антигену за 1 дм³ культуральної рідини (X) використовували формулу (3):

$$X = \frac{V_1 \times [A] \times T}{V_2} \times 100$$

де X - кількість отриманого антигену з 1 дм³ культуральної рідини, тис. доз;

V₁ - об'єм фактично отриманого антигену, см³;

[A] - ступінь концентрації отриманого антигену;

T - робочий титр отриманого антигену;

V₂ - об'єм культуральної рідини, використаний для виготовлення антигену;

100 - коефіцієнт для перерахунку в тис. доз.

За результатами клонування FLK-BLV було отримано декілька клонів, що відрізнялися за рівнем продукції вірусу та його антигенів.

Таким чином, впровадження розробки в біотехнологічне виробництво приведе до збільшення обсягів виробництва лейкозного антигену для діагностики лейкозу ВРХ не менш чим на 11 % та поліпшення контролю над цією хворобою сільськогосподарських тварин.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб підвищення виходу вірусу лейкозу та його антигенів за допомогою підбору клітин FLK-BLV, що включає використання ліній клітин FLK-BLV, накопичення вірус-культуральної маси, який відрізняється тим, що використовують сублінії перещеплюваних культур, а саме клітин FLK-50/100, FLK-71, FLK-SBBL, розведення субліній перещеплюваних культур клітин FLK-50/100, FLK-71, FLK-Пол, FLK-SBBL проводять до низької клоногенної щільності, визначення антигенпродукуючої активності субліній клітин FLK-50/100, FLK-71, FLK-Пол, FLK-SBBL проводять в умовах розведення клітинної культури до низької щільності, з яких отримано клон із підвищеною антигенпродукуючою активністю та специфічністю діагностичних антигенів.

UA 156791 U

Комп'ютерна верстка О. Рябо

ДО "Український національний офіс інтелектуальної власності та інновацій", вул. Дмитра Годзенка, 1, м. Київ – 42, 01601

ДОДАТОК В

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної
та методичної роботи Одеського
державного аграрного університету,

Вячеслав СЕДОВ

« ____ » _____ 2025 р.

АКТ

про впровадження/використання результатів
дисертаційної роботи у навчальний процес

Даним актом стверджується, що результати дисертаційної роботи за темою **«Поширення вірусних хвороб ВРХ (лейкоз, імунодефіцит, спумавірусна інфекція, інфекційний ринотрахеїт та вірусна діарея) в Україні та визначення біологічних властивостей їх збудників»**, що представлена на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 211 «Ветеринарна медицина», виконаної Корнейковою Ольгою Борисівною впроваджено у робочу програму при викладанні ОК «Епідеміологія та інфекційні хвороби тварин» у підготовці здобувачів вищої освіти другого (магістерського) рівня вищої освіти за спеціальністю «Ветеринарна медицина» на кафедрі інфекційної патології, біобезпеки та ветеринарно-санітарного інспектування ім. проф. В.Я. Атамася факультету ветеринарної медицини Одеського державного аграрного університету.

Розглянуто та схвалено на засіданні кафедри інфекційної патології, біобезпеки та ветеринарно-санітарного інспектування ім. проф. В.Я. Атамася Одеського державного аграрного університету (протокол засідання кафедри №6 від «16» грудня 2025 р.)

Завідувач кафедри інфекційної патології,
біобезпеки та ветеринарно-санітарного
інспектування ім. проф. В.Я. Атамася,
доктор ветеринарних наук,
професор



Ігор ПАНІКАР

Декан факультету ветеринарної
медицини, кандидат ветеринарних
наук, доцент




Катерина РОДІОНОВА

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

проректор з наукової та інноваційної діяльності,
Дніпровського державного аграрно-економічного
університету, доктор сільськогосподарських наук,
професор _____

Юрій ТКАЛПЧ

2026 р.



АКТ

про впровадження/використання результатів дисертаційної роботи у навчальний процес

Даним актом стверджується, що результати дисертаційної роботи за темою **«Поширення вірусних хвороб ВРХ (лейкоз, імунodefіцит, спумавірусна інфекція, інфекційний ринотрахеїт та вірусна діарея) в Україні та визначення біологічних властивостей їх збудників»**, що представлена на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю **211 «Ветеринарна медицина»**, виконаної **Корнейковою Ольгою Борисівною** впроваджено у робочу програму при викладанні навчальних дисциплін: «Епізоотологія та інфекційні хвороби тварин», «Ветеринарна вірусологія», «Ветеринарна мікробіологія». Результати епізоотологічного моніторингу щодо лейкозу, інфекційного ринотрахеїту, вірусної діареї в Україні та Європі, вивчення поширення збудників спумавірусної інфекції та імунodefіциту великої рогатої худоби в Україні, визначення біологічних властивостей збудників вищеназваних захворювань *in vivo* та *in vitro* (на культурах клітин), а також дані щодо цитотоксичності та віруліцидних властивостей хімічних речовин впроваджені на кафедрі інфекційних хвороб тварин при підготовці здобувачів вищої освіти ступеня «Магістр» за спеціальністю «Ветеринарна медицина» у Дніпровському державному аграрно-економічному університеті.

Декан факультету

Іван БІБЕН

Завідувач кафедри

Володимир ЗАЖАРСЬКИЙ

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

проректор з науково-педагогічної
та навчальної роботи



Сумського національного аграрного
університету

Маргарита ЛИШЕНКО

«3» грудня 2025 р.

АКТ

про впровадження/використання результатів дисертаційної роботи у навчальний процес

Даним актом стверджується, що результати дисертаційної роботи за темою **«Поширення вірусних хвороб ВРХ (лейкоз, імунодефіцит, спумавірусна інфекція, інфекційний ринотрахеїт та вірусна діарея) в Україні та визначення біологічних властивостей їх збудників»**, що представлена на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 211 «Ветеринарна медицина», виконаної Корнейковою Ольгою Борисівною впроваджено у навчальну програму при викладанні навчальних дисципліни «Ветеринарна вірусологія», а саме результати епізоотологічного моніторингу щодо лейкозу, інфекційного ринотрахеїту та вірусної діареї ВРХ в Україні та Європі, дані щодо поширення збудників спумавірусної інфекції та імунодефіциту ВРХ в окремих регіонах України, біологічних властивостей збудників вищезначених захворювань досліджених на культурах клітин та лабораторних тваринах, а також впливу наночасток металів та препарату на основі глутарового альдегіду та четвертинних амонієвих сполук на перещеплювани клітини та віруси впроваджені на кафедрі ветеринарно-санітарного інспектування, мікробіології, гігієни та патологічної анатомії у підготовці здобувачів вищої освіти ступеня «Магістр» за спеціальністю «Ветеринарна медицина» у Сумському національному аграрному університеті

Розглянуто та схвалено на засіданні кафедри ветеринарно-санітарного інспектування, мікробіології, гігієни та патологічної анатомії Сумського національного аграрного університету (протокол № 7, від «22» грудня 2025 р.)

Завідувач кафедри
ветеринарно-санітарного
інспектування, мікробіології,
гігієни та патологічної анатомії

Роман ПЕТРОВ

ДОДАТОК Г

ЗАТВЕРДЖУЮ:

Директор Державного науково-дослідного інституту з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи



Олександр ПІЩАНСЬКИЙ
2026 р.

АКТ

**про впровадження у виробництво результатів дисертаційної роботи
на здобуття наукового ступеня доктора філософії зі спеціальності
211 – Ветеринарна медицина**

Ми, що нижче підписалися, заступник директора ДНДІЛДВСЕ з наукової роботи, доктор біологічних наук, старший науковий співробітник Марина РОМАНЬКО, в.о. завідувача науково-дослідного вірусологічного відділу ДНДІЛДВСЕ, кандидат ветеринарних наук, старший дослідник Жанна ДРОЖЖЕ і завідувач лабораторії контролю якості вірусних ветеринарних препаратів, підтримки штамів вірусів, культур клітин та імунохімічних випробувань науково-дослідного вірусологічного відділу ДНДІЛДВСЕ Юлія ШЕВЕЛЬ, з однієї сторони, та аспірант Національного наукового центру «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини» НААН Ольга КОРНЕЙКОВА, з другої сторони, склали даний акт про те, що у лабораторії контролю якості вірусних ветеринарних препаратів, підтримки штамів вірусів, культур клітин та імунохімічних випробувань науково-дослідного вірусологічного відділу ДНДІЛДВСЕ проведено впровадження та використовуються результати дисертаційної роботи Ольги КОРНЕЙКОВОЇ на тему: «Поширення вірусних хвороб ВРХ (лейкоз, імунодефіцит, спумавірусна інфекція, інфекційний ринотрахеїт та вірусна діарея) в Україні та визначення біологічних властивостей їх збудників», представленої на здобуття наукового ступеня доктора філософії зі спеціальності 211 – Ветеринарна медицина.

Вид впровадження результатів полягає в ознайомленні з матеріалами дисертаційної роботи та використанні даних щодо біологічних властивостей ретровірусів ВРХ (віруси лейкозу, імунодефіциту та спумавірусної інфекції) та збудників інфекційного ринотрахеїту (BoHV-1) та вірусної діареї (BVDV) на чутливих перещеплюваних культурах клітин.

Новизна отриманих результатів. Наведено чутливість перещеплюваних культур клітин MDBK, ЛЕК, HB-2 та TrT до BoHV-1. Репродукція та адсорбційні властивості вірусу IPT є більш вираженими в клітинах MDBK та ЛЕК навіть за множинності інфікування 0,00125 ТЦД₅₀/клітину. Використання лінії клітин ЛЕК у порівнянні з іншими чутливими культурами клітин в біотехнології BoHV-1 дозволяє отримати вірусну біомасу з підвищеним титром інфекційної

активності ($\geq 1,5 \log_{10} \text{ТЦД}_{50/\text{см}^3}$) впродовж трьох пасажів. Доведено чутливість перещеплюваних культур клітин ЛЕК та КСТ до вірусу імунодефіциту (BIV) та спумавірусу (BIF) ВРХ, при їх сокультивуванні. Збудники імунодефіциту та спумавірусної інфекції ВРХ мають більш низьку тропність до клітин КСТ у порівнянні з ЛЕК. Ростові та антигенпродукуючі властивості перещеплюваних культур клітин FLK залежать від складу поживного середовища та генетичних особливостей використаних субліній. Отримані, після довгострокового зберігання, шляхом розведення до низької клоногенної щільності сублінії перещеплюваної культури клітин FLK 50/100 та FLK-SBBL, які культивовані на поживних середовищах RPMI та DMEM забезпечують підвищення антигенпродукуючої активності культури FLK-BLV (Деклараційний патент України на корисну модель № 156791).

Практичне використання результатів реалізовано при контролі якості вірусних ветеринарних імунобіологічних препаратів (далі – ВІП), в тому числі при проведенні їх реєстраційних випробувань та відновленні біологічних властивостей клітинних ліній, персистентно інфікованих вірусами за умов їх довготривалого зберігання за низьких температур, а також при визначенні біологічних властивостей штамів вірусів при їх депонуванні.

Значущість отриманих результатів полягає у використанні чутливих перещеплюваних культур клітин при визначенні інфекційної активності вірусів при контролі якості ВІП та визначенні біологічних властивостей ізолятів вірусів при їх депонуванні. Представлені результати призначені для спеціалістів науково-дослідних та виробничих вірусологічних лабораторій ветеринарної медицини, відділів контролю якості ВІП, слухачів факультетів післядипломного навчання, науковців, викладачів та студентів вищих навчальних закладів III-IV рівнів акредитації зі спеціальності 211 – Ветеринарна медицина.

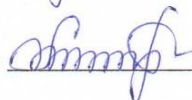
Державний науково-дослідний
інститут з лабораторної діагностики
та ветеринарно-санітарної
експертизи

Національний науковий центр
«Інститут експериментальної і
клінічної ветеринарної медицини»

1.  Марина РОМАНЬКО

1.  Ольга КОРНЕЙКОВА

2.  Жанна ДРОЖЖЕ

3.  Юлія ШЕВЕЛЬ



ЗАТВЕРДЖУЮ

Голова комісії з реорганізації
Державного науково-контрольного інституту
біотехнологій штамів мікроорганізмів,
доктор ветеринарних наук, професор

Віталій УХОВСЬКИЙ

2025 р.

АКТ

впровадження результатів представлених в дисертації в виробничий процес

Ми, що підписалися нижче, завідувач Національного центру штамів мікроорганізмів ДНКІБШМ, кандидат ветеринарних наук, Ареф'єв В.Л., заступник директора ДНКІБШМ з наукової роботи, кандидат ветеринарних наук, старший науковий співробітник, Болотін В.І. з одного боку та аспірант Національного наукового центру «Інститут експериментальної та клінічної ветеринарної медицини» Корнейковою О.Б. з іншого боку, склали цей акт про те, що результати дисертаційної роботи Корнейкової Ольги Борисівни на тему «Поширення вірусних хвороб ВРХ (лейкоз, імунодефіцит, спумавірусна інфекція, інфекційний ринотрахеїт та вірусна діарея) в Україні та визначення біологічних властивостей їх збудників», що представлена на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 211 «Ветеринарна медицина» впроваджені в виробничий процес ДНКІБШМ. Зокрема, дані щодо біологічних властивостей вірусів ВРХ (BLV, BIV, BFV, BoHV-1 та BVDV) та чутливість перещеплюваних культур клітин (MDBK, HB-2, ЛЕК, КСТ, НТ) до них використовуються при контролі якості ветеринарних імунобіологічних препаратів. Крім того, представлені в дисертаційній роботі результати з культивування вірусів на перещеплюваних культурах клітин та дані щодо клітинної лінії FLK-BLV, після їх довготривалого зберігання, використовуються для визначення життєздатності та відновлення біологічних властивостей штамів вірусів, що зберігаються в Національному центрі штамів мікроорганізмів ДНКІБШМ.

Заступник директора ДНКІБШМ
з наукової роботи,
кандидат ветеринарних наук,
старший науковий співробітник

Віталій БОЛОТІН

Завідувач Національного центру
штамів мікроорганізмів ДНКІБШМ,
кандидат ветеринарних наук

Василь АРЕФ'ЄВ

Аспірант ННЦ «ІЕКВМ»

Ольга КОРНЕЙКОВА